

Biomassa Nutrien Hijauan Sistem Ransum In Situ (SRI) dan Evaluasi Taraf Penambahan *Indigofera zollingeriana* terhadap Fermentabilitas dan Kecernaan In Vitro dalam SRI

Nutrient Biomass of Forage in an In Situ Ration System (IRS) and the Evaluation of *Indigofera zollingeriana* Inclusion Levels on In Vitro Fermentability and Digestibility in IRS

M Syarif S¹, L Abdullah^{1*}, D Diapari¹, I E Saputra¹, J Ramadani¹

Corresponding email:
labdull@apps.ipb.ac.id

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate different inclusion levels of *Indigofera zollingeriana* on the *in vitro* fermentability and digestibility of IRS to determine the optimal IRS formulation for breeding sheep. The study was designed as a Randomized Block Design (RBD) with five treatments and five replications as blocks, based on the time of rumen fluid collection. Five dietary treatments (M0-M4) were formulated with *I. zollingeriana* inclusion levels of 0%, 10%, 20%, 30%, and 40% of the total dietary dry matter. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA), followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT) when significant differences occurred ($p < 0.05$). The results showed that increasing *I. zollingeriana* inclusion levels did not affect ruminal pH, total VFA, partial VFA concentrations, or methane production. However, it significantly decreased ($p < 0.05$) the molar proportion of C2, increased the molar proportion of C3, and decreased the C2/C3 ratio by 10% *I. zollingeriana* inclusion compared with the other treatments. Meanwhile, increasing the inclusion level of *I. zollingeriana* significantly ($p < 0.01$) increased IVDMD and IVOMD. It can be concluded that *Indigofera zollingeriana* improved nutrient quality, rumen fermentability, and *in vitro* digestibility, with the best results obtained at 40% inclusion.

Key words: *Indigofera zollingeriana*, *in vitro*, IRS

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi taraf penambahan *Indigofera zollingeriana* yang berbeda terhadap fermentabilitas dan kecernaan ransum in situ secara *in vitro*, guna menentukan formulasi SRI yang optimal untuk domba *breeding*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan lima perlakuan dan lima ulangan sebagai kelompok, berdasarkan waktu pengambilan cairan rumen. Lima perlakuan ransum (M0–M4) diformulasikan dengan taraf penambahan *I. zollingeriana* sebesar 0%, 10%, 20%, 30%, dan 40% dari total bahan kering ransum. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) apabila terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan taraf penambahan *I. zollingeriana* tidak berpengaruh nyata terhadap pH rumen, total VFA, konsentrasi VFA parsial, dan produksi gas metana. Namun, perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) menurunkan proporsi molar C2, meningkatkan proporsi molar C3 serta menurunkan rasio C2/C3 pada taraf penambahan 10% *I. zollingeriana* dibandingkan perlakuan lainnya. Sementara itu, peningkatan taraf penambahan *I. zollingeriana* berpengaruh nyata ($p < 0,01$) meningkatkan kecernaan bahan kering (KCBK) dan kecernaan bahan organik (KCBO). Simpulan penelitian yaitu *Indigofera zollingeriana* meningkatkan kualitas nutrien, fermentabilitas rumen, dan kecernaan *in vitro* dengan hasil terbaik diperoleh pada taraf penambahan 40%.

Kata kunci: *Indigofera zollingeriana*, *in vitro*, SRI



PENDAHULUAN

Ketersediaan hijauan pakan yang berkualitas dan berkelanjutan merupakan faktor kunci dalam keberhasilan peternakan domba, khususnya dalam meningkatkan produktivitas dan keberhasilan reproduksi. Saat ini, 70% hijauan yang digunakan pada peternakan rakyat merupakan rumput lokal dengan kandungan serat kasar yang tinggi dan protein kasar yang rendah. Kondisi tersebut menyebabkan pencernaan yang rendah sehingga berdampak pada rendahnya performa produksi dan reproduksi domba, seperti *littersize* yang masih rendah ($\pm 1,2$), tingkat kematian embrio cukup tinggi (30%), dan kemampuan bertahan hidup periode pra sapih 20-70% (Khotijah et al. 2015). Permasalahan tersebut berkontribusi terhadap penurunan populasi domba, data (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (2025) menunjukkan terjadi penurunan populasi domba 35,78% pada tahun 2024 dibandingkan pada tahun 2022.

Umumnya peternak mengatasi kekurangan nutrisi dari hijauan lokal dengan menambahkan bahan pakan konsentrat seperti dedak, gaplek, ampas tahu, atau konsentrat komersil. Namun harga bahan pakan konsentrat cukup tinggi sehingga tidak efisien secara biaya serta ketersediannya tidak merata pada seluruh daerah di Indonesia. Salah satu solusi untuk mengatasi permasalahan tersebut ialah dengan pemenuhan bahan pakan hijauan dengan Sistem Ransum In Situ (SRI). SRI merupakan sistem penanaman campuran berbagai spesies hijauan pakan terpilih yang ditanam dalam satu hamparan berdasarkan karakteristik agronomi dan biomassa nutrisi yang diatur komposisinya dan masa panennya sesuai formula, sehingga dihasilkan campuran berbagai hijauan yang kandungan nutrisinya saling melengkapi untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak sesuai status fisiologisnya.

Hijauan yang ditanam pada SRI ialah rumput *Urochloa hybrid* cv. Mulato II dengan umur panen 60 hari setelah pemangkasan (HSP), sedangkan *Pennisetum purpureum* cv Thailand dan cv Mott dipanen pada 40 HSP. Pemilihan rumput *Pennisetum purpureum* cv Thailand dan cv Mott didasarkan pada produksi biomasanya, sedangkan *Urochloa hybrid* cv. Mulato II memiliki keunggulan tahan terhadap kekeringan. Produksi biomassa *Pennisetum purpureum* cv Thailand yang dipanen sebanyak 7 kali dalam setahun untuk interval pemotongan 50 hari ialah 376,03 ton ha⁻¹ tahun⁻¹ (Ernawati et al. 2023), *Pennisetum purpureum* cv Mott yang dipanen 6 kali dalam setahun untuk interval pemotongan 60 hari ialah 346,26 ton ha⁻¹ tahun⁻¹ (Sada et al. 2018), *Urochloa hybrid* cv. Mulato II yang dipanen 5 kali dalam setahun dengan interval pemotongan 63 hari ialah 43,20 ton ha⁻¹ tahun⁻¹ (Reyes et al. 2018).

Penelitian mengenai penggunaan *Indigofera zollingeriana* sebagai hijauan sumber protein telah banyak dilakukan. Leguminosa ini memiliki keunggulan berupa kandungan protein kasar yang tinggi (23,40%), fraksi serat NDF 56,10%, ADF yang lebih rendah

(30,73%) dan pencernaan bahan organik yang lebih tinggi (70,79%) dibandingkan hijauan rumput (Abdullah & Suharlina 2010). Namun, penelitian mengenai pemanfaatannya dalam formulasi SRI yang mengkombinasikan berbagai jenis hijauan dengan umur panen yang berbeda masih terbatas. Kombinasi antara *Pennisetum purpureum* cv Thailand & cv Mott dan *Urochloa hybrid* cv. Mulato II sebagai hijauan sumber energi dan *Indigofera zollingeriana* sebagai hijauan sumber protein yang ditanam dalam satu hamparan berpotensi menjadi solusi alternatif yang efektif dan ekonomis dalam penyediaan ransum berkualitas untuk domba *breeding*. Oleh karena, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi taraf penambahan *Indigofera zollingeriana* yang berbeda terhadap fermentabilitas dan pencernaan secara *in vitro*, guna mendapatkan formulasi SRI terbaik bagi domba *breeding*. Hipotesis penelitian ini ialah perbedaan taraf penambahan *Indigofera zollingeriana* dalam SRI meningkatkan fermentabilitas dan pencernaan *in vitro* ransum domba *breeding*.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah seperangkat alat penanaman, pemeliharaan, pemanenan hijauan sistem ransum *in situ*. Kemudian seperangkat alat analisis proksimat, *van soest*, dan mineral Ca, P. Selanjutnya seperangkat alat fermentatif *in vitro*. Alat yang digunakan pada pengukuran peubah ialah pH meter, pompa vakum, erlenmeyer, cawan porselen, oven, tanur, dan *gas chromatography*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah seperangkat bahan, penanaman, pemeliharaan, pemanenan hijauan. Kemudian seperangkat bahan analisis proksimat, *van soest*, dan mineral Ca, P. Bahan yang digunakan pada *in vitro* ialah cairan rumen, bahan kimia untuk pembuatan larutan *buffer* McDougall.

Rumput *Pennisetum purpureum* cv Thailand dan cv Mott, *Urochloa hybrid* cv. Mulato II ditanam dan dipanen di Unit Pendidikan dan Penelitian Peternakan Jonggol (UP3J) Fakultas Peternakan IPB, sedangkan *Indigofera zollingeriana* dipanen dari areal yang telah tersedia di UP3J

Prosedur Penelitian

Penanaman, pemupukan, dan pemanenan hijauan sistem ransum *in situ*

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni 2024 sampai Januari 2025. Lahan penanaman terdiri dari tiga blok dengan luas masing-masing 0,072 ha. Setiap blok terbagi menjadi 24 plot dengan ukuran masing-masing 6 m x 5 m, dengan jarak antar plot 1 m. Jarak tanam *Pennisetum purpureum* cv Thailand ialah 100 cm x 50 cm, cv Mott 75 cm x 75 cm, *Urochloa hybrid* cv. Mulato II 60 cm x 60 cm. Pemupukan dasar diaplikasikan pada seluruh plot menggunakan pupuk organik (kotoran sapi dan ayam) dengan dosis 10 ton ha⁻¹, dengan perbandingan penggunaan kotoran sapi dan ayam 6 : 4, 200 kg ha⁻¹

nitrogen, dan masing-masing 150 kg ha⁻¹ fosfor dan kalium. Setelah rumput berumur 75 hari setelah tanam (HST) dilakukan pemangkasan dengan ketinggian 10 cm diatas permukaan tanah untuk mengurangi variabilitas. Pemanenan *Pennisetum purpureum* cv Thailand dan cv Mott dilakukan pada umur 40 hari setelah pemangkasan (HSP), sedangkan *Urochloa hybrid* cv. Mulato II dilakukan pada umur 60 HSP. *Indigofera zollingeriana* yang telah tersedia di areal UP3J dipanen pada umur 60 HSP. Hijauan yang telah dipanen dipisah antara batang dengan daun lalu dijemur dibawah sinar matahari selama 2 hari, selanjutnya dimasukkan ke dalam amplop sampel lalu dikeringkan pada oven 60° C selama 48 jam.

Ransum Perlakuan

Sebelum formulasi ransum perlakuan dilakukan, sampel hijauan sistem ransum in situ (SRI) yang terdiri atas *Pennisetum purpureum* cv. Thailand, *Pennisetum purpureum* cv. Mott, *Urochloa hybrid* cv. Mulato II, dan *Indigofera zollingeriana* dipersiapkan untuk analisis kandungan nutrisi. Hijauan yang telah dikeringkan kemudian digiling menggunakan grinder hingga lolos saringan berukuran 1 mm. Sampel dianalisis proksimat berdasarkan metode AOAC International (2005) meliputi bahan kering (BK), abu, protein kasar (PK), lemak kasar (LK), dan serat kasar (SK). Fraksi serat dianalisis berdasarkan metode Soest et al. (1991) yang meliputi *neutral detergent fiber* (NDF), *acid detergent fiber* (ADF), hemiselulosa, selulosa, dan lignin. Kandungan mineral kalsium (Ca) dan fosfor (P) juga dianalisis. Kandungan nutrisi tersebut dikalikan dengan hasil biomassa kering untuk mengetahui biomassa nutrisi. Ransum perlakuan disusun berdasarkan rekomendasi *National Research Council* (1985) untuk kebutuhan domba calon indukan dengan target kandungan PK 12,8% dan *total digestible nutrients* (TDN) 65%. Lima ransum perlakuan (M0–M4) diformulasikan dengan taraf penambahan *Indigofera zollingeriana* masing-masing sebesar 0, 10, 20, 30, dan 40% dari total bahan kering ransum. Komposisi dan kandungan nutrisi ransum perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Analisis in vitro

Cairan rumen sebanyak 200 mL ekor⁻¹ diambil dari delapan ekor domba merino betina dewasa lalu dicampur, pengelompokan berdasarkan waktu pengambilan cairan rumen yang dilakukan satu kali dalam seminggu untuk setiap ulangan. Domba yang diambil cairan rumennya rutin diberikan pakan rumput lapang dan konsentrat. Pengambilan dilakukan empat jam setelah pemberian pakan pada pagi hari menggunakan stomach tube yang dihubungkan dengan pompa vakum. Cairan rumen dimasukkan ke dalam termos bersuhu 39°C dan segera dibawa ke laboratorium. Inkubasi *in vitro* dilakukan mengikuti metode Tilley dan Terry (1963). Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung fermentor, kemudian ditambahkan 40 mL larutan buffer dan 10 mL cairan

rumen. Tabung dialiri gas CO₂ selama 30 detik dan diinkubasi dalam *shaker water bath* pada suhu 39°C. Inkubasi dilakukan dalam dua periode untuk mengukur parameter yang berbeda. Inkubasi selama 4 jam dilakukan untuk mengukur pH rumen dan *volatile fatty acids* (VFA) parsial. Selanjutnya, inkubasi fermentatif selama 48 jam dilanjutkan dengan pencernaan enzimatis selama 48 jam berikutnya untuk menentukan pencernaan bahan kering (KCBK) dan pencernaan bahan organik (KCBO). Nilai pH rumen diukur, VFA parsial dianalisis menggunakan *gas chromatography* (GC), produksi metana diestimasi menggunakan persamaan stoikiometri yang dikemukakan oleh Moss et al. (2000), sedangkan KCBK dan KCBO dihitung berdasarkan metode Tilley dan Terry (1963).

Tabel 1 Komposisi dan kandungan nutrisi ransum berdasarkan 100% bahan kering

Bahan pakan (%)	M0	M1	M2	M3	M4
<i>Indigofera zollingeriana</i> (60 HSP)	0	10	20	30	40
<i>Urochloa hybrid</i> cv. Mulato II (60 HSP)	75	65	55	45	35
<i>P. purpureum</i> cv. Thailand (40 HSP)	10	10	10	10	10
<i>P. purpureum</i> cv. Mott (40 HSP)	10	10	10	10	10
Molases	5	5	5	5	5
Kandungan nutrisi (%)	M0	M1	M2	M3	M4
Bahan kering*	27,68	24,63	25,19	23,95	22,71
Abu*	9,66	9,75	9,83	9,91	9,99
Protein kasar*	10,99	12,48	13,98	15,47	16,97
Lemak kasar*	3,37	3,52	3,67	3,82	3,97
Serat kasar*	24,01	23,09	22,16	21,23	20,30
Bahan ekstrak tanpa nitrogen*	51,97	51,16	50,36	49,57	48,77
Total digestible nutrient**	63,07	64,02	64,97	65,91	66,86
Non-fiber carbohydrate*	20,96	20,84	20,72	20,60	20,48
Neutral detergent fiber*	55,02	53,41	51,81	50,20	48,59
Acid detergent fiber*	32,53	31,13	29,74	28,35	26,95
Hemiselulosa*	22,49	22,28	22,06	21,85	21,64
Selulosa*	20,95	20,18	19,40	18,63	17,85
Lignin*	8,51	8,20	7,90	7,59	7,28
Kalsium*	0,68	0,64	0,60	0,55	0,51
Fosfor*	0,51	0,47	0,43	0,39	0,35

HSP (hari setelah pemangkasan) *Hasil perhitungan formulasi menggunakan microsoft excel; **TDN dihitung dengan rumus Sutardi (1980). SK<18, PK>20, TDN= 25,6+0,53 PK+1,7 LK-0,474 SK+0,732 BETN. SK>18, PK<20, TDN= 70,6+0,259 PK+1,01 LK-0,76 SK+0,091 BETN. M0: 0% *indigofera*, M1: 10% *I. zollingeriana*, M2: 20% *I. zollingeriana*, M3: 30% *I. zollingeriana*, M4: 40% *I. zollingeriana*

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini ialah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan sebagai kelompok. Pengelompokan berdasarkan waktu pengambilan cairan rumen. Penelitian ini terdiri dari 5 ransum perlakuan yaitu M0: kandungan 0% indigofera, M1: kandungan 10% indigofera, M2: kandungan 30% indigofera, M3: kandungan 30% indigofera, M4: kandungan 40% indigofera. Data yang diperoleh dalam penelitian dianalisis dengan metode *Analysis of Varians* (ANOVA). Jika hasil yang diperoleh berbeda nyata, maka dilakukan analisis uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Software pengolahan data yang digunakan ialah IBM SPSS Statistics 25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biomassa Nutrien

Pennisetum purpureum cv. Thailand dan *Pennisetum purpureum* cv. Mott dipanen pada umur yang sama (40 HSP). Kedua kultivar menghasilkan produksi biomassa segar yang relatif sama, masing-masing sebesar 33,5 ton ha⁻¹ dan 34 ton ha⁻¹. Meskipun demikian, cv. Thailand menghasilkan produksi biomassa kering yang lebih tinggi (5,18 ton ha⁻¹) dibandingkan cv. Mott (3,48 ton ha⁻¹) (Tabel 2). Perbedaan ini berkaitan dengan rasio daun terhadap batang yang lebih rendah pada cv. Thailand (1,05) dibandingkan cv. Mott (8,58) (Abdullah et al. 2025). Perbedaan tersebut menunjukkan adanya akumulasi bahan kering yang lebih besar pada cv. Thailand, yang terkait dengan proporsi jaringan batang yang lebih tinggi, jaringan batang umumnya mengandung bahan kering dan karbohidrat struktural yang lebih tinggi dibandingkan daun. Kondisi ini pada akhirnya menghasilkan biomassa nutrien yang lebih tinggi pada *Pennisetum purpureum* cv. Thailand. Hal ini menunjukkan bahwa biomassa nutrien mengintegrasikan aspek produktivitas dan kandungan nutrien, sehingga memberikan indikator yang lebih terukur terhadap potensi hijauan.

Biomassa kering *Urochloa hybrid* cv. Mulato II umur 60 HSP diperoleh dari beberapa studi yang telah dipublikasikan (Cancino 2018; Adnew et al. 2019; Freitas et al. 2019; Hunegnaw et al. 2022; Zampaligré et al. 2022; Martínez-hernández et al. 2024; Durand-Chávez et al. 2026), sedangkan biomassa kering *Pennisetum purpureum* cv. Thailand dan *Pennisetum purpureum* cv. Mott. menggunakan hasil penelitian (Abdullah et al. 2025). *Urochloa hybrid* cv. Mulato II menghasilkan produksi biomassa kering tertinggi yaitu 8,63 ton ha⁻¹, yang selanjutnya menghasilkan biomassa nutrien tertinggi. Hasil ini dipengaruhi oleh umur panen yang lebih lama (60 HSP), yang memungkinkan akumulasi bahan kering dan karbohidrat struktural yang lebih besar dalam jaringan tanaman.

Tabel 2 Biomassa nutrien hijauan sistem ransum insitu

Biomassa nutrien (ton ha ⁻¹)	<i>Urochloa hybrid</i> cv. Mulato II	<i>P. purpureum</i> cv. Mott	<i>P. purpureum</i> cv. Thailand
Biomassa kering	8,63	3,48	5,18
Abu	0,82	0,37	0,37
Protein kasar	0,90	0,53	0,72
Lemak kasar	0,30	0,12	0,18
Serat kasar	2,15	0,86	1,46
Betn	4,46	1,60	2,45
Ndf	4,76	2,30	3,63
Adf	2,86	1,25	2,11
Hemiselulosa	1,90	1,06	1,52
Selulosa	1,72	0,90	1,76
Lignin	0,83	0,27	0,29
Kalsium	0,07	0,02	0,02
Fosfor	0,05	0,01	0,02

Derajat Keasaman (pH)

Peningkatan proporsi penggunaan *Indigofera zollingeriana* dalam ransum tidak berpengaruh nyata terhadap pH cairan rumen (Tabel 3). Nilai pH rumen berkisar antara 7,12-7,31, dengan perlakuan M1 dan M4 menunjukkan nilai pH yang lebih tinggi dibandingkan yang dilaporkan oleh Petrovski (2017) yang menyatakan rentang pH 6-7,2 pada ternak ruminansia yang mengonsumsi hijauan dari pastura tanpa tambahan konsentrat. Respon ini dikarenakan penggunaan *I. zollingeriana* dalam ransum dengan kandungan protein kasar 25,34% (Abdullah et al. 2025), hal tersebut meningkatkan kapasitas buffer. Montañez-Valdez et al. (2013) melaporkan bahwa bahan pakan dengan kandungan protein dan mineral tinggi, dan hijauan khususnya leguminosa dengan kadar protein kasar lebih dari 15% termasuk kategori bahan pakan yang memiliki kapasitas buffer alami yang tinggi (> 85 mEq x 10⁻³), hal tersebut menjelaskan kecenderungan peningkatan pH rumen. Selain itu kandungan mineral kalsium dalam ransum berkisar antara 0,51-0,68% dan mineral fosfor 0,35-0,51%. Peningkatan proporsi *I. zollingeriana* dalam ransum meningkatkan kadar abu (9,66-9,99), menunjukan terjadi peningkatan konsentrasi total mineral. Mineral bersama kapasitas buffer yang bersumber dari protein kasar indigofera, dapat menyebabkan nilai pH rumen cenderung basa. Ernawati et al. (2021) melaporkan bahwa indigofera memiliki kandungan mineral yang tinggi dengan kandungan kalsium 0,81%, kalium 0,39%, dan magnesium 0,47%. Mineral kalsium, kalium, dan magnesium yang terdapat pada hijauan berperan dalam menetralkan ion H⁺ hasil fermentasi (Khorrami et al. 2021). Selain itu penelitian Chen et al. (2021) menunjukkan bahwa ransum dengan proporsi hijauan yang tinggi mempertahankan pH lebih tinggi dikarenakan oleh serat kasar dalam ransum difermentasi lebih lambat sehingga produksi VFA berlangsung lebih terkendali dan tidak cepat menurunkan pH.

Tabel 3 Fermentabilitas dan pencernaan ransum dengan taraf penambahan *Indigofera zollingeriana* yang berbeda.

Peubah	M0	M1	M2	M3	M4	p-value
pH	7,12 ± 0,27	7,25 ± 0,17	7,20 ± 0,38	7,12 ± 0,32	7,31 ± 0,23	0,81
VFA Total (mM)	41,98 ± 2,85	40,70 ± 5,48	45,97 ± 4,26	47,26 ± 11,83	49,31 ± 10,75	0,19
VFA Parsial (mM)						
Asetat (C2)	23,84 ± 1,93	19,66 ± 1,81	26,44 ± 2,60	24,14 ± 4,90	28,65 ± 7,49	0,08
Propionat (C3)	12,42 ± 1,72	14,91 ± 2,45	14,76 ± 3,13	16,12 ± 4,34	15,34 ± 2,72	0,23
Isobutirat (iC4)	0,30 ± 0,10	0,45 ± 0,17	0,27 ± 0,11	0,36 ± 0,01	0,35 ± 0,64	0,09
n-Butirat(nC4)	3,92 ± 0,56	4,34 ± 0,95	3,58 ± 1,38	3,76 ± 0,98	3,68 ± 0,43	0,48
Isovalerat (iC5)	0,67 ± 0,72	0,82 ± 0,23	0,59 ± 0,24	0,55 ± 0,26	0,74 ± 0,34	0,14
n-Valerat (nC5)	0,40 ± 0,72	0,54 ± 0,98	0,47 ± 0,15	0,50 ± 0,49	0,55 ± 0,10	0,17
C2/C3	1,87 ± 0,31 ^A	1,33 ± 0,13 ^B	1,62 ± 0,31 ^{AB}	1,67 ± 0,22 ^A	1,85 ± 0,18 ^A	0,01
CH ₄ (mM)	8,79 ± 0,92	6,65 ± 0,63	9,66 ± 1,55	7,93 ± 1,70	10,29 ± 2,80	0,09
KcBK (%)	63,02 ± 2,89 ^E	64,99 ± 3,12 ^D	66,28 ± 3,43 ^C	68,41 ± 3,44 ^B	69,86 ± 2,94 ^A	0,00
KcBO (%)	62,20 ± 3,19 ^C	64,05 ± 3,32 ^B	65,25 ± 3,71 ^B	67,25 ± 3,71 ^A	68,54 ± 3,12 ^A	0,00

M0: 0% indigofera, M1: 10% *I. zollingeriana*, M2: 20% *I. zollingeriana*, M3: 30% *I. zollingeriana*, M4: 40% *I. zollingeriana*, Huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (p < 0,05)

VFA Parsial

Volatile Fatty Acids (VFA) merupakan produk utama hasil fermentasi mikroba dalam rumen yang terbentuk melalui proses degradasi substrat pakan, terutama karbohidrat (Tan et al. 2014). Mikroba rumen mendegradasi karbohidrat berupa serat kasar, pati, dan gula larut menjadi piruvat, kemudian di dimetabolisme menjadi VFA (asetat, propionat, butirat, iso butirat, valerat, dan iso valerat) dengan jalur metabolis yang berbeda. Selain dari karbohidrat, protein dan lemak juga bisa didegradasi menjadi VFA, khususnya rantai cabang (Ge et al. 2023). Secara fisiologis, VFA berperan penting sebagai sumber energi utama ruminansia dengan kontribusi 70-80% terhadap total energi metabolis (Na dan Guan 2022), sehingga profil dan proporsinya mencerminkan efisiensi fermentasi dan arah metabolisme di rumen.

Peningkatan proporsi penggunaan *Indigofera zollingeriana* dalam ransum tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi total VFA (Tabel 3). Peningkatan proporsi penggunaan *I. zollingeriana* dalam ransum meningkatkan kandungan protein kasar dari 10,99% menjadi 16,97%, sementara fraksi serat menurun, dengan NDF turun dari 55,02% menjadi 48,59% dan ADF dari 32,53% menjadi 26,95%. Namun, perubahan komposisi nutrisi ini tidak diikuti oleh peningkatan substansial pada kandungan NFC, yang berkisar antara 20,48% hingga 20,96%. NFC merupakan substrat utama untuk produksi VFA oleh mikroorganisme rumen, tingkat NFC yang relatif sama menghasilkan aktivitas fermentasi yang sebanding. Selain itu, protein kasar bukan merupakan substrat utama dalam produksi VFA di dalam rumen, protein pakan didegradasi oleh mikroorganisme rumen menjadi peptida, asam amino, dan amonia, yang selanjutnya dimanfaatkan untuk sintesis protein mikroba (McDonald et al. 2011). Oleh karena itu, peningkatan kandungan protein kasar dalam ransum tidak secara langsung meningkatkan produksi total VFA. Hasil ini sejalan dengan Hall et al. (2010), yang menyatakan bahwa perbedaan kecil dalam kadar NFC pakan tidak menghasilkan perubahan signifikan pada konsentrasi total VFA. Konsentrasi VFA parsial juga tidak

berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa produksi masing-masing fraksi VFA selama fermentasi rumen relatif serupa. Hasil ini mengindikasikan bahwa aktivitas mikroba rumen cenderung sama akibat ketersediaan substrat fermentabel yang relatif seragam.

Peningkatan proporsi penggunaan *Indigofera zollingeriana* dalam ransum berpengaruh sangat nyata (p < 0,01) terhadap proporsi molar asetat (C2), propionat (C3), serta rasio C2/C3 (Tabel 4). Proporsi asetat (C2) secara signifikan lebih rendah pada perlakuan M1 dibandingkan M0, sedangkan perlakuan M2-M4 tidak berbeda nyata dengan kontrol. Sebaliknya, proporsi propionat (C3) secara signifikan lebih tinggi pada M1 dibandingkan M0, sementara pada M2-M4 tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa proporsi indigofera 10% mampu memodifikasi pola fermentasi rumen dengan menurunkan asetat dan meningkatkan propionat, sedangkan peningkatan proporsi lebih tinggi tidak memberikan efek yang sama. Perlakuan M1 menghasilkan proporsi propionat tertinggi yaitu 36,54 mM 100 mM⁻¹ dan rasio C2/C3 terendah yaitu 1,33, yang menunjukkan fermentasi dengan efisiensi energi paling tinggi. Kondisi ini berkaitan dengan keseimbangan suplai NDF sebesar 53,41% dan NFC sebesar 20,84%, yang memungkinkan aktivitas simultan mikroba amilolitik dan selulolitik. Sebagian besar hidrogen metabolik (H₂) yang dihasilkan selama fermentasi piruvat diarahkan menuju pembentukan propionat melalui jalur suksinat. Propionat merupakan VFA utama yang bersifat glukoneogenik pada ruminansia, sebagian besar glukosa hati berasal dari karbon propionat (Young 1977). Namun, peningkatan proporsi indigofera di atas 10% tidak mempertahankan pergeseran propionogenik ini karena kemungkinan adanya peningkatan konsentrasi tanin. Tanin diketahui dapat membentuk kompleks dengan protein dan karbohidrat, sehingga menurunkan ketersediaan substrat bagi mikroba rumen serta menghambat aktivitas enzim pendegradasi pati dan protein (Tiemann et al. 2008). Hasil ini sejalan dengan Holik et al. (2025), yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi tanin dalam ransum secara signifikan

Tabel 4 Proporsi molar VFA parsial ransum dengan taraf penambahan *Indigofera zollingeriana* yang berbeda

VFA parsial (Mm 100 mM ⁻¹)	M0	M1	M2	M3	M4	p-value
Asetat (C2)	56,85 ± 4,29 ^A	48,55 ± 2,85 ^B	53,71 ± 5,20 ^A	55,46 ± 4,17 ^A	58,60 ± 3,00 ^A	0,01
Propionat (C3)	30,81 ± 2,68 ^B	36,54 ± 1,37 ^A	33,61 ± 2,96 ^B	33,33 ± 2,04 ^B	31,34 ± 1,73 ^B	0,00
Isobutirat (iC4)	0,67 ± 0,22	0,91 ± 0,36	0,72 ± 0,25	0,65 ± 0,09	0,74 ± 0,17	0,34
n-Butirat (nC4)	8,29 ± 2,01	10,55 ± 1,46	8,22 ± 2,41	8,50 ± 1,90	7,44 ± 0,83	0,20
Isovalerat (iC5)	1,77 ± 0,31	1,81 ± 0,81	1,57 ± 0,55	1,54 ± 0,45	1,58 ± 0,55	0,85
n-Valerat (nC5)	0,91 ± 0,23	1,27 ± 0,18	1,08 ± 0,19	1,15 ± 0,32	1,21 ± 0,23	0,30

M0: 0% indigofera, M1: 10% *I. zollingeriana*, M2: 20% *I. zollingeriana*, M3: 30% *I. zollingeriana*, M4: 40% *I. zollingeriana*, Huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

meningkatkan proporsi asetat dan rasio C2/C3 serta menurunkan propionat. Akibatnya, rasio C2/C3 meningkat, yang menunjukkan penurunan efisiensi energi fermentasi, karena proporsi hidrogen yang lebih besar diarahkan ke VFA lipogenik seperti asetat dan butirat (Ungerfeld 2015).

Proporsi propionat yang diamati dalam penelitian ini (30,81–36,54 mM 100 mM⁻¹) pada tingkat proporsi *I. zollingeriana* 0–40%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan laporan pada studi *in vitro* sebelumnya, baik pada ransum berbasis hijauan maupun konsentrat. Dung *et al.* (2014) melaporkan proporsi propionat dibawah 24 mM 100 mM⁻¹ dan proporsi asetat diatas 62 mM 100 mM⁻¹, yang menghasilkan rasio C2/C3 lebih dari 2,70. Sebaliknya, rasio C2/C3 yang lebih rendah (1,33–1,87) dalam penelitian ini menunjukkan adanya pergeseran ke arah fermentasi propionogenik, yang mengindikasikan peningkatan pemanfaatan hidrogen untuk pembentukan propionat serta efisiensi energi yang lebih baik, meskipun tanpa penggunaan konsentrat tinggi.

Baik proporsi molar butirat maupun VFA minor tidak berbeda nyata. Butirat berfungsi sebagai sumber energi utama bagi sel epitel rumen serta merangsang perkembangan papila rumen melalui peningkatan aktivitas metabolik dan proliferasi sel epitel (Liu *et al.*, 2019). Konsistensi proporsi butirat menunjukkan bahwa peningkatan proporsi *I. zollingeriana* tidak mempengaruhi proses fermentasi yang terkait dengan metabolisme asetil-KoA. Demikian pula, proporsi VFA minor yang relatif konstan menunjukkan bahwa peningkatan proporsi *I. zollingeriana* tidak mengubah jalur fermentasi asam amino. VFA minor terutama berasal dari deaminasi oksidatif asam amino rantai cabang (valin, leusin, dan isoleusin) yang berperan sebagai faktor pertumbuhan bagi bakteri selulolitik (Mitchell *et al.* 2023).

Produksi Gas Metan

Peningkatan proporsi penggunaan *Indigofera zollingeriana* dalam ransum tidak berpengaruh nyata terhadap produksi gas metan (CH₄) (Tabel 3). Produksi gas metan diestimasi menggunakan rumus stoikiometri dari Moss *et al.* (2000) yang memprediksi produksi gas metan berdasarkan konsentrasi asetat (C2), propionat (C3), dan butirat (C4). Konsentrasi VFA parsial yang tidak berbeda nyata menyebabkan produksi gas metan juga tidak berbeda nyata. Menurut Janssen (2010)

hydrogen (H₂) merupakan substrat bagi mikroorganisme metanogen di dalam rumen untuk memproduksi gas metan, dan sebagian besar H₂ dihasilkan sebagai *by product* dari pembentukan asetat dan butirat selama fermentasi fraksi serat NDF dan ADF.

Nilai CH₄ pada M0 yang tidak berbeda nyata dengan M1-M4 meskipun dengan SK tertinggi (24,01%) berkaitan dengan PK terendah (10,99%) dibanding perlakuan lainnya, menurut McDonald *et al.* (2011) protein pakan diurai oleh mikroba rumen menjadi peptida, asam amino, dan amonia, yang kemudian dimanfaatkan untuk sintesis protein mikroba (McDonald *et al.* 2011), selanjutnya mempengaruhi populasi bakteri selulolitik yang akan mendegradasi serat. Nilai CH₄ yang lebih rendah pada perlakuan M1-M4 berkaitan dengan keberadaan senyawa bioaktif tanin pada *I. zollingeriana*, tanin merupakan salah satu senyawa bioaktif utama pada *I. zollingeriana* dengan kandungan sekitar 5,4% dari total komposisinya (Antari *et al.* 2022). Tanin pada ransum ruminansia berpotensi menurunkan produksi gas metan melalui mekanisme penghambatan langsung terhadap aktivitas *methanogenic archaea* serta protozoa yang berasosiasi dengan metanogen sebagai penyedia hidrogen (Patra dan Saxena 2011). Selain itu, hasil meta-analisis oleh (Jayanegara *et al.* 2012) menunjukkan adanya kecenderungan penurunan emisi gas metan seiring dengan peningkatan kadar tanin dalam ransum. Namun demikian, pada penelitian ini, meskipun produksi CH₄ tergolong relatif rendah, peningkatan proporsi *I. zollingeriana* dalam ransum tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi gas metan. Temuan ini mengindikasikan bahwa kadar tanin pada masing-masing perlakuan masih berada di bawah ambang efektif untuk menekan aktivitas mikroba metanogen secara signifikan. Lebih lanjut, Mueller-Harvey *et al.* (2019) menjelaskan bahwa pengaruh tanin terkondensasi dari leguminosa terhadap proses metanogenesis sangat dipengaruhi oleh konsentrasi tanin, struktur kimia, serta interaksinya dengan komponen nutrisi lainnya.

Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik (KcBK & KcBO)

Peningkatan proporsi *Indigofera zollingeriana* dalam ransum berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kecernaan bahan kering (KcBK) dan bahan organik (KcBO) (Tabel 3), Nilai KcBK meningkat dari 63,02% pada M0 menjadi 69,86% pada M4, sedangkan KcBO meningkat dari 62,20% menjadi 68,54%. Kenaikan

tersebut berhubungan erat dengan perbaikan kandungan nutrisi ransum, kandungan protein kasar meningkat dari 10,99% menjadi 16,97%, sementara serat kasar turun dari 24,01% menjadi 20,30%, NDF dari 55,02% menjadi 48,59%, ADF dari 32,53% menjadi 26,59%. Hal tersebut memperbaiki kualitas nutrisi serta degradabilitas ransum. Suharlina *et al.* (2016) melaporkan peningkatan proporsi *I. zollingeriana* dalam ransum meningkatkan KCBK dan KcBO dikarenakan karakteristik tanaman *I. zollingeriana* memiliki protein tinggi dan serat rendah sehingga meningkatkan degradabilitas oleh mikroba rumen.

Meskipun KCBK meningkat secara signifikan dari M1 hingga M4, KcBO tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara M1 dan M2 maupun antara M3 dan M4, yang mengindikasikan adanya respons yang berbeda antara pencernaan bahan kering dan bahan organik pada tingkat proporsi *I. zollingeriana* yang lebih tinggi. Pola ini kemungkinan berkaitan dengan meningkatnya kandungan tanin pada *I. zollingeriana*, yang dapat membentuk kompleks dengan protein dan karbohidrat sehingga membatasi ketersediaan nutrisi. Tiemann *et al.* (2008) melaporkan bahwa tanin pada hijauan leguminosa dapat menurunkan ketersediaan protein dan menekan degradasi serat, terutama ADF. Interaksi tersebut dapat menjelaskan mengapa KcBO tidak mengalami peningkatan yang signifikan meskipun KCBK terus meningkat signifikan.

SIMPULAN

Peningkatan proporsi penggunaan *Indigofera zollingeriana* dalam sistem ransum in situ (SRI) meningkatkan kualitas nutrisi, mengarahkan pola fermentasi rumen menuju peningkatan propionat yang ditunjukkan oleh rendahnya rasio C2/C3, serta meningkatkan pencernaan bahan kering (KCBK) dan pencernaan bahan organik (KcBO) tanpa meningkatkan produksi gas metan dengan taraf optimal diperoleh pada taraf penambahan 40%. Oleh karena itu, *Indigofera zollingeriana* direkomendasikan sebagai bahan pakan utama dalam formulasi SRI untuk domba *breeding*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah L, Kumalasari NR, Ramadani J, Diapari D, Sitompul MS & Saputra IE. 2025. Effect of forage nutrient on sheep gas emission in different multi-species cropping system. *Journal of. Water and Land. Development*. 66 (VII- IX) :53-60.doi:10.24425/jwld.2025.155301.
- Abdullah L & Suharlina. 2010. Herbage yield and quality of two vegetative parts of indigofera at different times of first regrowth defoliation. *Media Peternakan*. 33(1):44-49.
- Adnew W, Tsegay BA, Tassew A & Asmare B. 2019. Effect of altitudes and harvesting stages on agronomic responses and chemical composition of Brachiaria grass cultivars in Northwestern Ethiopia. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* 52(2):52.
- Antari R, Anggraeny YN, Putri AS, Sukmasari PK, Mariyono NHK, Aprilliza MN & Ginting S. 2022. Nutritive and antinutritive contents of *Indigofera zollingeriana*: its potency for cattle feed in Indonesia. *Livestock Research for Rural Development*. 34(2).
- AOAC International. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Editi. Gaithersburg, Maryland (US): AOAC International.
- Cancino SJ. 2018. Forage accumulation of buffelgrass and *Urochloa hybrids* at different regrowth ages. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 5(15):573-581.doi:10.19136/era.a5n15.1634.
- Chen H, Wang C, Huasai S & Chen A. 2021. Effects of dietary forage to concentrate ratio on nutrient digestibility, ruminal fermentation and rumen bacterial composition in Angus cows. *Scientific Report* 11(1):1-11.doi:10.1038/s41598-021-96580-5.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2025. *Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2025*. Volume ke-4. Jakarta (ID): Kementerian Pertanian RI.
- Dung D Van, Shang W & Yao W. 2014. Effect of crude protein levels in concentrate and concentrate levels in diet on in vitro fermentation. *Asian Australasia Journal of Animal Science*. 27(6):797-805.
- Durand-Chávez LM, Arévalo-Aranda YG, Vásquez-Tarrillo RW, Torres-Jara GP, Díaz-Chuquiza P & Padilla-Macedo BT. 2026. Productive potential of three *Urochloa hybrids* in low-fertility soils of the Peruvian Amazon. *Open Agriculture Journal* . 11(1):1-12.doi:10.1515/opag-2025-0486.
- Ernawati A, Abdullah L & Permana IG. 2021. Kandungan dan Serapan Mineral Pucuk *Indigofera zollingeriana* dari Tanaman dengan Kerapatan Tanam Berbeda. *J. Ilmu Nutrisi dan Teknologi. Pakan*. 19(2):49-58.doi:doi.org/10.29244/jintp.19.2.49-58.
- Ernawati A, Abdullah L, Permana IG & Karti PDMH. 2023. Morphological responses, biomass production and nutrient of *Pennisetum purpureum* cv. Pakchong under different planting patterns and harvesting ages. *Biodiversitas*. 24(6):3439-3447.doi:10.13057/biodiv/d240640.
- Freitas A, Martins L, Salmazo P, Vendruscolo M. 2019. Production of *Brachiaria hybrid* convert hd 364 submitted to different doses of nitrogen. *Agraracademy*. 6(11):292-302.doi:10.18677/agrarian_academy_2019a28.
- Ge T, Yang C, Li B, Huang X, Zhao L, Zhang X, Tian L & Zhang E. 2023. High-energy diet modify rumen microbial composition and microbial energy metabolism pattern in fattening sheep. *BMC Veterinar Research*. 19(1):1-12.doi:10.1186/s12917-023-03592-6.
- Hall MB, Larson CC & Wilcox CJ. 2010. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. *Journal of Dairy Science*. 93(1):311-322.doi:10.3168/jds.2009-2552.
- Holik S, Malyugina S, Staffa A, Filipek J, Horky P, Kadek R & Illek J. 2025. Effect of dietary plant tannin supplementation on rumen fermentation and enteric methane production. *Journal of Animal Feed Science*. 34(2):272-283.doi:10.22358/jafs/195648/2025.
- Hunegnaw B, Mekuriaw Y, Asmare B & Mekuriaw S. 2022. Morphoagronomical and nutritive performance of Brachiaria grasses affected by soil type and fertilizer application grown under rainfed condition in Ethiopia. *Advances in Agriculture*. 2022:1-11.doi:10.1155/2022/7373145.
- Janssen PH. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*. 160(1-2):1-22.doi:10.1016/j.anifeeds.2010.07.002.
- Jayanegara A, Leiber F & Kreuzer M. 2012. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from *in vivo* and *in vitro* experiments. *Journal. Animal Physiology and Animal Nutrition. (Berl)*. 96(3):365-375.doi:10.1111/j.1439-0396.2011.01172.x.
- Khorrami B, Khiaosa-ard R & Zebeli Q. 2021. Models to predict the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cows based on dietary and cow factors: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 104(7):7761-7780.doi:10.3168/jds.2020-19890.
- Khotijah L, Wiryawan KG, Agus Setiadi M & Astuti DA. 2015. Reproductive performance, cholesterol and progesterone status of garut ewes fed ration containing different levels of sun flower oil. *Pakistan Journal of Nutrition*. 14(7):388-391.doi:10.3923/pjn.2015.388.391.

- Liu L, Sun D, Mao S, Zhu W & Liu J. 2019. Infusion of sodium butyrate promotes rumen papillae growth and enhances expression of genes related to rumen epithelial VFA uptake and metabolism in neonatal twin lambs. *Journal of Animal Science*. 97(2):909–921.doi:10.1093/jas/sky459.
- Martínez-hernández MF, Garay-martínez JR, Ventura-ríos J, Estrada-drouaillet B, Limas-martínez AG. 2024. Productivity and quality of Mulato II grass (*Urochloa híbrido*) alone and silage with agroindustrial by-products. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 11(2):1–15.doi:10.19136/era.a11n2.4080.Mart.
- Mcdonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA, Sinclair LA & Wilkinson RG. 2011. *Animal nutrition*. Harlow(UK): Pearson Education Limited.
- Mitchell KE, Lee C, Socha MT, Kleinschmit DH & Firkins JL. 2023. Supplementing branched-chain volatile fatty acids in dual-flow cultures varying in dietary forage and corn oil concentrations. III: Protein metabolism and incorporation into bacterial protein. *Journal of Dairy Science*. 106(11):7566–7577.doi:10.3168/jds.2022-23193.
- Montañez-Valdez OD, Solano-Gama J de J, Martínez-Tinajero JJ, Guerra-Medina CE, de Coss AL & Orozco-Hernandez R. 2013. Buffering capacity of common feedstuffs used in ruminant diets. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 26(1):37–41.doi:10.17533/udea.rccp.324813.
- Moss AR, Jouany JP & Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Animal Research*. 49(3):231–253.doi:10.1051/animres:2000119.
- Mueller-Harvey I, Bee G, Dohme-Meier F, Hoste H, Karonen M, Kölliker R, Lüscher A, Niderkorn V, Pellikaan WF, Salminen JP & et al. 2019. Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: Importance of structure, concentration, and diet composition. *Crop Science*. 59(3):861–885.doi:10.2135/cropsci2017.06.0369.
- Na SW & Guan LL. 2022. Understanding the role of rumen epithelial host-microbe interactions in cattle feed efficiency. *Animal Nutrition*. 10:41–53.doi:10.1016/j.aninu.2022.04.002.
- National Research Council. 1985. *Nutrien Requirements of Sheep*. Washington(US): National Academy Press.
- Patra AK & Saxena J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91(1):24–37.doi:10.1002/jsfa.4152.
- Petrovski KR. 2017. Assessment of the Rumen Fluid of a Bovine Patient. *Journal of Dairy Veterinary and Science*. 2(3):1–7.doi:10.19080/jdvs.2017.02.555588.
- Reyes PJJ, Méndez MY, Verdecia DM, Luna MRA, Hernández MLG & Herrera RS. 2018. Components of the yield and bromatological composition of three *Brachiaria* varieties in El Empalme area, Ecuador. *Cuba. Journal of Agricultural Science*. 52(4):435–445.
- Sada SM, Koten BB, Ndoen B, Paga A, Toe P, Wea R & Ariyanto A. 2018. Pengaruh interval waktu pemberian pupuk organik cair berbahan baku keong mas terhadap pertumbuhan dan produksi hijauan *Pennisetum purpureum* cv. Mott. *Jurnal Ilmiah Inovasi*. 18(1):43–47.doi:doi.org/10.25047/jii.v18i1.846.
- Soest PJVAN, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74(10):3583–3597.doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- Suharlina, Astuti DA, Nahrowi, Jayanegara A & Abdullah L. 2016. In vitro evaluation of concentrate feed containing *indigofera zollingeriana* in goat. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 41(4):196–203.doi:10.14710/jitaa.41.4.196-203.
- Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR & Macia L. 2014. *The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease*. Ed ke-1 Volume ke-121. Boston(US): Elsevier Inc.
- Tiemann TT, Lascano CE, Wettstein HR, Mayer AC, Kreuzer M, Hess HD. 2008. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animals*. 2(5):790–799.doi:10.1017/S1751731108001791.
- Tilley JMA & Terry RA. 1963. a Two-Stage Technique for the *in Vitro* Digestion of Forage Crops. *Grass and Forage Science*. 18(2):104–111.doi:10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x.
- Ungerfeld EM. 2015. Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: A meta-analysis. *Frontiers. Microbiology*. 6(37):1–17.doi:10.3389/fmicb.2015.00037.
- Young JW. 1977. Gluconeogenesis in Cattle: Significance and Methodology. *Journal of Dairy Science*. 60(1):1–15.doi:10.3168/jds.S0022-0302(77)83821-6.
- Zampaligré N, Traoré TC, Sawadogo ETBP, Ayantunde A, Prasad KVS, Blummel M, Balehegn M, Rios E, Dubeux JC, Boote KJ, et al. 2022. Herbage accumulation and nutritive value of cultivar Mulato II, Congo grass, and Guinea grass cultivar C1 in a subhumid zone of West Africa. *Agronomy Journal*. 114(1):138–147.doi:10.1002/agj2.20861.