

Perlindungan Protein Menggunakan Tanin dan Saponin Terhadap Daya Fermentasi Rumen dan Sintesis Protein Mikrob

(*PROTECTION OF PROTEIN USING TANNINS AND SAPONINS OF RUMEN DIGESTIBILITY AND MICROBES SYNTHESIS PROTEIN*)

Ana Shofi Ani, Retno Iswarin Pujaningsih, Widiyanto

Jurusan Peternakan, Laboratorium Teknologi Pakan,
Fakultas Perternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro
Jalan Kampus drh. R. Soejono Kusumowardojo, Gedung B, Lantai 1,
Tembalang, Semarang, 50275. Tlp (024) 7474750. Hp:085293388613,
e-mail:anashofianipurnama@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh perlindungan protein menggunakan tanin dan saponin untuk memperbaiki daya fermentasi rumen dan sintesis protein mikrob secara *in vitro*. Cairan rumen sebagai inokulum diambil dari komposit dua ekor sapi peranakan ongole (PO) betina dewasa berfistularumen dengan bobot badan ± 300 kg, umur lima tahun. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap, enam perlakuan dan setiap perlakuan ada tiga ulangan. Perlakuan yang diteliti yaitu T0: Protein konsentrat tanpa proteksi, T1: Protein konsentrat terproteksi saponin 1,2%, T2: Protein konsentrat terproteksi tanin 0,5% dan saponin 0,9%, T3: Protein konsentrat terproteksi tanin 1,0% dan saponin 0,6%, T4: Protein konsentrat terproteksi tanin 1,5% dan saponin 0,3%, dan T5: Protein konsentrat terproteksi tanin 2,0%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan tanin, saponin, dan kombinasinya berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap parameter amonia (NH_3), *volatile fatty acid* (VFA) total, dan protein total. Konsentrasi NH_3 menurun, sedangkan konsentrasi VFA total dan protein total meningkat seiring penambahan perlakuan tanin, saponin dan kombinasinya. Perlindungan protein menggunakan tanin, saponin dan kombinasinya memberikan pengaruh terbaik pada protein pakan dengan perlakuan perlindungan tanin 1,0% dan saponin 0,6% terhadap konsentrasi NH_3 , VFA total, dan protein total. Hal ini menunjukkan perlindungan protein pakan pada level tersebut dapat memperbaiki daya fermentasi rumen dan sintesis protein mikrob, seperti ditunjukkan oleh konsentrasi NH_3 , VFA total, dan protein total yang dihasilkan.

Kata-kata kunci: perlindungan, tanin, saponin, daya fermentasi rumen, sintesis protein mikrob

ABSTRACT

The objective of this experiment was to examine protection of protein using tannins and saponins to improve rumen digestibility and microb-mediated protein synthesis *in vitro*. Rumen fluids used as inoculum was collected from a composite of two female adult fistulated ongole cattle weighed of ± 300 kg with the age of five years old. The experimental design used in this study was a completely randomized design with six treatments and three replication of each treatment. The six treatments consisted of T0: Protein concentrates without protection, T1: protein concentrates protected with 1.2% saponin, T2: protein concentrates protected with 0.5% tannin and 0.9% saponin, T3: protein concentrates protected with 1.0% tannin and 0.6% saponin, T4: protein concentrates protected with 1.5% tannin and 0.3% saponin and T5: protein concentrates protected with 2.0% tannins. The result showed that treatment with tannin, saponin and their combination had a significantly affect ($P < 0,05$) on the level of ammonia (NH_3), the total volatile fatty acids (VFA), and total protein. Protection of proteins with combination of 1,0% tannin and 0,6% saponin resulted in best effect on feed protein as shown by its NH_3 concentration, total VFA and total protein. This indicates the level of protection of feed protein can improve rumen digestibility and microb-mediated protein synthesis, as showed in the concentration of N-NH_3 , total VFA and total protein.

Keywords: protection, tannins, saponins, rumen digestibility, microbes protein synthesis.

PENDAHULUAN

Sumber protein ternak ruminansia dapat berasal dari protein mikrob dan protein pakan yang lolos degradasi dalam rumen (Ørskov, 1992). Ternak dengan tingkat produksi tinggi, kebutuhan proteinnnya tidak cukup hanya dari protein mikrob, tetapi membutuhkan protein pakan bermutu yang tahan degradasi rumen (Saricicek, 2000). Protein pakan berkualitas tinggi terlebih dahulu akan mengalami degradasi di dalam lambung depan (rumen, retikulum, dan omasum) oleh mikroorganisme rumen. Degradasi pakan melibatkan enzim proteolitik yang dihasilkan oleh mikrob rumen. Proses tersebut menghasilkan asam amino dan peptida sebagai produk antara, serta amonia (NH_3) sebagai produk akhir (Tammaing, 1979).

Protein kasar adalah komponen pakan potensial yang dapat dimanipulasi untuk meningkatkan aliran asam amino ke usus halus (Clark *et al.*, 1992). Sintesis nitrogen (N) mikrob akan mencapai puncak bila pakan sapi mengandung sekitar 11-13% protein kasar (PK). Kisaran ini tidak baku tetapi akan bervariasi menurut kandungan energi terfermentasi pakan, jumlah non protein-nitrogen (NPN) pakan, tingkat degradasi protein pakan, efisiensi pertumbuhan mikrob rumen, dan input N saliva ke dalam rumen (Satter *et al.*, 1977).

Upaya untuk mendapatkan manfaat optimal dari kualitas protein, dapat dilakukan dengan memanipulasi rumen agar protein berkualitas tinggi dapat mengalami *bypass*, dicerna pascarumen dan dimanfaatkan induk semang. Dewasa ini, tanin dan saponin merupakan senyawa alami yang paling banyak diteliti sebagai agen manipulasi rumen. Senyawa ini dapat bermanfaat atau merugikan untuk ternak ruminansia sesuai dengan struktur dan konsentrasinya (Suharti *et al.*, 2010).

Tanin merupakan senyawa antinutrisi yang berperan menurunkan kualitas bahan dengan cara membentuk ikatan kompleks dengan protein. Kompleks tanin-protein terjadi karena adanya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan kovalen antara senyawa tersebut. Keberadaan sejumlah gugus fungsional pada tanin menyebabkan terjadinya pengendapan protein. Senyawa kompleks antara tanin dengan protein tidak larut di dalam rumen, akan tetapi

pada suasana asam di dalam abomasum, kompleks tersebut mengalami pencernaan enzimatis sehingga protein dapat dimanfaatkan oleh ternak (Makkar, 2003).

Saponin merupakan detergen alami yang bermanfaat sebagai agen defaunasi protozoa (Wina *et al.*, 2005). Defaunasi dapat meningkatkan aliran protein ke organ pencernaan dibelakang rumen sebesar 18% (Merchen dan Titgemeyer, 1992). Penurunan jumlah protozoa yang bersilia akan meningkatkan aliran protein mikrob dari rumen, meningkatkan efisiensi penggunaan pakan, dan mengurangi metanogenesis (Suharti *et al.*, 2010).

Aditif alami yang digunakan sebagai sumber tanin adalah gambir (*Uncaria gambier*) dan sebagai sumber saponin adalah buah lerak (*Sapindus rarak*). Gambir mengandung tanin yang dapat digunakan sebagai bahan aditif alami. Gambir mengandung 43,15% tanin terkondensasi (Kardel *et al.*, 2013). Penggunaan tanin terkondensasi sebanyak 2-3% di dalam ransum dapat memberikan pengaruh yang menguntungkan (Kumar, 1992).

Lerak memiliki sifat pembusa dalam air, dan secara tradisional digunakan sebagai sabun alami. Saponin yang terdapat di dalam buah lerak dapat dimanfaatkan sebagai aditif alami untuk memanipulasi fermentasi rumen (Wina *et al.*, 2006). Saponin mampu membunuh atau melisis protozoa dengan membentuk ikatan kompleks dengan sterol yang terdapat pada permukaan membran protozoa. Menurunnya populasi protozoa menyebabkan berkurangnya predasi bakteri yang lisis. Pemberian saponin dari ekstrak lerak dapat meningkatkan produksi propionat dan menekan konsentrasi gas metan pada pengujian secara *in vitro* (Wallace *et al.*, 2002). Penggunaan saponin sebanyak 0,4 mg/mL secara *in vitro* dapat menurunkan populasi protozoa sebesar 51% serta meningkatkan propionat sebesar 11% (Guo *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh perlindungan protein menggunakan tanin dan defaunasi menggunakan saponin terhadap konsentrasi NH_3 , VFA total, dan protein total. Perlindungan protein konsentrat menggunakan tanin dan saponin dengan aras berbeda dapat memperbaiki daya fermentasi rumen dan sintesis protein mikrob secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Materi yang digunakan adalah ransum percobaan seperti disajikan pada Tabel 1. Tanin bersumber dari gambir (*U. gambier*) dan saponin dari buah lerak (*S. rarak*). Inokulum cairan rumen diambil dari komposit dua ekor sapi peranakan ongole (PO) betina dewasa berfistula rumen, dengan bobot badan ±300 kg berumur lima tahun. Dalam penelitian ini digunakan larutan HCl pepsin dan saliva buatan (Larutan McDougall). Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah tabung fermentor, *cawan conway*, pipet, penangas air, gelas Beaker, *sentrifuge*, termos air, pH meter, dan termometer.

Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan enam perlakuan dan setiap perlakuan ada tiga ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah T0 : Protein konsentrat tanpa proteksi; T1 : Protein konsentrat terproteksi saponin 1,2%; T2 : Protein konsentrat terproteksi tanin 0,5% dan saponin 0,9%; T3 : Protein konsentrat terproteksi tanin 1,0% dan saponin 0,6%; T4 : Protein konsentrat terproteksi tanin 1,5% dan saponin 0,3%; T5 : Protein konsentrat terproteksi tanin 2,0%.

Ekstraksi dan Isolasi Tanin

Proses penelitian diawali dengan ekstraksi dan isolasi aditif alami dari gambir (sumber tanin) dan buah lerak (sumber saponin). Ekstraksi tanin, tanin diekstrak dari sediaan gambir yang sudah digiling halus, kemudian disaring menggunakan saringan berdiameter 1 mm. Sejumlah serbuk gambir yang telah dikeringkan dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan kedalam *soxhlet*. Penghilangan lemak dilakukan dengan menggunakan pelarut heksan. Sampel yang telah mengalami ekstraksi heksan selama tiga jam, selanjutnya dikeluarkan dari *soxhlet* dan dikeringudarkan untuk menghilangkan sisa pelarut.

Tahap selanjutnya adalah prepurifikasi menggunakan pelarut air dengan perbandingan (1:5, w/v). Serbuk gambir yang telah diekstraksi dengan heksan dan telah dikeringkan kemudian ditimbang, serbuk gambir yang telah ditimbang dimasukkan kedalam gelas Beaker dan ditambahkan air sesuai dengan perbandingan, setelah itu dipanaskan pada penangas air dengan suhu 80°C selama 30 menit. Sampel yang

telah mengalami proses ekstraksi disaring dengan menggunakan kertas saring, cairan hasil saringan didinginkan sampai mengendap. Endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam sampai menjadi serbuk kembali. Isolasi tanin serbuk gambir yang telah diprepurifikasi dilakukan menggunakan etil asetat 60% dengan perbandingan (1:5, w/v) dengan menggunakan alat *soxhlet*, ekstraksi dihentikan setelah larutan menjadi jernih. Filtrat ditampung kemudian dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Serbuk ekstrak gambir dianalisis kadar tanin secara kuantitatif menggunakan metode Association of Official Analytical Chemists (AOAC).

Ekstraksi dan Isolasi Saponin

Ekstraksi dan isolasi saponin buah lerak, dilakukan dengan rangkaian prosedur sebagai berikut. Pertama-tama daging buah dipisahkan dari biji, daging buah dikeringkan dalam oven

Tabel 1. Komposisi dan kandungan nutrisi pakan perlakuan

Bahan Pakan	%
Bungkil Sawit	5
Jagung Kuning	40
Onggok	4
Dedak	9
Kulit Kopi	5,5
Bungkil Kelapa	32,5
Garam	0,15
Tetes	3
Urea	0,85
Jumlah	100
Kandungan Nutrien Ransum (% BK)	
BK	86,56
Abu	3,42
BO	96,58
PK	14,95
SK	24,15
LK	2,08
BETN	41,96
TDN*	64,67

Keterangan : BK = Bahan Kering, BO = Bahan Organik, PK= Protein Kasar, LK = Lemak Kasar, SK = Serat Kasar, BETN = Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen, TDN = *Total Digestible Nutrient*

Sumber * Hasil Perhitungan Berdasarkan Sutardi, 2001

dengan suhu 60°C sampai kadar bahan kering mencapai 90%. Buah lerak yang telah kering selanjutnya digiling halus dan diayak dengan saringan berdiameter 1 mm. Serbuk buah lerak yang telah dikeringkan dan digiling kemudian dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan kedalam *soxhlet*, selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut heksan dengan alat *soxhlet* selama tiga jam untuk mengurangi kandungan lemak. Serbuk buah lerak yang sudah dikurangi lemaknya dan masih terbungkus kertas saring dikeluarkan dari *soxhlet*, selanjutnya dikeringudarkan untuk menghilangkan sisa pelarut dan selanjutnya diisolasi. Isolasi saponin dilakukan menggunakan etanol 90% (1:5, w/v). Larutan hasil isolasi dipisahkan antara saponin dan etanol menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan dalam oven suhu 60°C sampai menjadi padat. Padatan hasil isolasi selanjutnya dianalisis kadar saponin kuantitatif menggunakan metode Hiai.

Proteksi Protein Pakan

Proteksi pakan perlakuan, dilakukan dengan menggiling sampel pakan konsentrat dan diayak dengan saringan berdiameter 2 mm agar diperoleh ukuran partikel diatas 46 µm. Perlindungan protein pakan dilakukan dengan cara mencampurkan tanin dan saponin dengan konsentrat sesuai level perlakuan penelitian. Untuk mempermudah pencampuran tanin dan saponin dengan konsentrat, maka tanin dan saponin terlebih dahulu dilarutkan dengan air dengan konsentrasi larutan 1% kemudian disemprotkan dengan menggunakan *sprayer* ke pakan sampai merata.

Pengukuran Daya Fermentasi dan Sintesis Protein

Untuk mengukur variabel daya fermentasi rumen dan sintesis protein mikrob dibagi menjadi dua tahap, yaitu tahap pendahuluan dan tahap pelaksanaan penelitian secara *in vitro*. Tahap pendahuluan berlangsung selama 15 hari (Nuswantara *et al.*, 2005). Ternak diberikan konsentrat standar, sedangkan hijauan berupa rumput raja, denganimbangan bahan kering (BK) hijauan dan konsentrat sebesar 60:40, pakan yang diberikan disesuaikan dengan kebutuhan BK, yang dihitung 3% dari masing-masing bobot badan sapi. Pakan diberikan dua kali dalam sehari pada pagi dan sore hari. Rumput yang diberikan pada ternak berupa cacahan. Konsentrat diberikan sebelum

pemberian rumput sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Cairan rumen sebagai inokulum diambil dari dua ekor sapi PO betina dewasa berfistularumen dengan bobot badan ±300 kg berumur lima tahun, setelah sapi melewati masa pendahuluan dengan adaptasi pakan standar untuk dilakukan pengujian secara *in vitro*. Pengambilan cairan rumen dilakukan dua jam setelah pemberian pakan. Cairan rumen disaring dengan menggunakan dua lapis kain mori bersih. Cairan rumen hasil penyaringan dimasukkan kedalam termos yang sebelumnya sudah diisi penuh dengan air hangat bersuhu 60°C dan airnya dibuang sesaat sebelum cairan rumen hasil penyaringan dimasukkan ke dalam termos. Termos diisi cairan rumen sampai penuh, untuk menciptakan kondisi anaerob. Cairan rumen digunakan untuk penelitian *in vitro*.

Parameter Penelitian

Variabel penelitian yang diukur meliputi: 1) Konsentrasi NH₃. Teknik pengukuran terhadap konsentrasi NH₃ menggunakan metode *microdifusi conway* (General Laboratory Procedures, 1966); 2) Konsentrasi VFA total. Pengukuran terhadap konsentrasi VFA total menggunakan metode *steam destillation* (GLP, 1966); 3) Protein total. Pengukuran protein total dilakukan terhadap sampel hasil fermentasi anaerob selama tiga jam. Hasil fermentasi tersebut diaduk kemudian diambil sebanyak 10 mL kemudian ditambah dengan 20 mL campuran *Trichloroacetic acid* (TCA) 20% dan *Sulfosalicylic acid* (SSA) 2%, setelah disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, endapan yang didapat selanjutnya dianalisis menggunakan metode *Kjeldahl*. Pengukuran protein total menggunakan metode Shultz dan Shultz (1969).

Analisis Data

Modellinier rancangan acak lengkap yang menjelaskan setiap nilai pengamatan yaitu:

$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \alpha_{ij}$, dalam hal ini Y_{ij} = nilai pengamatan yang diperoleh dari satuan percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j; μ = rata-rata nilai tengah; τ_i = pengaruh dari perlakuan ke-i; α_{ij} = pengaruh galat percobaan perlakuan ke-i pada ulangan ke-j. Pengaruh perlakuan pada penelitian diuji dengan analisis sidik ragam, apabila terdapat pengaruh perlakuan yang nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Konsentrasi NH₃

Pengaruh perlakuan pada konsentrasi NH₃ disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi NH₃ pada T1, T2, T3, T4, dan T5 lebih rendah (P<0,05) dibandingkan T0. Dengan demikian, perlindungan protein dengan tanin, saponin dan kombinasinya mampu memengaruhi kondisi mikrob. Perlakuan perlindungan protein menggunakan tanin level 2% memiliki ikatan paling kuat, yang dapat dilihat dari konsentrasi NH₃ yang dihasilkan. Kisaran konsentrasi NH₃ penelitian adalah 2,93-8,43 mM. Produksi amonia yang kurang dari 3,57 mM menunjukkan bahwa protein pakan sulit dirombak oleh mikrob rumen (Satter dan Slytter, 1974). Dijelaskan lebih lanjut oleh Sutardi *et al.*, (1979) bahwa guna menunjang pertumbuhan mikrob yang optimum, dibutuhkan kadar amonia 4-12 mM.

Konsentrasi amonia menurun seiring dengan meningkatnya level perlindungan protein menggunakan tanin. Hal tersebut disebabkan karena terbentuknya ikatan kompleks tanin dengan protein, sehingga terjadi pengendapan protein. Dalam kondisi terendap menyebabkan protein membentuk senyawa kompleks yang tidak larut. Hal tersebut digambarkan dengan menurunnya konsentrasi amonia yang dihasilkan. Ikatan antara tanin-

protein normalnya merupakan ikatan antara gugus phenol tanin dengan keto tanin yang merupakan interaksi *hidrofobik* antara cincin aromatik struktur protein dan tanin. Interaksi dengan protein terlihat dari lingkaran cincin yang terbentuk. Semakin lebar cincin yang terbentuk, maka kemampuan tanin untuk berinteraksi dengan protein juga semakin besar (Makkar *et al.*, 2007). Rendahnya konsentrasi amonia pada T5 dengan masa inkubasi 5-24 jam menggambar-barkan amonia tidak cukup mendukung aktivitas pertumbuhan mikrob. Penurunan konsentrasi amonia merupakan bukti penurunan kemampuan memecah protein dalam rumen sehingga meningkatkan pasokan protein ke dalam intestinum, yang pada akhirnya meningkatkan pasokan asam amino kepada ternak inang.

Pertumbuhan mikrob rumen membutuhkan amonia sebagai sumber nitrogen disamping asam amino sebagai sumber kerangka karbon dan juga energi. Produk amonia tersebut dimanfaatkan kembali oleh mikrob rumen bergantung pada ketersediaan amonia di dalam rumen. Mikrob rumen akan memanfaatkan kembali amonia yang terbentuk untuk membangun sel tubuhnya. Selain amonia, peptida dan asam amino juga digunakan dalam sintesis protein mikrob. Protein konsentrat yang memiliki kelarutan protein dalam rumen yang lebih tinggi, memiliki ketersediaan peptida dan asam amino juga lebih

Tabel 2. Konsentrasi ammonia (NH₃) cairan rumen dan rata-rata selama 24 jam pada perlakuan penelitian

Lama Inkubasi (Jam)	Perlakuan					
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
	mM					
0	8,16 ^a	7,24 ^b	6,54 ^c	6,10 ^c	5,3 ^d	4,87 ^d
1	8,43 ^a	8,16 ^{ab}	7,83 ^{ab}	7,00 ^{bc}	6,60 ^c	6,41 ^c
2	6,40 ^a	6,34 ^a	5,59 ^b	5,13 ^c	4,69 ^d	4,23 ^e
3	5,68 ^a	5,66 ^a	5,19 ^b	4,82 ^b	4,42 ^c	3,90 ^d
4	4,60 ^a	4,55 ^{ab}	4,49 ^{ab}	4,40 ^b	4,13 ^c	3,72 ^d
5	4,53 ^a	4,40 ^a	4,36 ^a	4,23 ^a	4,20 ^a	3,54 ^b
6	4,11 ^a	4,10 ^a	3,99 ^a	3,81 ^a	3,79 ^a	3,21 ^b
24	4,40 ^a	3,85 ^a	3,76 ^a	3,61 ^a	3,50 ^a	2,93 ^b

Keterangan : T0= protein konsentrat tanpa proteksi; T1= protein konsentrat terproteksi saponin 1,2%; T2= protein konsentrat terproteksi tanin 0,5% dan saponin 0,9%; T3= protein konsentrat terproteksi tanin 1% dan saponin 0,6%; T4= protein konsentrat terproteksi tanin 1,5% dan saponin 0,3%; T5= protein konsentrat terproteksi tanin 2%. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap konsentrasi *volatile fatty acid* (VFA) total dan proteintotal

Parameter	Perlakuan					
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
VFA Total (mM)	85,00 ^d	120,00 ^a	98,33 ^c	90,00 ^d	86,67 ^d	110,00 ^b
Protein Total (mg/g)	114,7 ^e	124,76 ^d	143,7 ^b	189,18 ^a	140,57 ^{bc}	133,76 ^c

Keterangan : T0= protein konsentrat tanpa proteksi; T1= protein konsentrat terproteksi saponin 1,2%; T2= protein konsentrat terproteksi tanin 0,5% dan saponin 0,9%; T3= protein konsentrat terproteksi tanin 1% dan saponin 0,6%; T4= protein konsentrat terproteksi tanin 1,5% dan saponin 0,3%; T5= protein konsentrat terproteksi tanin 2%. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

tinggi. Kondisi tersebut dapat dimanfaatkan oleh mikrob rumen yang memiliki sistem transpor asam amino dan peptida dalam tubuhnya. Russel *et al.*, (1992) menyatakan bahwa bakteri yang memfermentasi karbohidrat non struktural, lebih banyak menggunakan nitrogen yang berasal dari peptida dan asam amino, yakni sebesar 66% dan berasal dari amonia sebesar 34%.

Pengaruh Perlakuan terhadap VFA Total

Energi dalam bentuk ATP berasal dari fermentasi karbohidrat secara anaerob dan fermentasi protein yang menghasilkan VFA, berfungsi sebagai pengendali dan memasukkan NPN ke dalam sel mikrob rumen (Ørskov, 1992). Rataan hasil penelitian terhadap produksi VFA total disajikan pada Tabel 3. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlindungan protein menggunakan tanin, saponin, dan kombinasinya memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap konsentrasi VFA total. Uji lanjut Duncan menunjukkan konsentrasi VFA total meningkat dengan perlakuan perlindungan protein menggunakan tanin, saponin dan kombinasinya. Pada Tabel 3. disajikan perlakuan bahwa T0 menghasilkan VFA total lebih rendah dari perlakuan lain, sedangkan perlakuan T1 menghasilkan konsentrasi VFA total tertinggi, perlakuan T5 lebih rendah dari T1, sedangkan T2, T3 dan T4 lebih rendah dari T1 dan T5.

Hasil penelitian menunjukkan perlakuan T1 menghasilkan konsentrasi VFA total tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini karena pengaruh proteksi protein menggunakan saponin pada aras 1,2% sebagai agen perlindungan protein mampu meningkatkan

aktivitas mikrob, sehingga berpengaruh pula terhadap peningkatan fermentasi berupa VFA total sebesar 120 mM. Protein konsentrat yang diberikan perlakuan perlindungan tanin dan saponin menghasilkan konsentrasi VFA total yang sesuai dengan kebutuhan mikrob rumen. Kisaran konsentrasi VFA total penelitian adalah 85-120 mM dan nilai ini masih berada pada kisaran normal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikrob rumen yang optimal, yaitu 80-160 mM (McDonald *et al.*, 2002). Oleh karena itu, konsentrasi VFA total pada perlakuan penelitian masih mampu menyediakan energi dan kerangka karbon untuk sintesis mikrob rumen.

Tingginya konsentrasi VFA total pada T1 didukung pula dengan nilai amonia (Tabel 2.) dan protein total (Tabel 3.). Rendahnya sintesis protein mikrob pada T1 digambarkan dengan tingginya konsentrasi amonia karena tidak digunakan untuk sintesis protein mikrob. Konsentrasi VFA total terjadi penurunan seiring dengan aras tanin yang ditambahkan pada perlakuan T2-T5. Tanin mampu membentuk kompleks dengan protein sehingga menurunkan nilai *rumen degradable protein* (RDP), yang berpengaruh pada menurunnya konsentrasi VFA total, disebabkan menurunnya proteolisis dan kurangnya deaminasi oksidatif dari protein pakan. Hal tersebut didukung data protein total dan amonia pada T2-T4. Perlakuan T2 dan T3 amonia yang dihasilkan masih cukup untuk perkembangan bakteri, akan tetapi *branched chainfatty acids* (BCFA) tidak cukup sehingga produksi VFA total yang dihasilkan menurun, tetapi daya fermentasi masih lebih baik dari T4 dan T5. *Branched chainfatty acids* yang terdiri atas asam isobutirat, dua metil butirat dan asam

valerat merupakan sumber kerangka karbon bagi bakteri, dan senyawa tersebut merupakan hasil dekarboksilasi dan deaminasi dari asam amino rantai cabang (Nurhaita *et al.*, 2010).

Perlakuan T5 terjadi kenaikan kembali produksi VFA total, hal ini karena nilai RDP dan amonia yang dihasilkan menurun sehingga berakibat pada menurunnya sintesis protein mikrob, yang digambarkan dengan menurunnya nilai protein total pada T5 (menggambarkan sintesis protein mikrob rumen terhambat). Penggunaan kerangka karbon untuk sintesis mikrob menurun, kerangka karbon yang tidak digunakan akan digunakan untuk produksi VFA sehingga produksi VFA total pada T5 meningkat. Degradasi protein disamping memproduksi amonia berperan pula dalam memproduksi VFA. Protein pakan baik yang berupa protein murni maupun nitrogen bukan protein (NBP) mengalami proteolisis oleh mikrob di dalam rumen. Protein dirombak menjadi oligopeptida dan asam amino yang kemudian terdeaminasi menjadi asam alfa keto, VFA, CO₂, dan NH₃. Amonia bersama dengan VFA digunakan untuk sintesis protein mikrob guna mendukung pertumbuhan dan peningkatan populasi mikrob rumen (Dijkstra, 1994).

Pengaruh Perlakuan terhadap Protein Total

Parameter protein total mencerminkan besarnya sumbangan protein pascarumen (*bypass* protein). Protein total ini merupakan protein pakan yang lolos dari degradasi mikrob rumen yang tercampur dengan protein mikrob. Protein mikrob disintesis dari amonia sebagai sumber N dan asam áketo sebagai kerangka karbon (Ørskov, 1992).

Respons perlindungan protein menggunakan tanin, saponin, dan kombinasinya terhadap protein total tersaji pada Tabel 3. Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap konsentrasi protein total. Uji lanjut Duncan menunjukkan konsentrasi protein total yang mendapat perlakuan T3 nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dari pada kelima perlakuan lain. Pada Tabel 3. disajikan bahwa perlakuan T0 menghasilkan konsentrasi protein total lebih rendah dari padaperlakuan lain. Konsentrasi protein total tertinggi terdapat pada perlakuan T3, perlakuan T2 lebih rendah dari T3, sedangkan perlakuan T1, T4, dan T5 lebih rendah dari T2 dan T3.

Fermentabilitas T1 efektif dalam menyediakan VFA, diduga juga menyediakan kerangka karbon, sumber energi serta mampu mendukung ketersediaan amoniasebagai sumber N untuk sintesis protein mikrob rumen yang optimal. Perlakuan T1 adalah dominan saponin yaitu aras 1,2%, perlakuan saponin pada T1 tidak mengakibatkan perlindungan, hal tersebut tercermin dari tingginya konsentrasi amonia dan VFA total pada perlakuan T1. Tingginya VFA total T1 memberikan pengaruh pula terhadap ketersediaan energi yang tinggi. Diperkirakan asam á keto T1 lebih besar dari pada T0, sehingga sintesis protein mikrob T1 lebih besar dari T0. Hal tersebut tercermin dari konsentrasi protein total T1 lebih besar dari T0. Menurut Suhartati (2005) saponin berperan sebagai agen defaunasi yang menyebabkan bakteri aman dari gangguan protozoa, sehingga bakteri mampu tumbuh dengan baik dan dapat meningkatkan sintesis mikrob rumen.

Konsentrasi protein total meningkat pada perlakuan T2-T5, hal tersebut karena terdapat pengaruh tanin sebagai bahan perlindungan protein yang terdapat pada perlakuan T2-T5. Konsentrasi protein total pada T2 lebih tinggi dari pada T1, terjadi kompleks tanin-saponin dalam rumen, sehingga protein menjadi lebih resisten dan tidak dapat dihidrolisis oleh mikrob rumen. Perlakuan T3 mencapai nilai tertinggi karena adanya kombinasi perlakuan *bypass* dan defaunasi, sehingga menghasilkan akumulasi protein yang tinggi akibat adanya *resultance* antara dua aditif yaitu tanin dan saponin. Pada perlakuan T3 digambarkan tingginya pasokan protein tidak terdegradasi, yang akhirnya meningkatkan produksi protein total pada saluran pencernaan pascarumen (*bypass*). Perlakuan T3 didukung pula dengan data amoniadan VFA yang menggambarkan ketersediaan N dan ketersediaan energi yang masih mencukupi untuk produksi protein total yang optimal. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Chanjula *et al.*, (2004) bahwa untuk dapat meningkatkan produksi mikrob rumen diperlukan sinkronisasi antara ketersediaan N dan energi.

Perlakuan T4 dan T5 mengakibatkan terjadinya penurunan konsentrasi protein total. Sintesis protein mikrob pada T4 lebih rendah dari pada T3 sehingga protein total yang dihasilkan juga menurun. Hal tersebut didukung data VFA T4 yang menurun. Perlakuan perlindungan protein menggunakan tanin aras 2% pada T5 mengakibatkan sintesis

protein mikrob menurun dan nilai *bypass* protein tinggi. Sintesis protein mikrob T5 rendah didukung dengan nilai protein total lebih tinggi, hal tersebut didukung pula dengan data VFA T5 lebih tinggi dari pada T2 dan T3.

SIMPULAN

Perlindungan protein menggunakan senyawa aditif tanin maupun saponin bermanfaat untuk memperlambat pelepasan amonia dan memacu biosintesis mikrob rumen. Pada perlakuan perlindungan protein menggunakan tanin 1,0% dan saponin 0,6% mampu memberikan efek terbaik pada parameter daya fermentasi rumen untuk pertumbuhan mikrob rumen dan menghasilkan protein total yang paling optimal.

SARAN

Pada penelitian ini penggunaan senyawa aditif tanin sebesar 1,0% dan saponin sebesar 0,6% sebagai agen perlindungan protein menghasilkan pengaruh optimal untuk parameter NH_3 dan protein total, serta menghasilkan VFA yang mencukupi untuk perkembangan mikrob rumen, sehingga terbuka peluang untuk dilaksanakan penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruhnya terhadap produktivitas ternak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tulisan ini merupakan bagian dari Tesis Program Pascasarjana Magister Ilmu Ternak, Universitas Diponegoro, yang dibiayai oleh Kementerian Pendidikan Nasional Direktorat Jenderal Tinggi melalui program Beasiswa Unggulan tahun anggaran 2012-2014. Untuk itu terimakasih disampaikan kepada Direktur Jenderal Dikti Kemdikbud.

DAFTAR PUSTAKA

- Chanjula P, Wanapat M, Wachirapakorn C, Rowlinson P. 2004. Effect of synchronizing starch sources and protein (NPN) in the rumen on feed intake, rumen microbial fermentation, nutrient utilization and performance of lactating dairy cows. *Asian Aust J Anim Sci* 17: 1400-1410.
- Clark JH, Klusmeyer TH, Cameron MR. 1992. Microbial protein synthesis and flow of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. Symposium: Nitrogen metabolism and amino acid nutrition in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 75: 2304-2323.
- Dijkstra J. 1994. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Prod Sci* 39: 61-69.
- [GLP] General Laboratory Procedure. 1966. *Report of Dairy Science*. University of Wisconsin, Madison.
- Guo Y, Liu QJX, Lu Y, Zhu WY, Denman SE, Sweeney, CSMC. 2008. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen microorganisms. *Let Appl Microbiol* 47: 421-426.
- Kardel M, Taube F, Schulz H, Schutze W, Gierus M. 2013. Different approaches to evaluate tannin content and structure of selected plant extracts-review and new aspect. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86: 154-166.
- Kumar R. 1992. *Anti-Nutritional Factors, The Potential Risk of Toxicity and Methods to Alleviate them*. In: legume Trees and Other Fodder Trees as Protein Sources for Livestock. Speedy A, Pugliese PL, Editor. Rome. Food and Agriculture Organization of the United Nation.
- Makkar HPS. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaption to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49: 241-256.
- Makkar HPS, Francis G, Becker K. 2007. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal* 1: 1371-1391.
- McDonald P, Edward RA, Greenhagh JFD, Morgan CA. 2002. *Animal Nutrition*. Edisi ke enam. Gosport: Ashford Colour Pr.
- Merchen NR, Titgemeyer EC. 1992. Manipulation of amino acids supply to the growing ruminant. *J Anim Sci* 70: 3238-3247.

- Nurhaita, Jamarun N, Warly L, Zain M. 2010. Kecernaan ransum domba berbasis daun sawit teramoniasi yang disuplementasi sulfur, fosfor dan daun ubi kayu. *Media Peternakan* 33(3): 144-149.
- Nuswantara LK., Soejono M, Utomo R, Widyobroto BP. 2005. Kecernaan nutrisi ransum prekursor nitrogen dan energi tinggi pada sapi perah yang diberikan pakan basal jerami padi. *J Indon Trop Anim Agric* 3: 172-178.
- Ørskov ER. 1992. *Protein Nutrition in Ruminants*. Second Edition. London. Academic Press. P 175.
- Russel JB, Connor JDO, Fox DG, Vansoet PJ, Sniffem CJ. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *J Anim Sci* 70: 3551-3561.
- Sariccek B. 2000. Protected (bypass) protein and feed value of hazelnut kernel oil meal. *Asian-Aus J Anim Sci* 13(3): 317-322
- Satter L D, Slyter LL. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *BrJ Nutr* 32: 199-208.
- Satter L D, Whitlow LW, Beardsley GL. 1977. Resistance of Protein to Rumen Degradation and its Significance to the Dairy Cow. *Proc Distillers feed Res Council* 32:23.
- Shultz TA, Shultz E. 1969. Estimation of rumen microbial nitrogen by three analytical methods. *J Dairy Sci* 53: 781-784.
- Steel RGD, Torrie JH. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. (Terjemahan dari: Principles and Procedures of Statistics). Cetakan ke-4. Sumantri B, penerjemah. Jakarta. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Suhartati FM. 2005. Proteksi protein daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) menggunakan tanin, saponin, minyak dan pengaruhnya terhadap *ruminant undegradable dietary protein* (RUDP) dan sintesis protein mikroba rumen. *Animal Production* 7(1): 52-58.
- Suharti S, Kurniawan A, Astuti DA, Wina E. 2010. Microbial population and fermentation characteristic in response to *sapindus rarak* mineral block supplementation. *Media Peternakan* 33(3): 150-154.
- Sutardi T. 1979. Ketahanan protein bahan makanan terhadap degradasi oleh mikroba rumen dan manfaatnya bagi peningkatan produktivitas ternak. *Buletin Makanan Ternak* 5: 1.
- Tamminga S. 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *J Anim Sci* 49: 1615-1630.
- Wallace RJ, McEwan NR, Yanke LJ, Cheeke PR. 2000. Effect of steroidal saponin from yucca schidigera extract on ruminal microbes. *J Appl Microbiol* 88: 887-896.
- Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh FM, Teferedegne B, Newbold CJ. 2002. Natural product as manipulators of rumen fermentation. *J Anim Sci* 15: 1458-1468.
- Wina E, Muetzel S, Becker K. 2005. The Impact of Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Production-Areview: *J Agric Food Chem* 53: 1-13.
- Wina E, Muetzel S, Becker K. 2006. Effect of daily and interval feeding of *sapindus rarak* saponins on protozoa, rumen fermentation parameters and digestibility in Sheep. *J Anim Sci* 19: 1580-1587.