

DEGRADASI PROTEIN RANSUM BASAL YANG DI SUPLEMENTASI UNDEGRADED DIETARY PROTEIN DAN RUMEN DEGRADABEL PROTEIN SECARA *IN VITRO*

Efka Aris Rimbawanto* dan Bambang Hartoyo

Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

* Korespondensi email: efka.rimbawanto@unsoed.ac.id

Abstrak. Imbangan suplemen protein dari bungkil kedelai terproteksi tanin kondensasi (TK) daun kaliandra sebagai sumber undegraded dietary protein (UDP) dan urea-zeolit sebagai sumber rumen degradable protein (RDP) dalam ransum basal. Imbangan UDP/RDP adalah 0/0, 1/1, 1/2, 1/3, 2/1, dan 3/1 % ransum basal. Pengaruh degradasi bahan kering (BK) dan protein kasar (PK) dalam inkubasi cairan rumen dilanjutkan inkubasi cairan rumen dan pepsin-HCl dilakukan secara *in vitro* dua tahap. Degradasi BK dan PK dalam rumen dan pepsin-HCl dipengaruhi oleh jumlah UDP dalam ransum basal. Degradasi BK dan PK terendah di rumen ($P < 0,01$) dan tertinggi di pepsin-HCl ($P < 0,01$) pada imbangan UDP/RDP yaitu 2/1 dan 3/1 % ransum basal. Suplementasi UDP/RDP tidak mengganggu sintesis protein mikroba. Disimpulkan suplementasi UDP perlu diimbangi dengan RDP lepas lambat dalam mengoptimalkan ketersediaan protein di paska rumen tanpa mengganggu aktivitas mikroba rumen.

Kata kunci: degradasi, bahan kering, amonia, mikroba rumen

Abstract. The balance of protein supplements from soybean meal protected by condensation tannin (CT) of calliandra leaves as a source of undegraded dietary protein (UDP) and urea-zeolite as a source of rumen degradable protein (RDP) were added to basal ration. The UDP/RDP ratio of 0/0, 1/1, 1/2, 1/3, 2/1, and 3/1 % of the basal ration. Effect on dry matter (DM) and crude protein (CP) degradation in rumen fluid and rumen fluid followed by incubation in HCl-pepsin were evaluated using two-step *in vitro* method. Degradation of DM and CP in the rumen and pepsin-HCl was influenced by the amount of UDP in the basal ration. There was a of DM and CP degradation was lowest in the rumen ($P < 0.01$) and highest in HCl-pepsin ($P < 0.01$) in the UDP/ RDP ratio 2/1 and 3/1% of the basal ration. Supplementation of UDP/RDP did not interfere with microbial synthesis. It was concluded that UDP supplementation needed to be balanced with slow-release RDP in optimizing post-rumen protein availability without disturbing rumen microbial activity.

Keywords: degradation, dry matter, ammonia, ruminal microbial

PENDAHULUAN

Ruminansia pada kondisi fisiologis tertentu membutuhkan suplai protein tinggi asal pakan yang tidak terdegradasi di dalam rumen. Umumnya menggunakan bungkil kedelai karena mempunyai kestabilan asam amino yang tinggi (Castro dkk., 2007). Bungkil kedelai termasuk sumber protein yang mudah terdegradasi di dalam rumen dengan variasi 60 – 80% (Maxin *et al.*, 2013; Busanello *et al.*, 2016). Agar tidak mudah terdegradasi di dalam rumen dapat diproteksi dengan tanin kondensasi (TK) daun kaliandra yang mempunyai kemampuan mengikat protein *bovine serum albumin* (BSA) 31,77 g BSA/g TK (Rimbawanto *et al.*, 2015). Hambatan proteksi dengan tanin kondensasi dalam jumlah rendah maupun tinggi dalam pakan sebagai sumber UDP menurunkan konsentrasi amonia secara *in vitro* (Rimbawanto dkk., 2017), maupun sintesis protein mikroba secara *in sacco* (Castro-Montoya *et al.*, 2017) dan degradasi serat dalam rumen (Dentinhoa *et al.*, 2014). Sintesis protein mikroba rumen tidak hanya dipengaruhi oleh ketersediaan amonia tetapi juga dikontrol mekanisme

energi dalam sel mikroba terutama fosforilasi substrat dan transport elektron maupun fermentasi glukosa.

Pemberian non protein nitrogen (NPN) sebagai sumber RDP terutama urea dapat menyediakan amonia, namun urea cepat terhidrolisis oleh urease yang diproduksi mikroba rumen menjadi amonia. Kecepatan hidrolisis urea antara 30 – 120 menit (Rimbawanto *et al.*, 2018), degradasi karbohidrat dan pertumbuhan mikroba lebih lambat dibanding hidrolisis urea sehingga urea tidak efisien digunakan oleh mikroba rumen. Penghambatan kecepatan hidrolisis urea dapat dilakukan dengan zeolit, sehingga hidrolisis urea lebih lambat di rumen. Sinkronisasi urea lepas lambat dengan degradasi karbohidrat akan meningkatkan efisiensi penggunaan NPN menjadi protein mikroba rumen. Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektifitas pengikatan urea-zeolit dalam pakan ternak ruminansia yang mengandung bungkil kedelai terproteksi tanin kondensasi, apakah benar-benar pelepasan amonia yang lebih lambat dalam rumen, yang dapat mendukung sinkronisasi antara N dan energi yang tersedia untuk sintesis mikroba.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek suplementasi UDP dan RDP pada imbalanced berbeda berdasarkan degradasi bahan kering dan protein kasar di rumen, parameter cairan rumen (pH dan N-NH₃), dan protein mikroba secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Evaluasi suplementasi berbagai imbalanced UDP/RDP dalam pakan basal berupa silase rumput gajah dan konsentrat dengan perbandingan 30:70% yang telah digiling lolos pada saringan 1 mm. Bahan pakan dan komposisi kimia penyusun ransum basal tertera di Tabel 1. Bungkil kedelai proteksi tanin kondensasi daun kaliandra digunakan sebagai sumber UDP dan urea-zeolit digunakan sebagai sumber RDP.

Proteksi dilakukan dengan cara disemprot untuk setiap 100 g PK bungkil kedelai dengan tanin kondensasi daun kaliandra sebanyak 14,87 g. Pertukaran kation urea dengan zeolit dilakukan di dalam labu dengan cara mengaduk 100 g zeolit dalam 500 ml larutan urea 100% selama 60 menit dengan *magnetic stirrer*. Endapan zeolit yang diperoleh dikeringkan pada suhu ruang. Bungkil kedelai terproteksi dan urea-zeolit masing digiling lolos pada saringan 1 mm untuk suplemen ransum basal dalam uji *in vitro*.

Tabel 1. Kandungan bahan kering (BK), bahan organik (BO), total digestible nutrient (TDN), protein kasar (PK), serat kasar (SK), lemak kasar (LK), kalsium (Ca), dan phosphor (P) bahan penyusun ransum percobaan

Item	Komposisi Kimia (% BK)							
	BK	BO	TDN	PK	SK	LK	Ca	P
Silase rumput gajah	35,17	85,03	67,69	6,98	23,43	8,50	0,90	0,50
Konsentrat	89,73	77,61	65,44	12,90	22,91	4,25	0,12	0,51
Urea-zeolit				32,86			2,23	
Bungkil kedelai proteksi tanin	89,20	81,35	83,2	44,02	5,23	2,23	0,38	0,72

Cairan rumen dari 3 ekor domba yang baru dipotong diperoleh dari RPH setempat ditampung dalam labu kedap udara. Cairan rumen disaring melalui 4 lapis kain katun dalam labu, ditambah larutan buffer McDougall dengan rasio 1 : 4 (v/v) dan suhu dipertahankan $39 \pm 1,0$ °C. Sumber inokulum dialiri gas CO₂ agar kondisinya tetap *anaerob*.

Percobaan *in vitro* pertama, dilakukan untuk mengetahui hidrolisis urea-zeolit dan bungkil kedelai proteksi dalam cairan rumen domba dilakukan mengikuti prosedur Tilley and Terry (1963) tahap pertama. Inkubasi anaerobik dilakukan pada 0, 2, 4, 6, 12, 18, 24, 36, 48 dengan ulangan 5 kali. Setiap waktu inkubasi dianalisis konsentrasi amonia cairan rumen. Percobaan *in vitro* kedua, untuk menguji degradasi BK dan PK ransum basal yang disuplementasi UDP dan RDP (Tabel 2), pengukuran amonia cairan rumen dan protein mikroba dilakukan pada tahap pertama dan dilanjutkan ke tahap kedua untuk mengetahui protein yang larut dalam pepsin. Inkubasi dilakukan selama 96 jam secara *in vitro* dua tahap prosedur Tilley and Terry (1963) dan setiap percobaan diulang 5 kali. Tabung gelas dalam percobaan *in vitro* terdiri dari dua set, satu set tabung untuk tahap pertama diinkubasi *anaerob* dalam *shaker water batch* selama 48 jam kemudian ditambahkan 1 ml merkuri klorida (50 mg/ml), untuk mengetahui degradasi BK, PK, konsentrasi amonia dan protein mikroba. Satu set tabung kedua setelah inkubasi *anaerob* 48 jam dilanjutkan pada tahap kedua ditambahkan 6 ml HCl 20% (v/v) dan 2 ml pepsin 5% (w/v, 10 FIP-U/mg) dan diinkubasi *aerob* dalam *shaker water batch* selama 48 jam untuk mengetahui degradasi protein dalam pepsin-HCl.

Tabel 2. Komposisi kimia ransum perlakuan

Item	Ransum Perlakuan					
	R0	R1	R2	R3	R4	R5
Bahan kering, %	73,36	75,23	76,13	77,02	76,21	77,19
Bahan organik, %	79,84	80,65	81,46	82,28	80,65	80,65
Total digestible nutrien, %	66,12	66,95	67,78	68,61	66,95	66,95
Protein kasar, %	11,12	11,89	12,33	12,77	12,22	12,55
Serat kasar, %	23,07	23,12	23,17	23,22	23,12	23,12
Lemak kasar, %	5,53	5,55	5,57	5,59	5,55	5,55
Calcium, %	0,35	0,38	0,38	0,39	0,40	0,42
Phosphor, %	0,51	0,51	0,52	0,53	0,51	0,51

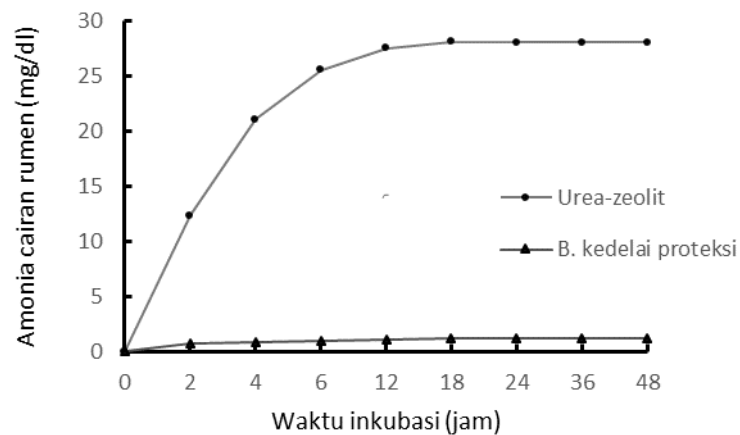
Keterangan : R0 = ransum basal/kontrol + suplemen UDP 0% dan RDP 0%, R1 = ransum basal + suplemen UDP 1% dan RDP 1%, R2 = ransum basal + suplemen UDP 1% dan RDP 2%, R3 = ransum basal + suplemen UDP 1% dan RDP 3%, R4 = ransum basal + suplemen UDP 2% dan RDP 1%, R5 = ransum basal + suplemen UDP 3% dan RDP 1%.

Degradasi BK dihitung berdasarkan selisih antara BK awal dengan BK residu pada tahap pertama, protein kasar BK residu dan BK residu yang terlarut dalam pepsin dianalisis menurut metode AOAC (2005). Konsentrasi amonia cairan rumen dianalisis dengan reaksi warna fenol-hypoclorit (Weatherburn, 1967) dan pH cairan rumen diukur dengan pH meter. Preparasi protein mikroba dilakukan dengan cara Yusiati dkk. (2007) dan analisis protein dengan metode Lowry (1951).

Data yang diperoleh dianalisis variansi satu arah rancangan acak lengkap, perbedaan rerata perlakuan diuji dengan *Duncan's multiple range test* menggunakan IBM SPSS Statistics versi 25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi amonia di dalam rumen dapat digunakan sebagai indikator hidrolisis urea-zeolit atau bungkil kedelai terproteksi oleh mikroba rumen. Inkubasi urea-zeolit dan bungkil kedelai proteksi dalam cairan rumen selama 48 jam (Gambar 1), menunjukkan selama 12 jam inkubasi urea-zeolit terhidrolisis 50%. Pengikatan urea dengan zeolit melalui pertukaran kation dapat memperlambat hidrolisis urea menjadi amonia di dalam rumen. Berbeda dengan bungkil kedelai yang diproteksi proteinnya tidak mudah terhidrolisis di dalam rumen setelah 2 jam inkubasi. Terbentuknya kompleks tanin-protein memungkinkan tanin kondensasi berpengaruh langsung menghambat aktivitas enzim ekstraseluler mikroba proteolitik (Rimbawanto *et al.*, 2015)



Gambar 1. Kosentrasi amonia dalam cairan rumen inkubasi subtrat urea-zeolit dan bungkil kedelai proteksi selama 48 jam

Suplementasi bungkil kedelai terproteksi dan urea-zeolit sebagai sumber UDP dan RDP pada level yang berbeda dalam ransum basal menunjukkan pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap degradasi BK dan PK di dalam rumen, konsentrasi amonia dan pH cairan rumen, protein mikroba, degradasi PK dalam pepsin-HCl secara *in vitro* (Tabel 3).

Nilai pH cairan rumen pada ransum basal yang disuplementasi UDP/RDP lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding ransum basal (kontrol). Peningkatan nilai pH karena suplementasi RDP berupa urea-zeolit pada semua perlakuan rata-rata pH $7,72 \pm 0,16$ masih mendukung untuk pertumbuhan mikroba rumen. Stabilitasnya pH cairan rumen hingga 48 jam fermentasi *anaerob* menunjukkan hidrolisis urea-zeolit di dalam rumen lambat. Hasil yang sama juga dilaporkan Beukes *et al.* (2018) pemberian zeolit pada sapi laktasi menunjukkan konsistensi pelepasan amonia lambat di dalam rumen dan akan menurun setelah 8 jam pemberian. Lambatnya hidrolisis urea-zeolit berdampak meningkatnya konsentrasi amonia cairan rumen ($P < 0,05$) pada ransum basal yang disuplementasi UDP/RDP (1/1, 1/2, dan 1/3) dibanding ransum kontrol. Namun konsentrasi amonia cairan rumen pada ransum basal yang disuplementasi UDP/RDP (2/1 dan 3/1) menurun ($P < 0,05$) dan sama dengan ransum kontrol. Menurunnya konsentrasi amonia dengan meningkatnya UDP mengambarkan bahwa tanin kondensasi

juga mengikat N amonia. Penggunaan tanin kondensasi untuk proteksi protein bahan pakan nabati baik dalam konsentrasi rendah atau tinggi dapat menurunkan konsentrasi amonia (Rimbawanto dkk., 2017). Tanin kondensasi selain mengikat protein juga dapat berikatan dengan nitrogen (Rimbawanto *et al.*, 2015). Namun pH dan konsentrasi amonia cairan rumen dari semua perlakuan suplementasi UDP/RDP masih mendukung untuk sintesis protein mikroba. Menurut Owens and Bergen (1983), bila cairan rumen pH di atas 8 dan konsentrasi amonia di atas 100 mg/dl sebagai indikator keracunan urea karena aktivitas urease mikroba rumen terganggu.

Tabel 3. Degradasi (Deg.) BK, PK, pH, pelepasan amonia, protein mikroba dalam rumen dan degradasi PK dalam pepsin-HCl ransum perlakuan secara *in vitro*.

Item	Ransum Perlakuan						SEM	Sig.
	R0	R1	R2	R3	R4	R5		
pH cairan rumen	6,73 ^a	7,64 ^b	7,79 ^b	7,83 ^b	7,66 ^b	7,66 ^b	0,07	0,000
Amonia cairan rumen (mg/dl)	24,23 ^a	33,96 ^b	35,55 ^b	35,95 ^b	26,14 ^a	24,14 ^a	1,03	0,000
Protein mikroba (mg/ml)	3,446 ^b	2,719 ^a	2,705 ^a	2,739 ^a	2,731 ^a	2,736 ^a	0,06	0,000
Degradasi BK di rumen (mg/g)	685 ^c	625 ^b	629 ^b	626 ^b	564 ^a	563 ^a	8,84	0,000
Degradasi PK di rumen (mg/g)	617 ^c	560 ^b	564 ^b	567 ^b	516 ^a	517 ^a	6,68	0,000
Degradasi PK pepsin-HCl (mg/g)	712 ^a	781 ^b	803 ^b	811 ^b	845 ^c	850 ^c	9,54	0,000

^{a,b,c} superskrip pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Pengukuran protein mikroba dapat untuk menggambarkan sintesis protein mikroba rumen (Rimbawanto *et al.*, 2015), protein mikroba rumen dari ransum basal yang disuplementasi UDP/RDP menurun ($P < 0,05$) dibanding ransum kontrol. Menurunnya protein mikroba karena penggunaan UDP (bungkil kedelai proteksi). Suplementasi UDP/RDP pada semua imbalan pada ransum basal menunjukkan protein mikrobanya sama. Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi RDP berupa urea-zeolit pelepasan ureanya di dalam rumen lambat sehingga mampu menyediakan amonia untuk sintesis protein mikroba. Pelepasan amonia lambat sebanding dengan lambatnya degradasi karbohidrat, sehingga terjadi sinkronisasi antara N-amonia dan dari produk degradasi karbohidrat untuk sintesis protein mikroba. Sintesis protein mikroba akan efisien menggunakan sumber energi utama berasal dari degradasi karbohidrat di dalam rumen (Nocek and Russell, 1988; Rimbawanto dkk., 2018)

Degradasi BK dan PK di dalam rumen mengalami penurunan ($P < 0,05$) pada ransum basal yang disuplementasi UDP/RDP dibanding ransum kontrol. Degradasi BK dan PK terendah di dalam rumen pada suplementasi UDP/RDP imbalan 2/1 dan 3/1 ($P < 0,05$) dibanding imbalan 1/1, 1/2, dan 1/3. Penurunan ini merupakan dampak dari UDP berupa bungkil kedelai proteksi tanin kondensasi. Tanin kondensasi dalam memproteksi protein bungkil kedelai efektif sehingga menghambat degradasi protein tanpa mengganggu aktivitas mikroba rumen. Kisaran pH cairan rumen antara 7,64 – 7,83, pada pH tersebut afinitas ikatan tanin-protein masih tinggi sehingga tidak mudah terdegradasi oleh mikroba di dalam rumen. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh Tiemann *et al.* (2010), bahwa tanin kondensasi kaliandra sangat efektif untuk melindungi protein bungkil kedelai dari degradasi mikroba rumen dan mempunyai kelarutan tinggi dalam pepsin-HCl.

Degradasi protein dalam pepsin-HCl menggambarkan degradasi protein paska rumen berasal protein bahan pakan yang lolos degradasi rumen dan protein mikroba rumen. Protein yang larut dalam pepsin-HCl mengalami peningkatan pada ransum basal yang disuplementasi UDP/RDP ($P < 0,05$) dibanding ransum kontrol. Ketersediaan protein yang larut dalam pepsin-HCl tertinggi pada suplementasi UDP/RDP imbang 2/1 dan 3/1. Peningkatan protein yang larut dalam pepsin-HCl sejalan dengan menurunnya degradasi BK dan PK di dalam rumen.

KESIMPULAN

Suplementasi UDP dalam ransum ruminansia dalam menyediakan protein di paska rumen perlu diimbangi dengan RDP lepas lambat untuk mengoptimalkan sintesis protein mikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. Agricultural Chemical; Contaminants; Drugs Vol. 1. Association of Official Agricultural Chemists, Inc. Virginia.
- Beukes, P.C., P. Gregorinib, G.C. Waghorna, and D.R. Selbiec. 2018. Effects of a daily dose of zeolite on rumen ammonia of lactating dairy cows consuming fresh-cut ryegrass pasture. *New Zealand Journal of Animal Science and Production* 78: 137-140
- Busanello, M., J.P. Velho, A.A.C. Tambara, D.R.M. Alessio, A.T. Neto, and I.M.P Haygert-Velho. 2016. *In situ* ruminal degradability of soybean meal and alternative protein feeds in Brazil – A Meta-analysis. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences* 4(3): 117-123.
- Castro, S.B.I., L.E. Phillip, H. Lapierre, P.W. Jardon, and R. Berthiaume. 2007. Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in treated soybean meal products. *Journal of Dairy Science* 90: 810 – 822.
- Castro-Montoya, J., E. Westreicher-Kristen, A. Henke, M. Diaby, A. Susenbeth, and U. Dickhoefer. 2017. *In vitro* microbial protein synthesis, ruminal degradation and post-ruminal digestibility of crude protein of dairy rations containing Quebracho tannin extract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 102(1): 1–10.
- Dentinhoa, M.T.P., A.T. Beloa, and R.J.B. Bessa. 2014. Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer* L. tannins. *Small Ruminant Research* 119: 57–64.
- Manterola, D.A., D.A. Cerda, and J.J. Mira. 2001. Protein degradability of soybean meal coated with different lipid substances and its effects on ruminal parameters when included in steer rations. *Animal Feed Science and Technology* 92: 249-257.
- Maxin, G., D. R. Ouellet, and H. Lapierre. 2013. Ruminal degradability of dry matter, crude protein, and amino acids in soybean meal, canola meal, corn, and wheat dried distillers grains. *Journal of Dairy Science* 96 :1–10.
- Nocek, J.E., and J.B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science* 71:2070–2107.
- Owens, F.N. and W.G. Bergen. 1983. Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective, current understanding and future implications. *Journal of Animal Science* 57:498–518.
- Rimbawanto, E.A., L.M Yusiati, E. Baliarti, and R. Utomo. 2015. Effect of condensed tannin of leucaena and calliandra leaves in protein trash fish silage on *in vitro* ruminal fermentation, microbial protein synthesis and digestibility. *Animal Production* 17 (2): 83-91.

- Rimbawanto, E.A., S. Suhermiyati, and B. Hartoyo. 2018. Effects of slowrelease urea supplementation of sheep protein source feed protected with condensed tannin from leucaena on protein degradation in rumen and post-rumen *in vitro*. *Animal Production*. 19(2):119-126.
- Rimbawanto, E.A., S. Suhermiyati, dan B. Hartoyo. 2017. Produk Fermentasi dan Mikroba Rumen Domba Lokal yang Ransumnya Disuplementasi By Pass Protein. 2017. Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan V: Teknologi dan Agribisnis Peternakan untuk Mendukung Ketahanan Pangan, Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman 18 November 2017. h. 363-367.
- Tiemann, T.T. J. E. Corte´s, M. L. Pabo´n, H. D. Hess, M. Kreuzer and J. E. Carulla. 2010. *In vitro* evidence for the importance of cultivation conditions on the effects of Calliandra tannins on ruminal escape of soybean protein and its post-ruminal degradability. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94: e225–e230.
- Tilley J.M.A and R.A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 18(2):104-111
- Wheatherburn, M.W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*. 39: 971-974.