

# Ekskresi Derivat Purin dan Estimasi Suplai Protein Mikroba pada Ternak Domba yang Mendapat Suplemen Protein Berbeda

ASMUDDIN NATSIR

*Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin,  
Jl. Perintis Kemerdekaan, Km. 10  
Makassar-90245*

(Diterima dewan redaksi 12 Juni 2007)

## ABSTRACT

NATSIR, A. 2007. Purine derivatives excretion and estimation of microbial protein supply on sheep receiving different protein supplements. *JITV* 12(3): 183-188.

The urinary excretion of purine derivative (PD), which consists of allantoin, uric acid, xanthine and hypoxanthine, was used to estimate Microbial Nitrogen (MN) supply on sheep given oat hay as basal diet supplemented either with faba beans (faba) or barley fortified with urea (barley-urea). Three growing wethers, with average body weight of  $43 \pm 2.29$  kg, were randomly assigned to one of three experimental diets, i.e. oat hay without supplement (C), diet C + barley-urea (CB), and diet C + faba (CF), according to latin square design ( $3 \times 3$ ). Results of the experiment indicated that PD excretion for C was lower ( $P = 0.07$ ) than that of CB and CF (2.84 vs 6.08, 7.67 mmol/d). Absorbed PD and estimation of MN supply for C was less ( $P = 0.07$ ) than those of CB and CF, namely 1.26 vs 6.64, 8.80 mmol/d and 0.91 vs 4.8, 6.30 g N/d respectively. However, the efficiency of MN synthesis was similar, whether the calculation was based on digestible organic matter fermented in the rumen, DOMR (g MN/kg DOMR,  $P = 0.20$ ) or based on N intake (g MN/g N intake,  $P = 0.40$ ). In conclusion, supplementation of oat hay with different protein supplements may improve the estimation of microbial N supply in the growing sheep but both supplements gave similar results on the estimation of MN supply.

**Key Words:** Purine Derivative, Microbial Protein, Protein Supplement, Sheep

## ABSTRAK

NATSIR, A. 2007. Ekskresi derivat purin dan estimasi suplai protein mikroba pada ternak domba yang mendapat suplemen protein berbeda. *JITV* 12(3): 183-188.

Ekskresi derivat purin (DP) dalam urin yang terdiri dari allantoin, asam urat, xantin, dan hipoxantin, dapat digunakan untuk mengestimasi suplai Nitrogen Mikroba (NM) pada ternak domba yang mendapat ransum basal *hay oat* dengan suplemen bijian faba atau bijian *barley* yang telah diperkaya dengan urea (*barley-urea*). Tiga ekor ternak domba jantan kastrasi yang sedang tumbuh, dengan rata-rata bobot hidup  $43 \pm 2,29$  kg, secara acak diberi salah satu dari tiga jenis ransum perlakuan, yakni ransum basal hay oat tanpa suplemen (C), ransum C + *barley-urea* (CB), dan ransum C + faba (CF), percobaan dilakukan menurut rancangan bujur sangkar latin ( $3 \times 3$ ). Hasil percobaan memperlihatkan bahwa total ekskresi DP untuk perlakuan C lebih rendah ( $P = 0,07$ ) dibandingkan dengan perlakuan CB dan CF (2,84 vs 6,08 dan 7,67 mmol/hari). Analisis juga memperlihatkan bahwa DP yang diserap dan estimasi suplai NM untuk perlakuan C lebih kecil ( $P = 0,07$ ) dibandingkan dengan perlakuan CB dan CF, yakni masing-masing 1,26 vs 6,64; 8,80 mmol/hari untuk DP yang diserap dan 0,91 vs 4,8; 6,30 g/hari untuk estimasi suplai NM. Akan tetapi, perlakuan tidak berpengaruh ( $P > 0,05$ ) terhadap efisiensi sintesa NM, baik yang diestimasi berdasarkan pada bahan organik tercerna yang difermentasi dalam rumen, DOMR (g NM/kg DOMR) atau berdasarkan konsumsi N (g NM/g konsumsi N). Disimpulkan, bahwa suplementasi hay oat dengan sumber protein berbeda dapat meningkatkan estimasi suplai N mikroba rumen pada ternak domba yang sedang bertumbuh, tetapi kedua jenis protein suplemen tidak memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap estimasi suplai N mikroba.

**Kata Kunci:** Derivat Purin, Protein Mikroba, Suplemen Protein, Domba

## PENDAHULUAN

Penggunaan *oaten hay* (hay oat) sebagai pakan tunggal tidak dapat memenuhi kebutuhan ternak ruminansia utamanya untuk kebutuhan protein dan energi (DIXON dan STOCKDALE, 1999; NATSIR, 2004). Oleh karena itu pemberian substrat tambahan, terutama energi dan protein, sangat dibutuhkan untuk

meningkatkan daya cerna dan efisiensi pertumbuhan mikroba rumen (DIXON dan EGAN, 2000).

Amonia, baik yang bersumber dari protein/peptida/asam-asam amino ataupun dari non protein nitrogen (NPN) seperti urea, merupakan prekursor utama nitrogen untuk sintesis protein mikroba dan merupakan unsur yang esensial untuk pertumbuhan berbagai spesies bakteri rumen (NOLAN, 1975; AHARONI

*et al.*, 1991; DEWHURST *et al.*, 2000). Namun, berbagai penelitian masih memperlihatkan hasil yang kontradiktif dari kedua sumber N tersebut terhadap sintesis protein mikroba (MAENG dan BALDWIN, 1976; REDMAN *et al.*, 1980; SUSMEL *et al.*, 1994).

Oleh karena itu pengukuran sintesa protein mikroba rumen pada ternak yang mendapat suplemen protein berbeda perlu dilakukan. Pengukuran dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah dengan menggunakan pendekatan *non invasif* berdasarkan ekskresi derivat purin (DP) pada urin ternak ruminansia. Teknik ini didasarkan pada asumsi bahwa penyerapan protein mikroba dan asam nukleat berkorelasi. DP yang diekskresikan pada urine terutama berasal dari mikroba (CHEN dan GOMEZ, 1992). Disamping jumlah protein mikroba yang diserap dapat diestimasi dari ekskresi DP yang terdiri dari allantoin, asam urat, xantin dan hipoxantin.

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk membandingkan pengaruh pemberian dua jenis suplemen protein (faba vs *barley*-urea) terhadap ekskresi derivat purin, estimasi suplai protein mikroba dan efisiensi sintesa mikroba protein pada ternak domba jantan kastrasi yang mendapat ransum basal hay oat.

## MATERI DAN METODE

### Rancangan percobaan, pakan dan pemberian pakan

Tiga ekor domba jantan kastrasi yang sedang bertumbuh, bobot hidup rata-rata  $43 \pm 2,29$  kg, dipelihara dalam kandang metabolisme selama tiga periode. Setiap periode berlangsung selama 21 hari, 16 hari untuk pembiasaan terhadap pakan dan 5 hari untuk koleksi sampel. Pada setiap periode, ternak secara acak diberi satu dari tiga jenis perlakuan pakan, yakni oat tanpa suplemen (C), C + *barley*-urea (CB), dan C + faba (CF), berdasarkan rancangan bujur sangkar latin berulang  $3 \times 3$  (STEEL dan TORRIE, 1981). Jumlah pakan yang dialokasikan untuk masing-masing ternak adalah 850 g BK/hari berdasarkan rekomendasi AFRC (1993).

Hay oat (7,2 MJ ME/kg BK dan 5,44 g N/kg BK) diberikan pada ternak percobaan sebagai ransum basal, sementara faba (12,8 MJ ME/kg BK dan 52,8 gN/kg BK) atau *barley* (13,3 MJ/kg BK dan 2,1 gN/kg BK) yang diperkaya dengan urea digunakan sebagai pakan suplemen (COTTLE, 1991). Suplemen diformulasi sedemikian rupa sehingga mengandung N setara. Kandungan N *barley* disetarakan dengan kandungan N faba dengan jalan mencampurkan *barley* dengan larutan urea-sulfat (25 ml/250 g bijian). Larutan disiapkan setiap hari dengan cara melarutkan 525 g urea (46%N) dan 105 g amonium sulfat (21% N; 23,6% S) dalam 1 liter air hangat.

Hijauan dan suplemen diberikan secara terpisah dengan frekuensi pemberian satu kali sehari pada jam 9.00. Pakan sisa dikumpulkan dan ditimbang sebelum diganti dengan pakan yang baru. Jumlah hay diberikan 20% lebih banyak dari perkiraan tingkat konsumsinya sedangkan suplemen diberikan dengan level 250 g ekor<sup>-1</sup>hari<sup>-1</sup> (kering udara). Tidak ada tambahan vitamin dan mineral yang diberikan sementara air minum tersedia setiap saat.

### Koleksi sampel

Jumlah hay oat dan suplemen yang dikonsumsi dan yang sisa dicatat setiap hari. Contoh bahan pakan dan pakan, dikumpulkan dan disampel untuk keperluan analisis. Setiap hari selama periode koleksi, feses yang ditampung dalam kantong plastik yang telah diberi label ditimbang dan selanjutnya disimpan pada temperatur 5°C. Pada akhir masa koleksi, feses yang dikumpulkan selama 5 hari untuk masing-masing ternak dicampur secara homogen, subsampel dikeringkan (100°C) selama 24 jam untuk mengetahui kandungan BK (bahan kering). Subsampel lainnya (sekitar 10%) disimpan dalam *freezer* untuk keperluan analisis kimia.

Total urine yang ditampung setiap hari dicatat volumenya dan diencerkan 5x dengan aquades lalu ditambahkan beberapa tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk menurunkan pH hingga sekitar 3. Urine yang telah diencerkan disampel sekitar 10% dan disimpan dalam *freezer* untuk analisis derivat purin (DP).

### Analisis kimia

Sampel pakan (hay oat, *barley* dan faba) dianalisis untuk kandungan BK, abu, dan total N (AOAC, 1990). Feses dikeringkan dalam oven pada suhu 55°C selama 48 jam lalu dianalisis kandungan BK dan abu. Untuk keperluan ini, semua sampel digiling dengan gilingan yang mempunyai saringan berukuran 1 mm.

Sampel urine dianalisis untuk kandungan DP (allantoin, asam urat, xantin dan hipoxantin). Allantoin diukur dengan menggunakan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) dengan *pre-column derivatization* seperti dijelaskan oleh CHEN *et al.* (1993). Asam urat, xantin dan hipoxantin ditentukan dengan menggunakan RA/XT Autoanalyzer (Technicon Ltd., Swords Co., Dublin, Ireland) dengan kit komersil berdasarkan metode CHEN dan GOMES (1992).

### Perhitungan dan data analisis

Bahan kering (BK) atau bahan organik (BO) tercerna dihitung berdasarkan formula:

$$A = \frac{B - C}{B} \times 100\%$$

A = Daya cerna BK atau BO

B = Konsumsi BK atau BO

C = BK atau BO feses

Bahan organik tercerna yang difermentasi dalam rumen (DOMR) dihitung berdasarkan formula yang direkomendasikan oleh ARC (1984):  $DOMR = 0,65 \times$  konsumsi bahan organik tercerna.

Jumlah DP mikroba yang diserap (X, mmol/hari) berkaitan dengan ekskresi DP pada urin (Y, mmol/hari) dihitung berdasarkan persamaan:  $Y = 0,84X + (0,150W^{0,75}e^{-0,25X})$  (CHEN dan GOMES, 1992), dimana  $W^{0,75}$  adalah bobot hidup metabolis.

Estimasi suplai Nitrogen Mikroorganisme dalam g/hari dihitung menurut rumus yang direkomendasikan oleh CHEN dan GOMES (1992):

$$NM_{DP} = \frac{70 X}{0,116 \times 0,83 \times 1000} = 0,727 X$$

Semua data dianalisis dengan analisis ragam berdasarkan rancangan bujur sangkar latin menggunakan prosedur GLM dari paket program MINITAB for Windows rel.13.1 (MINITAB Inc., 2000). Perbedaan antar perlakuan diuji lanjut dengan uji Tukey.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Tingkat konsumsi dan daya cerna ransum

Konsumsi bahan kering dan bahan organik antar perlakuan tidak berbeda nyata. Tetapi konsumsi N lebih tinggi ( $P < 0,01$ ) pada kelompok ternak yang mendapat suplemen dibandingkan dengan ternak kontrol. Daya cerna bahan kering (BK) dan bahan organik (BO) lebih tinggi ( $P = 0,08$ ) pada kelompok suplemen dari pada

kontrol. Lebih jauh, DOMR ternak yang mendapat suplemen tidak berbeda ( $P = 0,10$ ) dengan DOMR ternak kontrol (Tabel 1).

Secara umum, ternak dapat menghabiskan seluruh suplemen yang diberikan setiap hari. Namun demikian total konsumsi yang dicapai masih dibawah level yang direkomendasikan oleh AFRC (1993), yakni hanya mencapai 54%, 82%, dan 64% untuk perlakuan C, CB, dan CF secara berurutan. Rendahnya tingkat konsumsi ini kemungkinan berkaitan dengan rendahnya tingkat kecernaan dan kandungan energi metabolis dari ransum basal hay oat. Pemberian suplemen mengakibatkan penurunan tingkat konsumsi ransum basal masing-masing 4,12 dan 32,63% pada ternak yang mendapat suplemen *barley*-urea dan faba. Namun demikian suplementasi *barley* maupun faba mampu meningkatkan konsumsi bahan kering dengan kisaran 10 sampai 28%. Hal ini disebabkan efek substitusi dari pemberian suplemen pada ransum basal.

### Ekskresi derivat purin dan estimasi suplai protein mikroba

Walaupun tidak terdapat perbedaan konsentrasi alantoin ( $P = 0,20$ ) dan asam urat ( $P = 0,10$ ) yang diekskresikan di dalam urin, total ekskresi DP lebih rendah ( $P = 0,07$ ) pada ternak kontrol dibandingkan dengan ternak yang mendapat suplemen faba atau *barley*-urea (2,84 mmol/hari vs 6,08; 7,67 mmol/hari) (Tabel 2). Lebih lanjut, estimasi purin yang diserap lebih rendah ( $P = 0,07$ ) pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok suplemen (1,26 mmol/hari vs 6,64; 8,80 mmol/hari). Begitu pula estimasi suplai NM lebih rendah ( $P = 0,07$ ) pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok suplemen (0,91 g/hari vs 4,80; 6,30 g/hari). Akan tetapi

Table 1. Tingkat konsumsi dan daya cerna ransum masing-masing perlakuan

| Pengukuran           | Perlakuan |       |       | sem  | Perbedaan ( $P < $ ) |
|----------------------|-----------|-------|-------|------|----------------------|
|                      | C         | CB    | CF    |      |                      |
| Konsumsi BK (g/hari) | 544,5     | 824,7 | 644,4 | 82,8 | 0,26                 |
| Konsumsi BO (g/hari) | 515,7     | 788,1 | 614,7 | 80,3 | 0,25                 |
| Konsumsi N (g/hari)  | 3,15      | 14,38 | 11,61 | 1,74 | 0,01                 |
| Daya cerna BK (%)    | 59,46     | 68,00 | 73,85 | 2,48 | 0,08                 |
| Daya Cerna BO (%)    | 61,24     | 70,07 | 75,17 | 2,41 | 0,07                 |
| DOMR                 | 205,3     | 358,9 | 300,3 | 37,1 | 0,10                 |

Sem = Standar error dari rata-rata, BK = bahan kering, BO= bahan organik

DOMR = Bahan organik tercerna yang dapat difermentasi dalam rumen, dihitung berdasarkan rumus =  $0,65 \times$  konsumsi bahan organik tercerna (ARC, 1984)

Table 2. Rataan output urine, konsentrasi derivat purin, estimasi suplai N mikroba, dan estimasi efisiensi sintesa N mikroba rumen

| Pengukuran                                 | Perlakuan |       |       |      | Perbedaan(P<) |
|--------------------------------------------|-----------|-------|-------|------|---------------|
|                                            | C         | CB    | CF    | sem  |               |
| Ekskresi urine                             |           |       |       |      |               |
| Urine output (g/hari)                      | 320       | 684   | 892   | 126  | 0,20          |
| Alantoin (mmol/hari)                       | 2,22      | 4,65  | 5,72  | 0,65 | 0,10          |
| Asam urat (mmol/hari) <sup>a</sup>         | 0,61      | 1,43  | 1,95  | 0,27 | 0,20          |
| Total DP (mmol/hari) <sup>b</sup>          | 2,84      | 6,08  | 7,67  | 0,76 | 0,07          |
| Estimasi suplai purin dan N mikroba        |           |       |       |      |               |
| Purine diserap (mmol/hari) <sup>c</sup>    | 1,26      | 6,64  | 8,80  | 1,19 | 0,07          |
| N (g/hari) <sup>d</sup>                    | 0,91      | 4,80  | 6,30  | 0,86 | 0,07          |
| Estimasi efisiensi sintesa N mikroba rumen |           |       |       |      |               |
| N Mikroba (g/kg DOMR)                      | 3,90      | 13,80 | 24,30 | 3,49 | 0,20          |
| N Mikroba (g/kg N intake)                  | 0,24      | 0,33  | 0,55  | 0,06 | 0,40          |

Sem = Standar error dari rata-rata

<sup>a</sup>Merupakan jumlah dari asam urat, xantin, dan hipoxantin

<sup>b</sup>Merupakan jumlah dari alantoin, asam urat, xantin, dan hipoxantin

<sup>c</sup> $Y = 0,84X + (0,150W^{0,75}e^{-0,25X})$  (CHEN dan GOMES, 1992)

<sup>d</sup>N Mikroba (g N/hari) =  $0,727 * X$  (dimana X = total DP yang diserap)

<sup>e</sup>DOMR =  $0,65 \times$  konsumsi bahan organik tercerna (ARC, 1984)

tidak terdapat perbedaan dalam efisiensi sintesis NM, baik berdasarkan pada DOMR maupun berdasarkan konsumsi N.

Tingkat efisiensi sintesis NM secara statistik tidak berbeda nyata, namun secara numerik, efisiensi sintesis NM untuk perlakuan CB dan CF, masing-masing 2,5 kali dan 5,2 kali lebih tinggi daripada efisiensi sintesis non pada perlakuan C jika dihitung berdasarkan DOMR, serta 37,5 dan 129% lebih tinggi daripada perlakuan C jika diestimasi berdasarkan konsumsi N.

Rataan estimasi efisiensi sintesa protein mikroba (g NM/kg DOMR) untuk kelompok ternak yang mendapat ransum CF adalah 24,3 g NM/kg DOMR. Nilai ini berada dalam kisaran nilai 14 sampai 49 g NM/kg DOMR (ARC, 1984), sementara nilai untuk CB dan C masing-masing 13,8 dan 3,9 g NM/kg DOMR, berada di bawah kisaran tersebut. Secara umum, variasi yang luas dalam hal estimasi sintesa mikroba protein telah dilaporkan pada berbagai studi (SMITH, 1975; ARC, 1984; CHEN dan GOMES, 1992; JETANA *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2002; NATSIR, 2004). Banyak hal yang berpengaruh terhadap besarnya variasi angka estimasi tersebut, diantaranya disebabkan perbedaan metode estimasi yang digunakan (DEWHURST, *et al.*, 2000).

Efisiensi sintesa protein mikroba pada ternak yang mendapat suplemen faba menunjukkan adanya kecenderungan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan ternak yang memperoleh suplemen *barley-urea* dan kontrol. Namun demikian secara statistik tidak berbeda. Telah diketahui bahwa peptida dan asam amino merupakan substrat yang esensial untuk sintetik protein mikroba rumen. Hasil percobaan secara *in vitro* memperlihatkan tingkat pertumbuhan mikroba pada media yang mengandung urea dan asam amino dua kali lebih tinggi daripada mikroba yang ditumbuhkan pada media yang hanya mengandung urea (MAENG dan BALDWIN, 1976).

Hasil percobaan secara *in vivo* memperlihatkan tidak terdapat keuntungan dari pemberian pakan mengandung protein, peptida, dan asam-asam amino terhadap hasil sintesis protein mikroba dalam rumen dibandingkan dengan urea (REDMAN *et al.*, 1980). SUSMEL *et al.* (1994) melaporkan bahwa tidak ada keuntungan berarti dari pemberian tepung kedelai sebagai sumber N dibandingkan dengan urea terhadap biomassa mikroba yang memasuki duodenum.

Salah satu faktor yang menyebabkan kegagalan (secara statistik) dalam mendeteksi perbedaan efisiensi

sintesa protein mikroba rumen antar perlakuan disebabkan oleh karena tingginya keragaman data percobaan yang diakibatkan oleh rendahnya jumlah ulangan. Review yang dilakukan oleh TITGEMEYER (1997) menyimpulkan bahwa secara rata-rata, diperlukan 12 ekor ternak setiap kelompok perlakuan untuk dapat mendeteksi perbedaan 10% dari sintesa protein mikroba, sementara dalam percobaan ini setiap perlakuan hanya diwakili oleh tiga ulangan.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Suplementasi ransum basal hay oat dengan faba atau barley yang diperkaya dengan urea pada ternak domba jantan kastrasi, mampu meningkatkan ekskresi derivat purin dalam urine dan estimasi suplai N mikroba. Akan tetapi efisiensi sintesis N mikroba antar perlakuan tidak berbeda nyata, baik yang dihitung berdasarkan DOMR ataupun berdasarkan konsumsi N. Untuk mendapatkan data yang lebih baik dengan tingkat kepercayaan yang lebih tinggi dalam estimasi sintesis mikroba maka sebaiknya jumlah ulangan setiap perlakuan diperbanyak.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Pemerintah Australia atas beasiswa ADS yang diberikan pada penulis untuk mengikuti Program Pascasarjana di Melbourne University, Melbourne, Australia. Penghargaan yang tinggi juga disampaikan kepada Mr. Andre Thalen, *Animal House Manager*, dan Ms. Fahi Nowniaz, *Animal Production Laboratory Manager, Institute of Land and Food Resources, Melbourne University*, atas bantuan teknis yang tak ternilai selama pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- AFRC. 1993. Energy and Protein Requirements of Ruminants. CAB international, Wallingford, UK.
- AHARONI, Y., H. TAGARI and R.C. BOSTON. 1991. A new approach to the quantitative estimation of nitrogen metabolic pathways in the rumen. *Br. J. Nutr.* 66: 407-422.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed. Washington, DC., USA.
- ARC. 1984. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Supplement No.1. Report of the Protein Group of the ARC Working Party, Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, UK.
- CHEN, X.B. and M.J. GOMES. 1992. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives: An Overview of Technical Details. Occasional Publication. International Feed Resources Unit. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK. 21pp.
- CHEN, X.B., D.J. KYLE and E.R. ØRSKOV. 1993. Measurement of allantoin in urine and plasma by high performance liquid chromatography with pre-column derivatization. *J. Chromatography* 617: 241-247.
- COTTLE, D.J. 1991. Australia Sheep and Wool Handbook. Inkata Press, Melbourne.
- DEWHURST, R.J., D.R. DAVIES and R.J. MERRY. 2000. Microbial protein supply from the rumen. A review article. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85: 1-21.
- DIXON, R.M. and A.R. EGAN. 2000. Response of lambs fed low quality roughage to supplements based on urea, cereal grain, or protein meals. *Aust. J. Agric. Res.*, 51: 811-821.
- DIXON, R.M. and C.R. STOCKDALE. 1999. Associative effects between forages and grains: Consequences for feed utilisation. *Aust. J. Agric. Res.*, 50: 757-773.
- JETANA, T., R.A. HALIM, S. JALALUDDIN and Y.W. HO. 2000. Effect of energy and protein supplementation on microbial N synthesis and allantoin excretion in sheep fed guinea grass. *Anim. Feed Sci. Technol.* 84: 167-181.
- MAENG, W.J. and W.L. BALDWIN. 1976. Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: Effect of amino acid additions to a purified diet with nitrogen from urea. *J. Dairy Sci.*, 59: 648-655.
- MINITAB. 2000. Minitab Statistical Software for Windows Rel. 13.1. Minitab Inc.
- NATSIR, A. 2004. Efficient Utilization of Fibre in the Diets of Ruminants. Ph.D. Thesis, the University of Melbourne, Melbourne, Australia.
- NOLAN, J.V. 1975. Quantitative models of nitrogen metabolism in sheep. Digestion and Metabolism in the Ruminant. In: I.W. McDONALD and A.C.I. WARNER (ed.). The University of New England Publishing Unit, Armidale, NSW., Australia. pp. 416-431.
- REDMAN, R.G., R.C. KELLAWAY and J. LEIBHOLZ. 1980. Utilization of low quality roughages: Effect of urea and protein supplements of differing solubility on digesta flows, intake and growth rate of cattle eating oaten chaff. *Br. J. Nutr.* 44: 343-354.
- SMITH, R.H. 1975. Nitrogen metabolism in the rumen and the composition of nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum. Digestion and Metabolism in the Ruminant. In I.W. McDONALD and A.C.I. WARNER (ed.) University of New England, Armidale, NSW., Australia. pp. 399-415.

- STEEL, R.G.D. and J.H. TORRIE. 1981. Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. 2nd Ed. McGraw-Hill Book Co. Inc. New York.
- SUSMEL, P., B. STEFANON, E. PLAZZOTTA, M. SPANGHERO and C.R. MILLS. 1994. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 123: 257-265.
- TITGEMEYER, E.C. 1997. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *J. Anim. Sci.*, 75: 2235-2247.
- YU, P., A.R. EGAN, L. BOONEK and B.J. LEURY. 2002. Purine derivatives excretion and ruminal microbial yield in growing lambs fed raw and dry roasted legume seeds as protein supplements. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95: 33-48.