

PENGARUH LEVEL PENGGUNAAN *Gracilaria sp.* DALAM PAKAN KOMPLIT TERHADAP KECERNAAN *IN VITRO* BAHAN KERING, BAHAN ORGANIK, ENERGI TERCEMA DAN ENERGI TERMETABOLIS

*The effect of *Gracilaria sp.* use in Complete Feed on In Vitro Digestibility of Dry Matter, Organic Matter, Digestible Energy, and Metabolizable Energy*

Angela Matilda Bupu Nua¹, Imanuel Benu^{1*}, Tara Tiba Nikolaus¹, Gusti Ayu Yudiwati Lestari¹, I Gusti Ngurah Jelantik¹

Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Kelautan Dan Perikanan Universitas Nusa Cendana

Jl. Adisucipto Penfui Kota Kupang NTT Kode Pos 10485001

Telp (0380) 881580. Fax (0380) 881674

*Corresponding Author. Email: imanuelbenu@staf.undana.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi berbagai level penggunaan *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit terhadap kecernaan *in vitro* bahan kering, bahan organik, energi tercerna dan energi termetabolis. Metode yang dipakai adalah pendekatan eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang dicobakan yaitu: G0 = 70% rumput lapangan + 30% konsentrat, G5 = 65% rumput lapangan + 5% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat, G10 = 60% rumput lapangan + 10% *Gracilaria sp.* + 30 konsentrat, G15 = 55% rumput lapangan + 15% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan level penggunaan *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit meningkatkan ($P<0,05$) kecernaan bahan kering (56,67– 64,06%), kecernaan bahan organik (53,99–61,02%). Namun tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) pada energi tercerna (10.15–10.84 MJ/kg) dan ME (8.32– 8.89 MJ/kg). Dapat disimpulkan bahwa penggunaan level *Gracilaria sp.* 5% dalam pakan komplit sudah mampu meningkatkan nilai kecernaan *in vitro* tanpa menurunkan nilai energi secara signifikan.

Kata Kunci : Energi tercerna, energi termetabolis, *Gracilaria sp.*, kecernaan *in vitro*, pakan komplit

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of different inclusion levels of *Gracilaria sp.* in complete feed on in vitro dry matter digestibility, organic matter digestibility, digestible energy, and metabolizable energy. The experiment employed a Completely Randomized Design (CRD) consisting of four dietary treatments with three replicates. The dietary treatments were as follows: G0 = 70% native grass + 30% concentrate; G5 = 65% native grass + 5% *Gracilaria sp.* + 30% concentrate; G10 = 60% native grass + 10% *Gracilaria sp.* + 30% concentrate; and G15 = 55% native grass + 15% *Gracilaria sp.* + 30% concentrate. The results showed that increasing the inclusion level of *Gracilaria sp.* in the complete feed significantly ($P<0.05$) improved in vitro dry matter digestibility (56.67–64.06%) and organic matter digestibility (53.99–61.02%). However, it had no significant effect ($P>0.05$) on digestible energy (10.15–10.84 MJ/kg) or metabolizable energy (8.32–8.89 MJ/kg). It can be concluded that the use of *Gracilaria sp.* at levels of 5% to 15% in complete feed is effective in improving *in vitro* digestibility without reducing its energy value. The 5% inclusion level serves as the initial threshold to improve organic matter digestibility, while the 15% level yields the most optimal dry matter digestibility.

Keywords: *Gracilaria sp.*, complete feed, digestible energy, in vitro digestibility, metabolizable energy

PENDAHULUAN

Produksi ternak ruminansia di daerah kering tropis, seperti Nusa Tenggara Timur (NTT), umumnya dibatasi oleh ketersediaan hijauan berkualitas rendah selama musim kemarau. Situasi ini ditandai dengan rendahnya kadar protein kasar dan tingginya fraksi serat struktural, yang dapat mengurangi aktivitas fermentasi rumen, konsumsi nutrisi serta efektivitas penggunaan energi oleh ternak (Abani *et al.*, 2018; Irmayanti dan Ningtiyas, 2022; Jelantik, 2001). Akibatnya, produktivitas ternak ruminansia di kawasan tersebut cenderung rendah. Oleh karena itu, sangat penting untuk memanfaatkan sumber bahan lokal potensial dan mudah diakses di daerah tersebut.

Gracilaria sp. merupakan salah satu jenis alga laut yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan pakan alternatif di wilayah Nusa Tenggara Timur (NTT). Hal ini didukung oleh ketersediaannya yang melimpah dan meluas di wilayah pesisir NTT, seperti di perairan Kupang Barat (Pantai Bolok dan Tablolong) serta potensinya untuk dibudidayakan di tambak tradisional (misalnya di Desa Bipolo, Kupang Timur) sepanjang tahun baik secara monokultur maupun polikultur dengan ikan bandeng (Wuhi *et al.*, 2020; Suryani *et al.*, 2022). Merujuk pada data nasional terbaru dari Kementerian Kelautan dan Perikanan (2024), NTT terdaftar sebagai salah satu dari 10 provinsi penghasil utama rumput laut nasional dengan budidaya *Gracilaria sp.* yang terus dikembangkan di wilayah pesisir kepulauan. Secara nutrisi, rumput laut ini mengandung protein, mineral, dan karbohidrat yang cukup tinggi sehingga berpotensi mendukung fermentasi rumen (Insani *et al.*, 2022). Analisis proksimat menunjukkan bahwa *Gracilaria sp.* memiliki kandungan bahan kering tinggi (96,95%) dengan kadar abu (29,09%) dan

protein yang relatif tinggi (15,71%) jika dibandingkan dengan beberapa bahan pakan konvensional lainnya.

Gracilaria sp. juga mengandung senyawa sekunder seperti tanin dan saponin yang memiliki potensi sebagai modulator rumen (Antonius *et al.*, 2023). Tanin dapat memproteksi protein dari degradasi berlebih di rumen sehingga meningkatkan aliran protein ke usus halus (Ani *et al.*, 2015). Sementara itu, saponin diketahui memiliki efek defaunasi yang dapat mengurangi jumlah protozoa rumen, sehingga meningkatkan jumlah bakteri yang mencerna serat. Kombinasi kedua senyawa tersebut dilaporkan dapat meningkatkan efisiensi fermentasi rumen dan sintesis biomassa mikroba (Abarghuei dan Salem, 2021). Meskipun konsentrasi spesifik senyawa aktif pada bahan yang digunakan dalam penelitian ini tidak diukur secara langsung (yang menjadi salah satu batasan penelitian), literatur menunjukkan bahwa kandungan tanin dan saponin pada alga merah seperti *Gracilaria sp.* berada pada taraf yang aman dan moderat untuk memodulasi fermentasi tanpa menurunkan aktivitas metabolik rumen secara merugikan (De Bhowmick dan Hayes, 2023). Beberapa penelitian melaporkan bahwa suplementasi *Gracilaria sp.* sebesar 8–16% dalam ransum domba dan sapi potong dapat meningkatkan nilai pencernaan secara *in vitro* (Aji *et al.*, 2019; Nugroho *et al.*, 2019; Putri *et al.*, 2025).

Meskipun *Gracilaria sp.* memiliki potensi nutrisi dan senyawa bioaktif yang baik, pemberiannya secara langsung atau sekadar sebagai suplemen sering kali kurang optimal. Hal ini berkaitan dengan potensi masalah palatabilitas serta tingginya kadar abu (29,09%) jika tidak diatur proporsinya, dapat mengganggu keseimbangan mikroba rumen. Oleh karena itu, penerapan teknologi pakan komplit

(*complete feed*) menjadi solusi strategis. Pakan komplit diformulasikan untuk mencampur hijauan dan konsentrat secara merata dengan tujuan untuk mencegah kebiasaan ternak memilih pakan (*selective feeding*), memastikan asupan nutrisi yang beragam, serta menyinkronkan ketersediaan energi dan protein di dalam rumen. Kajian terdahulu mengenai *Gracilaria sp.* masih terbatas pada pemberian sebagai suplemen tunggal terpisah dalam ransum (Aji et al., 2019; Nugroho et al., 2019), yang berisiko memicu konsumsi pakan yang tidak homogen dan fluktuasi metabolisme di dalam rumen. Informasi terintegrasi mengenai respons pencernaan dan parameter nilai energi pakan (energi tercerna/DE dan energi metabolizable/ME) dalam format sistem pakan komplit berbasis hijauan lokal

di NTT belum pernah dilaporkan. Penggabungan rumput laut dalam sistem pakan komplit diharapkan mampu menciptakan sinkronisasi degradasi nitrogen dan energi yang ideal bagi mikroba rumen secara simultan.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh level penggunaan *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit terhadap pencernaan *in vitro* bahan kering, bahan organik, energi tercerna, serta energi termetabolisme. Hipotesis studi adalah bahwa peningkatan level *Gracilaria sp.* sebagai pengganti rumput lapangan dalam pakan komplit dapat meningkatkan pencernaan nutrisi dan efisiensi pemanfaatan energi melalui perbaikan proses fermentasi rumen.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September hingga Oktober 2025. Pengambilan sampel rumput laut dilakukan di perairan Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. Proses pembuatan pakan komplit dilakukan di Dusun Binlaka, Desa Oeltua, Kecamatan Taebenu, Kabupaten Kupang. Sementara itu, analisis proksimat serta pengujian pencernaan *in vitro* dilakukan di Laboratorium Kimia Pakan, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana.

Materi Penelitian

Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik, blender, inkubator, *shaker water bath*, oven 105°C, furnace, pompa vakum, kain kasa, tabung fermentor berkapasitas 100mL dan tutup karet berventilasi, cawan porselen, desikator, erlenmeyer, sentrifugasi, Whatman no.41, gas CO₂, selang plastik, pipa pvc 40 cm, botol berkapasitas 500 ml dan saringan.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rumput laut merah (*Gracilaria sp.*) yang dikoleksi dari beberapa lokasi di sepanjang pantai Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur, sedangkan rumput lapangan dikumpulkan dari satu lokasi spesifik untuk menjamin homogenitas pakan basal, konsentrat, larutan buffer McDougall, larutan HgCl₂, larutan pepsin-HCl, cairan rumen kambing sebagai inokulum fermentasi.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diuji yaitu sebagai berikut:

- G0 : 70% rumput lapangan + 30% konsentrat
- G5 : 65% rumput lapangan + 5% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat
- G10 : 60% rumput lapangan + 10% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat

G15 : 55% rumput lapangan + 15% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat
 Komposisi konsentrat terdiri dari jagung 60%, bran pollard 35% dan tepung ikan 5%.

Tabel 1. Kandungan nutrisi penyusun pakan komplit

Komposisi kimia (%BK)	Rumput Lapangan	Pollard	<i>Gracilaria sp.</i>	Tepung Jagung	Tepung Ikan
BK	94,58	92,34	96,60	92,72	91,33
Abu	7,33	4,43	29,10	2,81	25,89
BO	92,68	95,57	70,90	97,19	74,11
PK	7,74	15,47	15,72	11,41	48,10
LK	4,53	8,78	3,71	1,20	7,19
SK	34,46	8,73	6,39	3,78	0,40
CHO	80,40	71,33	51,48	84,57	18,82
BETN	45,95	62,60	45,09	80,79	18,43
GE MJ/kg BK	17,33	19,08	13,98	17,81	17,37
GE Kkal/kg BK	4.126,69	4.543,34	3.328,63	4.239,76	4.135,06
EM Kkal/kg BK	2.379,53	3.642,31	2.565,96	3.526,29	3.042,57

Hasil analisis Laboratorium Kimia Pakan, FPKP, Universitas Nusa Cendana (2025)

Tabel. 2 Komposisi pakan perlakuan

Perlakuan	Rumput Lapangan	<i>Gracilaria sp.</i>	Konsentrat			Total
			Tepung Jagung	Pollard	Tepung Ikan	
G0	70	0	18	10,5	1,5	100
G5	65	5	18	10,5	1,5	100
G10	60	10	18	10,5	1,5	100
G15	55	15	18	10,5	1,5	100

Keterangan: G0 = 70% rumput lapangan + 30% konsentrat (kontrol), G5 = 65% rumput lapangan + 5% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat, G10 = 60% rumput lapangan + 10% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat, G15 = 55% rumput lapangan + 15% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat.

Prosedur Penelitian

Tahap pertama, sampel *Gracilaria sp.* dikoleksi dari perairan Kota Kupang saat surut, dibersihkan, dan dicuci dengan air bersih. Sampel diangin-anginkan di bawah naungan matahari (suhu lingkungan berkisar 28–32°C, kelembapan udara relatif 60–70%) selama 6 hari hingga mencapai berat konstan dengan kadar bahan kering (BK) akhir sebesar 96,60% (kadar air 3,40%). Standardisasi kadar BK ini penting dilakukan guna mencegah pertumbuhan

kapang dan menjaga konsistensi komposisi nutrisi bahan pakan selama penyimpanan sebelum diproses lebih lanjut. Setelah kering, sampel selanjutnya dicacah dengan ukuran 2–3 cm.

Selanjutnya, tahap dua rumput lapangan dikering-udarkan dan dicacah, lalu dicampur homogen dengan konsentrat (tepung jagung, pollard, tepung ikan) serta rumput laut sesuai perlakuan. Pakan komplit ditimbang, dikemas dalam plastik klip berlabel, dan dikirim ke Laboratorium

Kimia Pakan, FPKP, Undana untuk analisis proksimat dan pencernaan *in vitro* (Tilley and Terry, 1963).

Tahap terakhir, cairan rumen dikoleksi dari tiga (3) ekor kambing Kacang jantan donor yang sehat (berumur 1,5–2 tahun, dengan bobot badan rata-rata 18–20 kg). Selama pemeliharaan, kambing donor diberi pakan terstandar yang terdiri dari 70% rumput lapangan dan 30% konsentrat komersial. Koleksi cairan rumen dilakukan di pagi hari sebelum pemberian pakan (0 jam relatif terhadap pemberian pakan pagi) dengan menggunakan alat oral stomach tube (selang mulut) yang dihubungkan dengan pompa vakum manual. Pemilihan metode oral stomach tube ini didasarkan pada aspek kesejahteraan ternak (animal welfare) karena bersifat non-invasif, tidak memerlukan pembedahan kanulasi/fistulasi, aman, serta praktis untuk pengumpulan inokulum rumen dalam jumlah memadai bagi analisis skrining *in vitro* standar. Inokulum ditampung dalam termos vakum steril yang telah dihangatkan sebelumnya (39°C), segera dilarikan ke laboratorium, disaring melalui empat lapis kain kasa, dan dialiri gas CO₂ untuk mempertahankan suasana anaerob serta viabilitas mikroba rumen selama inkubasi.

Prosedur penentuan pencernaan bahan kering dan bahan organik dilakukan menggunakan metode Tilley and Terry (1963) yang dimodifikasi.

Sebanyak 0,5 g sampel pakan dimasukkan ke dalam tabung fermentor, kemudian ditambahkan 40 mL larutan buffer McDougall dan diinkubasi dalam shaker water bath pada suhu 39°C. Selanjutnya ditambahkan 10 mL cairan rumen, kemudian tabung dialiri gas CO₂ selama ±30 detik untuk menciptakan kondisi anaerob. pH campuran diukur dan dipertahankan pada kisaran 6,5–6,9, kemudian tabung ditutup menggunakan karet berventilasi dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah proses fermentasi selesai, aktivitas mikroba dihentikan dengan

menambahkan 2–3 tetes larutan HgCl₂. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dan residu. Residu hasil sentrifugasi selanjutnya ditambahkan 50 mL larutan pepsin-HCl 0,2% dan diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 39°C tanpa penutup karet untuk mensimulasikan proses pencernaan pascarumen. Setelah inkubasi tahap kedua selesai, residu disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 41 yang telah diketahui bobotnya dengan bantuan pompa vakum. Residu yang tertahan pada kertas saring kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam untuk menentukan kadar bahan kering. Selanjutnya, residu dalam cawan porselen diabukan menggunakan furnace pada suhu 450–600°C selama 6 jam untuk menentukan kadar bahan organik (AOAC, 1990)

Variabel yang Diamati

Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah KcBK, KcBO, DE dan ME

1. Pencernaan Bahan Kering

$$\text{KcBK (\%)} = \frac{(\text{BK sampel}) - (\text{BK residu}) - (\text{BK blanko})}{\text{BK sampel}} \times 100\%$$

2. Pencernaan Bahan Organik

$$\text{KcBO (\%)} = \frac{(\text{BO sampel}) - (\text{BK residu}) - (\text{BK blanko})}{\text{Bo sampel}} \times 100\%$$

3. Nilai Energi

Kandungan zat nutrisi tercerna dihitung berdasarkan parameter proksimat dan proporsi pencernaan sebagai berikut:

- DCP : *Digested Crude Protein* (protein kasar tercerna) (kg/kg BK)
 : Kandungan Protein Kasar (kg/kg BK) x Pencernaan Protein Kasar (proporsi dari BK). Dimana Pencernaan Protein Kasar (%) = $93 - (300/\% \text{ PK})$ (Thomsen, 1979).
- DEE : *Digested Ether Extract* (lemak kasar tercerna) (kg/kg BK)
 : Kandungan Lemak (kg/kg) x Pencernaan Lemak Kasar

(proporsi dari BK). Dimana Kecernaan Lemak (%) = $96 - (100\% \text{ LK})$ (Weisjberg *et al.*, 1991).

- DOM : *Digested Organic Matter* (bahan organik tercerna) (kg/kg BK)
 : Kandungan Bahan Organik (kg/kg BK) x Kecernaan Bahan Organik (proporsi). Kecernaan Bahan Organik *in vivo* (%) = $4,10 + 0,959 \text{ (IVOMD, \%)}$ (Moller *et al.*, 1989).
 DCHO : *Digested Carbohydrate* (karbohidrat tercerna) (kg/kg BK)
 : $\text{DOM} - (\text{DCP} + \text{DEE})$

Kandungan Energi Tercerna (Digestible Energy, DE) dihitung secara matematis menggunakan persamaan empiris berdasarkan sistem evaluasi energi Hvelplund *et al.*, (1995) sebagai berikut:
 $\text{DE (MJ/kg BK)} = (\text{DCP} \times 24,237) + (\text{DEE} \times 34,116) + (\text{DCHO} \times 17,300)$
 Di mana koefisien energi yang digunakan mengacu pada nilai kalori standar nutrisi tercerna untuk ruminansia:
 - 24,237 MJ/kg untuk protein kasar tercerna (DCP),
 - 34,116 MJ/kg untuk lemak kasar

tercerna (DEE), dan
 - 17,300 MJ/kg untuk karbohidrat tercerna (DCHO).

4. Energi termetabolis (Metabolizable Energy, ME)

Nilai Energi Termetabolis (Metabolizable Energy, ME) diestimasi berdasarkan konversi dari Energi Tercerna (DE) mengacu pada standar National Research Council (NRC, 1976) melalui rumus:
 $\text{ME (MJ/kg BK)} = 0,82 \times \text{DE}$

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan Analisis Ragam (ANOVA) sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila hasil analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh perlakuan yang nyata ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Duncan's Multiple Range Test/DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar rata-rata perlakuan. Seluruh analisis dilakukan menggunakan SPSS versi 25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Nutrisi Pakan Perlakuan

Komposisi nutrisi pakan perlakuan dalam penelitian ini ditampilkan pada Tabel 3. Melalui tabel tersebut, dapat diamati adanya perbedaan pada profil nutrisi pakan komplit yang disebabkan oleh substitusi sebagian rumput lapangan dengan rumput laut merah (*Gracilaria sp.*). Terjadi peningkatan kandungan protein kasar (PK) dari 9,94% BK pada G0 menjadi 11,14% BK pada G15. Peningkatan ini disebabkan oleh karakteristik *Gracilaria sp.* yang memiliki kadar protein lebih tinggi dibandingkan dengan rumput lapangan.

Kandungan serat kasar (SK) mengalami penurunan yang konsisten berkisar antara 25,73% hingga 21,56% BK seiring dengan meningkatnya kandungan PK. Penurunan SK ini berdampak pada pergeseran fraksi karbohidrat di dalam pakan. Kandungan karbohidrat total (CHO) menunjukkan tren menurun dari 78,87% BK (G0) menjadi 74,54% BK (G15). Penurunan total karbohidrat ini utamanya dipicu oleh penurunan fraksi serat kasar yang cukup signifikan akibat substitusi *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit.

Namun, kandungan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) justru meningkat

dari 58,33% (G0) menjadi 61,51% (G15). Hal ini mengindikasikan bahwa meskipun karbohidrat secara total menurun, kualitas karbohidratnya membaik karena proporsi karbohidrat struktural (serat) yang sulit dicerna berkurang, sementara karbohidrat non-struktural (BETN) yang mudah larut dan siap digunakan sebagai sumber energi oleh ternak justru meningkat.

Di sisi lain, penggunaan *Gracilaria sp.* menyebabkan penurunan kandungan bahan organik dari 94,51% BK (G0) menjadi 90,61% BK (G15). Penurunan BO ini berkorelasi langsung dengan karakteristik rumput laut yang kaya akan kandungan mineral (abu). Akibat meningkatnya kandungan abu (anorganik) pakan, nilai energi bruto (GE) pakan

komplit secara matematis mengalami penurunan dari 17,64 MJ/Kg pada G0 menjadi 17,06 MJ/Kg pada G15, karena komponen mineral tidak berkontribusi dalam menghasilkan energi bruto.

Secara keseluruhan, perubahan parameter nutrisi ini mengindikasikan peningkatan kualitas nutrisi pakan komplit perlakuan melalui kombinasi peningkatan protein kasar dan BETN serta penurunan serat kasar. Pola pergeseran ini secara teoritis memberikan profil substrat kimia yang lebih mudah diakses oleh enzim-enzim pencernaan mikrobial, yang pada gilirannya berpotensi meningkatkan efisiensi fermentabilitas pakan secara *in vitro*.

Tabel 3. Komposisi Kimia Pakan Perlakuan

Item	Perlakuan			
	G0	G5	G10	G15
BK (%)	96,05	95,26	94,09	92,50
BO (%BK)	94,51	93,61	92,55	90,61
PK(% BK)	9,94	10,34	10,74	11,14
LK(% BK)	4,47	4,60	4,56	4,30
SK(% BK)	25,73	24,33	22,92	21,56
CHO(% BK)	78,87	77,43	75,99	74,54
BETN(% BK)	58,33	59,19	60,24	61,51
GE MJ/kg BK	17,64	17,47	17,30	17,06

Keterangan: BK; Bahan Kering, BO; Bahan Organik, PK; Protein Kasar, SK; Serat Kasar, LK; Lemak Kasar, CHO; Karbohidrat, BETN; Bahan Ekstrak tanpa Nitrogen, GE; Gross Energy. G0 = 70% rumput lapangan + 30% konsentrat (kontrol), G5 = 65% rumput lapangan + 5% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat, G10 = 60% rumput lapangan + 10% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat, G15 = 55% rumput lapangan + 15% *Gracilaria sp.* + 30% konsentrat

Kecernaan Bahan Kering (KcBK)

Kecernaan bahan kering merupakan salah satu parameter penting untuk mengevaluasi tingkat pemanfaatan nutrisi dalam pakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kecernaan bahan kering berada pada rentang 56,67–

64,06% (Tabel 4). Kisaran nilai tersebut menunjukkan bahwa pakan komplit yang mengandung *Gracilaria sp.* memiliki tingkat kecernaan yang cukup baik. Nilai ini relatif sebanding dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menggunakan rumput laut dalam ransum ternak ruminansia.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap variabel penelitian

Variabel	Perlakuan				SEM	P.Value
	G0	G5	G10	G15		
KcBK (%)	56,67 ^a	60,73 ^b	62,58 ^{bc}	64,06 ^c	1,245	0,002
KcBO (%)	53,99 ^a	58,80 ^b	60,18 ^b	61,02 ^b	1,629	0,011
DE(MJ/kg) BK	10,15	10,81	10,93	10,84	0,257	0,055
ME(MJ/kg) BK	8,32	8,86	8,96	8,89	0,211	0,055

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). SEM= Standard error of the treatment means, KcBK: Kecernaan Bahan Kering, KcBO: Kecernaan Bahan Organik, DE: Digestible energy (Energi Tercerna), ME: Metabolisable Energy (Energi Termetabolis)

Nugroho *et al.* (2019) melaporkan bahwa suplementasi *Gracilaria sp.* dengan level 8% pada pakan domba memperoleh nilai kecernaan bahan kering sebesar 67,18%. Aji *et al.* (2019) melaporkan nilai kecernaan bahan kering sebesar 54,47% pada sapi potong yang diberi ransum yang mengandung *Gracilaria sp.*, sedangkan Putri *et al.* (2025) mencatat angka kecernaan bahan kering sebesar 51,40% dalam ransum domba yang ditambahkan *Gracilaria sp.* sebanyak 16%. Perbedaan nilai kecernaan antarpelelitian tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis ternak donor rumen, komposisi ransum basal, bentuk fisik bahan pakan, serta metode evaluasi yang digunakan.

Analisis statistik menunjukkan bahwa peningkatan proporsi penggunaan *Gracilaria sp.* pada pakan komplit memberikan pengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap kecernaan bahan kering. Nilai kecernaan bahan kering meningkat dari 56,67% pada perlakuan kontrol (G0) menjadi 64,06% pada perlakuan G15 (Tabel 4). Peningkatan ini kemungkinan berkaitan dengan kandungan protein kasar *Gracilaria sp.* yang cukup tinggi (15,72%) dibandingkan dengan rumput lapangan (7,74%; Tabel 1). Kadar protein yang cukup tinggi dapat menyuplai sumber nitrogen yang lebih besar bagi mikrobiota rumen untuk sintesis protein mikroba, sehingga meningkatkan aktivitas fermentasi dan degradasi bahan pakan.

Namun demikian, perlu dicatat bahwa jumlah ulangan sebanyak tiga kali dalam penelitian *in vitro* laboratorium ini dapat membatasi kekuatan statistik (statistical power) uji untuk mendeteksi variabilitas biologis yang sangat halus.

Peningkatan kandungan protein kasar dalam ransum berperan sebagai sumber nitrogen yang esensial bagi mikroorganisme rumen, khususnya bakteri selulolitik dan amilolitik (Febriyani *et al.*, 2026). Nitrogen terlarut dari pakan ini diduga berpotensi menyediakan substrat bagi sintesis biomassa mikroba, yang secara tidak langsung dapat meningkatkan populasi bakteri amilolitik dan selulolitik serta aktivitas enzimatik rumen. Berbagai studi literatur terdahulu mengenai alga merah mengonfirmasi bahwa pasokan nitrogen terlarut yang cepat dari *Gracilaria sp.* memfasilitasi sinkronisasi energi-protein mikroba, yang melandasi peningkatan kecernaan bahan kering pakan (Putri *et al.*, 2025; Waters *et al.*, 2025).

Lebih lanjut, kontribusi BETN (karbohidrat non-struktural) dalam *Gracilaria sp.* ($\pm 45,08\%$, Tabel 1) juga berperan penting dalam meningkatkan kecernaan bahan kering. BETN merupakan jenis karbohidrat yang mudah diubah menjadi energi oleh mikroba rumen sehingga menjadi sumber energi cepat bagi mikroba tersebut (Aling *et al.*, 2020). Energi ini digunakan untuk mendukung pertumbuhan mikroba serta meningkatkan degradasi substrat pakan. Dalam sistem

rumen, ketersediaan energi cepat dari BETN sangat penting untuk menjaga aktivitas fermentasi yang optimal, terutama ketika dikombinasikan dengan sumber nitrogen yang memadai (Zain *et al.*, 2025).

Rendahnya kandungan serat kasar pada *Gracilaria sp.* juga mengurangi hambatan fisik terhadap degradasi mikroba. Serat struktural seperti lignoselulosa pada rumput lapangan cenderung membatasi akses enzim mikroba, sehingga menurunkan pencernaan. Substitusi sebagian rumput dengan *Gracilaria sp.* menurunkan fraksi lignifikasi, sehingga meningkatkan aksesibilitas mikroba terhadap substrat. Hal ini sejalan dengan laporan bahwa bahan pakan dengan serat rendah dan karbohidrat mudah larut meningkatkan degradasi *in vitro* secara signifikan (Nuswantara *et al.*, 2021). Pola peningkatan ini sejalan dengan hipotesis peneliti bahwa peningkatan level *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit mampu meningkatkan pencernaan bahan kering.

Kecernaan Bahan Organik (KcBO)

Kecernaan bahan organik merupakan refleksi langsung dari kemampuan mikroba rumen dalam memecah bahan organik pakan yang berkontribusi terhadap energi bagi ternak (McDonald *et al.*, 2011). Penelitian menunjukkan bahwa nilai KcBO naik secara signifikan seiring dengan peningkatan proporsi *Gracilaria sp.*, yang mengindikasikan adanya perbaikan kualitas substrat fermentasi. Hal ini berkaitan erat dengan perubahan komposisi kimia pakan, khususnya peningkatan fraksi karbohidrat mudah larut (BETN) dan penurunan serat kasar (Tabel 4).

Peningkatan KcBO diduga dipicu oleh perubahan struktur karbohidrat dalam ransum. Peningkatan kadar BETN dari *Gracilaria sp.* menyediakan lebih banyak karbohidrat non-struktural yang cepat difermentasi oleh mikroba rumen. Berdasarkan pustaka rujukan, fermentasi karbohidrat larut ini berkontribusi dominan terhadap perbaikan profil fermentabilitas bahan organik secara keseluruhan, yang

biasanya disertai oleh optimalisasi produksi asam lemak rantai pendek (VFA) di dalam cairan rumen (Azzahra *et al.*, 2025; Wanapat *et al.*, 2024).

Selain itu, keberadaan senyawa bioaktif seperti tanin dan saponin dalam *Gracilaria sp.* turut berperan dalam memodulasi fermentasi rumen. Senyawa saponin dalam beberapa studi dilaporkan memiliki potensi aktivitas defaunasi yang dapat menekan populasi protozoa rumen secara selektif (Ani *et al.*, 2015; Torres *et al.*, 2023), sehingga secara tidak langsung dapat meningkatkan populasi bakteri menguntungkan. Walaupun populasi protozoa tidak diukur secara langsung dalam penelitian ini (sehingga efek defaunasi aktual tidak dapat dibuktikan secara eksperimental), literatur mendukung bahwa konsentrasi senyawa saponin yang aman berpotensi meningkatkan nilai pencernaan bahan organik. Sementara itu, tanin dalam konsentrasi moderat dilaporkan dapat memproteksi protein pakan dari degradasi berlebih di rumen (Jayanegara *et al.*, 2020).

Analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap pencernaan bahan organik. Nilai pencernaan bahan organik menunjukkan peningkatan dari 53,99% pada (G0) menjadi 61,02% pada perlakuan G15, meskipun secara statistik perlakuan G5, G10, dan G15 tidak berbeda nyata satu sama lain (Tabel 4). Peningkatan ini secara teknis disebabkan oleh perubahan profil karbohidrat dalam ransum. Penggunaan *Gracilaria sp.* sebagai substitusi rumput alam (lapangan) efektif mereduksi fraksi lignoselulosa yang sulit terdegradasi, lalu menggantikannya dengan karbohidrat non-struktural yang mudah dicerna. Penurunan serat kasar ini mengurangi efek penghalang (*barrier*) lignin terhadap penetrasi enzim mikroba, sehingga mempercepat aksesibilitas mikroba rumen dalam mendegradasi isi sel pakan. Kecenderungan peningkatan pencernaan bahan organik juga

diduga berkaitan dengan kandungan protein kasar *Gracilaria sp.* yang relatif tinggi, sehingga menyediakan sumber nitrogen yang cukup bagi mikroorganisme rumen untuk sintesis protein mikroba.

Energi Tercerna (DE)

Energi tercerna (*digestible energy/DE*) merupakan indikator yang digunakan untuk menggambarkan sejauh mana energi dari bahan pakan dapat dicerna dan diserap oleh tubuh ternak setelah dikurangi energi yang hilang melalui feses. Rataan nilai energi tercerna pada penelitian ini berkisar antara 10,15 MJ/kg BK (G0) hingga 10,84 MJ/kg BK (G15). Meskipun secara numerik terjadi kecenderungan peningkatan nilai DE seiring dengan meningkatnya level penambahan *Gracilaria sp.* dalam ransum, analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan tersebut tidak nyata ($P>0,05$). Fenomena ini menunjukkan bahwa peningkatan kecernaan nutrisi tidak secara langsung diikuti oleh peningkatan energi yang tersedia. Hal ini disebabkan oleh karakteristik *Gracilaria sp.* yang memiliki kadar abu (mineral) sangat tinggi ($\pm 29,10\%$), sehingga peningkatan level inklusinya menyebabkan efek dilusi energi (*energy dilution*) yang membatasi densitas energi bruto pakan secara keseluruhan (Morais et al., 2020). Akibatnya, peningkatan efisiensi digestibilitas bahan organik terkompensasi oleh rendahnya kandungan energi murni per unit bahan kering pada rumput laut (Jayanegara et al., 2020).

Komposisi *Gracilaria sp.* memiliki nilai energi bruto (GE) yang lebih rendah ($\pm 13,98$ MJ/kg BK) dibandingkan dengan bahan konsentrat seperti jagung atau pollard (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kecernaan meningkat, kontribusi energi total dari *Gracilaria sp.* relatif terbatas. Dengan kata lain, peningkatan digestibilitas tidak cukup

untuk mengkompensasi rendahnya densitas energi bahan tersebut.

Selanjutnya, kandungan BETN (karbohidrat non-struktural) dalam *Gracilaria sp.* ($\pm 45,08\%$; Tabel 1) hampir sama dengan kandungan rumput lapangan ($45,94\%$; Tabel 1). Kesamaan proporsi ini secara langsung membatasi kemampuan *Gracilaria sp.* memberikan peningkatan energi tercerna yang lebih signifikan bagi ternak. Dalam sistem rumen, ketersediaan energi cepat dari BETN sangat penting untuk menjaga aktivitas fermentasi yang optimal, terutama ketika dikombinasikan dengan sumber nitrogen yang memadai (Zain et al., 2024).

Karbohidrat non-struktural pada *Gracilaria sp.* terdiri dari polisakarida spesifik dinding sel alga seperti agarosa dan agaropektin. Polisakarida sulfat dinding sel alga merah ini memiliki struktur kimiawi kompleks dan ikatan glikosidik spesifik yang secara fisik dan kimiawi terbukti lebih resisten terhadap degradasi cepat oleh enzim hidrolitik mikroba rumen jika dibandingkan dengan karbohidrat non-struktural dari pati sereal (Wang et al., 2025). Akibatnya, efisiensi konversi menjadi energi tercerna tidak melampaui nilai energi dari rumput lapangan, yang menjelaskan mengapa kontribusi energi tercerna tidak mengalami perbedaan nyata antardiet.

Selain itu, kandungan abu yang tinggi dalam *Gracilaria sp.* ($\pm 29,09\%$ pada Tabel 1), berperan sebagai faktor utama yang membatasi peningkatan DE. Abu merupakan komponen non-energetik yang tidak menghasilkan energi selama metabolisme. Dengan meningkatnya level *Gracilaria sp.*, proporsi abu dalam ransum meningkat, sehingga menyebabkan dilusi energi (*energy dilution effect*) (Morais et al., 2020). Hal ini menyebabkan penurunan densitas energi per unit bahan kering, meskipun kecernaan meningkat.

Selain faktor kandungan abu, tidak signifikannya perbedaan nilai DE juga dapat disebabkan oleh relatif seragamnya

komposisi nutrisi antarperlakuan, khususnya kandungan energi bruto (*gross energy*) dari ransum yang digunakan. Keseragaman kandungan energi bahan pakan menyebabkan nilai energi tercerna yang dihasilkan juga cenderung tidak berbeda nyata antarperlakuan. Dengan kata lain, meskipun terjadi peningkatan kecernaan beberapa komponen nutrisi, kontribusinya terhadap total energi yang tercerna belum cukup besar untuk menghasilkan perbedaan statistik yang signifikan.

Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian Reyes *et al.* (2025) yang melaporkan bahwa suplementasi rumput laut merah dalam ransum ruminansia tidak selalu menghasilkan peningkatan energi tercerna secara signifikan, terutama ketika bahan tersebut memiliki kandungan mineral yang tinggi. Oleh karena itu, pemanfaatan *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit lebih berpotensi memberikan pengaruh terhadap peningkatan kecernaan nutrisi dibandingkan dengan peningkatan nilai energi tercerna secara langsung.

Energi Termetabolis (ME)

Energi termetabolis (*metabolizable energy*/ME) merupakan parameter yang menggambarkan jumlah energi yang benar-benar tersedia bagi ternak untuk digunakan dalam proses metabolisme tubuh, seperti pemeliharaan (*maintenance*), produksi susu, pertumbuhan jaringan, dan deposisi daging. Dalam penelitian ini, nilai ME diestimasi menggunakan faktor konversi linier tetap ($0,82 \times \text{DE}$) yang direkomendasikan oleh NRC (1976). Mengingat ME dihitung secara fungsional dari nilai DE, pola perubahannya mengikuti pola DE (meningkat secara numerik tetapi tidak berbeda nyata secara statistik). Hal ini menunjukkan bahwa efisiensi konversi energi dalam sistem rumen tidak mengalami perubahan yang berarti akibat penambahan *Gracilaria sp.* Konsekuensinya, hasil ini tidak serta-merta membuktikan ada atau tidak adanya

perubahan biologis pada efisiensi konversi energi di dalam rumen secara metabolik, melainkan merupakan cerminan matematis langsung dari energi tercerna.

Secara fisiologis, nilai ME merupakan fungsi linear dari nilai DE setelah dikurangi kehilangan energi metabolik melalui pembuangan urin dan emisi gas fermentasi seperti metana (CH_4) (McDonald *et al.*, 2011). Tidak adanya perubahan nyata pada nilai ME mengindikasikan bahwa senyawa sekunder (tanin dan saponin) dalam *Gracilaria sp.* pada level ini belum memberikan efek tekanan yang cukup kuat untuk mengubah pola kehilangan energi fermentasi rumen secara signifikan (McGurrin *et al.*, 2023). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi menekan pembentukan metana sehingga secara biologis dapat mengalihkan energi menjadi lebih efisien bagi inang (De Bhowmick dan Hayes, 2023). Namun, pada *Gracilaria sp.*, efek fisiologis biologis ini masih memerlukan pembuktian lebih lanjut melalui studi *in vivo* karena tidak dapat disimpulkan dari perhitungan empiris linier ini.

Rataan nilai ME pada penelitian ini berkisar antara 8,32 MJ/kg BK (G0) hingga 8,89 MJ/kg BK (G15). Secara numerik, terlihat adanya kecenderungan peningkatan nilai ME seiring dengan meningkatnya level penambahan *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit. Namun demikian, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa peningkatan tersebut tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi *Gracilaria sp.* hingga level 15% dalam ransum belum memberikan pengaruh yang signifikan terhadap energi metabolis yang tersedia bagi ternak.

Tidak signifikannya nilai ME tersebut kemungkinan berkaitan dengan karakteristik nutrisi *Gracilaria sp.*, khususnya kandungan energi bruto (*gross energy*, GE) yang relatif rendah serta kadar abu yang relatif tinggi. Akibatnya, meskipun terjadi peningkatan kecernaan

bahan organik, kontribusi terhadap peningkatan energi metabolis menjadi terbatas karena sebagian fraksi bahan kering tersusun oleh komponen non-energi.

Selain itu, dalam sistem pencernaan ruminansia, sebagian energi dari bahan pakan juga hilang selama proses fermentasi rumen dalam bentuk gas metana dan panas fermentasi. Kehilangan energi ini

menyebabkan tidak seluruh energi tercerna dapat dikonversi menjadi energi metabolis. Menurut McDonald *et al.* (2011), sekitar 18-25% energi tercerna pada ruminansia dapat hilang melalui gas metana dan urin, sehingga peningkatan kecernaan nutrisi tidak selalu diikuti oleh peningkatan energi metabolis yang signifikan.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa penggunaan *Gracilaria sp.* pada level 5% hingga 15% dalam pakan komplit efektif meningkatkan kecernaan pakan secara *in vitro* tanpa menurunkan nilai energinya. Pemberian level 5% merupakan batas awal

untuk meningkatkan kecernaan bahan organik, sedangkan level 15% memberikan hasil kecernaan bahan kering yang paling optimal. Temuan ini menyarankan pentingnya pengujian lanjutan secara langsung (*in vivo*) pada ternak ruminansia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abani, N., Jelantik, G. N. I., dan Maranatha, G. 2018. Kecernaan *in vitro* pakan komplit yang mengandung level alga hijau (*Ulva lactuca*) yang berbeda sebagai pengganti rumput lapangan. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 5(2):79–91.
- Abarghuei, M. J., and Salem, A. Z. M. 2021. Sustainable Impact of Pulp and Leaves of *Glycyrrhiza glabra* to Enhance Ruminant Biofermentability, Protozoa Population, and Biogas Production in Sheep. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(25):33371-33381. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12968-w>
- Aji, B. P., Prayitno, C. H., and Munasik, M. 2019. The Effect of Red Seaweed (*Gracilaria sp.*) Supplementation in Beef Cattle Feed to digestibility of dry matter and organic matter with *in vitro* method. *ANGON: Journal of Animal Science and Technology*, 1(3):213-2018
- Aling, C., Tuturoong, R. A. V, Tulung, Y. L. R., dan Waani, M. R. 2020. Kecernaan serat kasar dan BETN (Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen) ransum komplit berbasis tebon jagung pada sapi peranakan ongole 40(2). <https://doi.org/10.35792/zot.40.2.2020.28366>
- Ani, A. S., Pujaningsih, R. I., dan Widiyanto, W. 2015. Perlindungan Protein Menggunakan Tanin dan Saponin Terhadap Daya Fermentasi Rumen dan Sintesis Protein Mikroba. *Jurnal Veteriner*, 16(3):439-447. <https://cabidigitallibrary.org>
- Antonius, A., Pazla, R., Putri, E. M., Negara, W., Laia, N., Ridla, M., Suharti, S., Jayanegara, A., Asmairicen, S., Marlina, L., and Marta, Y. 2023. Effectiveness of Herbal Plants on Rumen Fermentation, Methane Gas Emissions, *In vitro* Nutrient Digestibility, and Population of Protozoa. *Veterinary World*,

- 16(7):1477-1488. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.1477-1488>.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis* (14th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Azzahra, M., Hidayat, R., Tanuwiria, U. H., dan Rosani, U. 2025. Imbangan Rumput Gajah dan Konsentrat Mengandung Rumput Laut Terhadap pH, Konsentrasi NH₃ dan VFA Total Secara *In Vitro*. *Agrinimal Jurnal Ilmu Ternak Dan Tanaman*, 13(2):185–194. <https://doi.org/10.30598/ajitt.2025.13.2.185-194>
- De Bhowmick, G., and Hayes, M. 2023. Potential of Seaweeds to Mitigate Production of Greenhouse Gases during Production of Ruminant Proteins. *Global challenges (Hoboken, NJ)*, 7(5):2200145. <https://doi.org/10.1002/gch2.202200145>
- Febriyani, W., Erwanto., Muhtarudin., dan Liman. 2026. *Aspergillus niger* Pada Kulit Kopi Terhadap Vfa Total Dan Nh₃ Cairan Rumen Sapi Secara In Vitro. *Wahana Peternakan*, 10(1):128-136. <https://doi.org/10.37090/jwputb.v10i1.3348>
- Hvelpund, T., J. Andrieu, M. R. Weisbjerg, M. Vermorel. 1995. Prediction of the Energy and Protein Value of Forages for Ruminants. In: *Recent Developments in the Nutrition of Herbivores*, NRA Editions, Paris, 205-227.
- Insani, A. N., Hafiludin, H., dan Chandra, A. B. 2022. Pemanfaatan Ekstrak *Gracilaria sp.* dari Perairan Pamekasan sebagai Antioksidan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 3(1), 16–25. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v3i1.14783>
- Irmayanti, dan Ningtiyas D.W. 2022. Buletin Peternakan Tropis Komposisi Serat Ransum Komplit Berbasis Daun Kakao Kering Pada Lama Penyimpanan Yang Berbeda. *Buletin Peternakan Tropis*, 3(2):149–154. <https://doi.org/10.31186/bpt.3.2>
- Jayanegara, A., Yogiarto, Y., Wina, E., Sudarman, A., Kondo, M., Obitsu, T., and Kreuzer, M. 2020. Combination effects of plant extracts rich in Tannins and Saponins as feed additives for mitigating in vitro ruminal Methane and Ammonia formation. *Animals*, 10(9):1–14. <https://doi.org/10.3390/ani10091531>
- Jelantik, I. G. N. (2001). *Improving Bali Cattle (Bibos banteng Wagner) Production through Protein Supplementation (Including 6 Articles)*. Ph.D. Thesis. Department of Animal Science and Animal Health, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.”
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., Sinclair, L., dan Wilkinson, R. 2011. *Animal Nutrition* (7th ed.). Pearson Education Limited.
- McGurrin, A., M aguire, J., Tiwari, B. K., and Garcia-Vaquero, M. 2023. Anti-Methanogenic Potential of Seaweeds and Seaweed-Derived Compounds in Ruminant Feed: Current Perspectives, Risks and Future Prospects. *E-journal In Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00946-w>

- Moller, E., P. E. Andersen and N. Witt. 1989. A comparison of in vitro solubility and in vivo digestibility of organic matter in roughage. 13. Beretning fra Faellesudvaaget fra Satens Planteavlssog Husdyrbrugsforsog. 23pp.
- Morais, T., Inácio, A., Coutinho, T., Ministro, M., Cotas, J., Pereira, L., and Bahcevandziev, K. 2020. Seaweed potential in the animal feed: A review. In *Journal of Marine Science and Engineering* 8(8):559. <https://doi.org/10.3390/JMSE8080559>
- Nugroho, Adi., Prayitno, C. H., and Widiyastuti, T. 2019. Effect of Red Seaweed Flour (*Gracilaria sp*) Supplementation on Dry Matter and Organic Matter Digestibility of Sheep feed in Vitro. *ANGON: Journal of Animal Science and Techology*, 1(2): 122-128. <https://doi.org/10.20884/1.angon.2019.1.2.p122-128>
- Nuswantara, L. K., Pangestu, E., Sunarso, S., dan Christiyanto, M. 2021. Kecernaan, Fermentabilitas dan Produksi Protein Mikrobia Secara In Vitro pada Complete Feed Berbasis Pelepah Sawit Fermentasi. *Jurnal Agripet*, 21(2):192–199. <https://doi.org/10.17969/agripet.v21i2.20554>
- NRC. 1976. Nutrient Requirementst of Beef Cattle National. Academy of Science, Washington, DC.
- Putri, S. R., Hidayat, R., Hidayat, U., and Rosani, U. 2025. Ratio of Elephant Grass and Concentrate Containing Seaweed on Dry Matter, Organic Matter, and Crude Protein Digestibility (In Vitro). *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 13(3):761-774.
- Reyes, D. C., Sacramento, J. P., Quigley, C. T. C., Twining, B. S., Michaud, A. B., Emerson, D., and Brito, A. F. 2025. Feeding incremental amounts of the red seaweed *Chondrus crispus*: Effects on production performance, methane emissions, nutrient utilization, and ruminal and iodine metabolism in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 108(8):8428-8448.
- Suryani, Y. Y., Jasmanindar, Y., & Saloso, Y. (2022). Pertumbuhan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dan *Gracilaria sp.* pada Sistem Monokultur dan Polikultur di Tambak Desa Bipolo, Kupang Timur, Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Marikultur*, 4(2), 15–25.
- Thomsen, K.V. 1979. Estimation of digestibility of crude protein in feedstuffs for ruminants based on crude protein content. Beretning fra Statens Husdyrbrugsforsog, *National Institute of Animal Science*, Denmark.
- Tilley, J. M. A., and Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science*, 18(2):104–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>
- Torres, R. D. N. S., de Melo Coelho, L., Ghedini, C. P., Neto, O. R. M., Chardulo, L. A. L., Torrecilhas, J. A., and Almeida, M. T. C. 2023. Potential of nutritional strategies to reduce enteric methane emission in feedlot sheep: A meta-analysis and multivariate analysis. *Small Ruminant Research*, 220:106919.
- Wanapat, M., Prachumchai, R., Dagaew, G., Matra, M., Phupaboon, S., Sommai, S., & Suriyapha, C. (2024). Potential use of seaweed as a dietary supplement to mitigate enteric methane emission in

- ruminants. *Science of The Total Environment*, 931, 173015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173015>
- Wang, C., Long, J., Li, X., Zhou, X., Chen, L., Qiu, C., and Jin, Z. 2025. Preparation of agar polysaccharides and biological activities and relationships of agar-derived oligosaccharides and monosaccharides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 295:139552. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.139>
- Waters, S. M., Roskam, E., Smith, P. E., Kenny, D. A., Popova, M., Eugène, M., and Morgavi, D. P. 2025. International Symposium on Ruminant Physiology: The role of rumen microbiome in the *Aquatik*, 2(1), 55-62. <https://doi.org/10.35508/aquatik.v2i1.2522>
- Zain, M., Tanuwiria, U. H., Syamsu, J. A., Yunilas, Y., Pazla, R., Putri, E. M., Makmur, M., Amanah, U., Shafura, P. O., and Bagaskara, B. 2024. Nutrient digestibility, characteristics of rumen fermentation, and microbial protein synthesis from Pesisir cattle diet containing non-fiber carbohydrate to rumen degradable protein ratio and sulfur supplement. *Veterinary World*, 17(3):672–681. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.672-681>
- development of methane mitigation strategies for ruminant livestock. In *Journal of Dairy Science* 108(7):7591–7606). <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25778>
- Weisbjerg, M. R., Hvelplund, T., Frandsen, J., Frederiksen, J. H., and Aaes, O. 1991. Estimation of digestibility of crude fat in ruminants based on the crude fat content of feedstuffs. *Meddelelse. Statens Husdyrbrugsforsog (Denmark)*, (804)
- Wuhi, K. N., Linggi, Y., & Santoso, P. (2019). Pengaruh penambahan pakan alternatif dari bahan makroalga (*Gracilaria sp.* dan *Ulva lactuca*) dalam pelet terhadap pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal*