

## KECERNAAN DAN PRODUK FERMENTASI SECARA *IN VITRO* PADA CAMPURAN LEGUMINOSA YANG MENGANDUNG TANIN BERBEDA

Efka Aris Rimbawanto\* dan Bambang Hartoyo

Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman

\*Corresponding author email: efka.rimbawanto@unsoed.ac.id

**Abstrak** Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh campuran leguminosa kaliandra, lamtoro, dan *Indigofera (Indigofera zollingeriana)* sebagai sumber protein dengan tannin kondensasi yang berbeda terhadap karakteristik fermentasi. Cairan rumen untuk fermentasi dari 3 ekor domba lokal. Delapan puluh tabung reaksi untuk fermentasi substrat campuran rumput alam, kaliandra, lamtoro, dan *I. zollingeriana*. Fermentasi dilakukan menggunakan teknik *in vitro*, tabung reaksi yang berisi substrat percobaan diinkubasi pada suhu 39°C dalam dua set, 48 jam untuk degradasi rumen dan 96 jam untuk degradasi paska rumen. Perubahan respon pada fermentasi satu tahap adalah pH, jumlah protozoa, protein mikroba, N-NH<sub>3</sub>, VFA total, dan pada fermentasi dua tahap adalah pencernaan bahan kering, organik, dan protein. Data yang didapat dianalisis dengan analisis variansi rancangan acak lengkap, untuk mengetahui perbedaan rerata dilakukan uji Duncant multiple range test. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan campuran leguminosa kaliandra, lamtoro, dan *I. zollingeriana* pada pakan basal rumput alam tidak menyebabkan perubahan pH medium. Pengaruh substitusi *I. zollingeriana* pada kaliandra maupun pada lamtoro berpengaruh ( $P < 0,01$ ) pada konsentrasi N-NH<sub>3</sub> dan VFA total, protein mikroba, total protozoa, pencernaan bahan kering, organik dan protein kasar. Terdapat peningkatan ( $P < 0,05$ ) dengan meningkatnya level substitusi *I. zollingeriana*. Disimpulkan bahwa campuran leguminosa kaya tanin (kaliandra atau lamtoro) dengan rendah tanin (*I. zollingeriana*) dapat digunakan untuk meningkatkan ketersediaan protein di paska rumen.

**Kata kunci:** kaliandra, lamtoro, *Indigofera*, *in vitro*

### PENDAHULUAN

Kambing dan domba lokal mempunyai kontribusi ekonomi nyata pada peternak rakyat di Indonesia. Domba umumnya mengkonsumsi pakan berupa hijauan terutama rumput alam, leguminosa, dan hasil sisa tanaman pertanian untuk memenuhi kebutuhan produksi. Hijauan leguminosa pohon telah banyak diminati peternak ruminansia kecil karena tinggi kandungan nutrisi (protein kasar, vitamin, dan mineral) dan bahan kering tercerna.

Hijauan leguminosa yang biasa diberikan oleh peternak lokal adalah kaliandra dan lamtoro pada pakan basal rumput alam. Kaliandra dan lamtoro adalah leguminosa pohon yang kaya tanin, total tanin daun kaliandra 8,70% dan lamtoro 6,21% (Rimbawanto *et al.*, 2015). Pemberian leguminosa kaya tanin dapat berefek positif maupun negatif, tergantung struktur kimia, konsentrasi dalam pakan, dan spesies ternak. Efek negatif tanin dalam pakan ternak terutama dapat menurunkan pencernaan serat dan nitrogen maupun kinerja produksi (Waghorn, 2008). Sebaliknya pada konsentrasi optimum, dalam pakan dapat meningkatkan pencernaan protein dan mengendalikan parasit dalam saluran pencernaan sehingga mendorong peningkatan kinerja produksi (Piluzza *et al.*, 2014).

*Indigofera zollingeriana* adalah leguminosa pohon dengan kandungan total tanin rendah berkisar 0,09-0,65% (Abdullah, 2010), sehingga potensial sebagai sumber protein dalam pakan ternak. Kombinasi antara leguminosa tinggi kandungan tanin dengan rendah dapat meningkatkan penggunaan leguminosa kaya tanin untuk hijauan makanan ternak. Pemberian leguminosa rendah tanin dalam pakan ternak ruminansia mampu meningkatkan sintesis protein mikroba tanpa mempengaruhi pertumbuhan mikroba rumen (Soltan *et al.*, 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan efek dari campuran sumber tanin

(kaliandra dengan *I. zollingeriana* dan lamtoro dengan *I. zollingeriana*) pada fermentasi rumen secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

Empat macam bahan pakan digunakan dalam penelitian ini, yang umumnya telah digunakan oleh peternak lokal sebagai pakan domba. Hijauan pakan (rumput alam, kaliandra, lamtoro dan *I. zollingeriana*) yang ditanam di Purwokerto. Evaluasi komposisi kimia kombinasi leguminosa kaya tanin dan rendah tanin dalam ransum basal rumput alam tertera pada Tabel 1 dan fermentasi rumen dilakukan menurut cara Tilley dan Terry (1963). Sampel yang digunakan untuk fermentasi dikeringkan pada suhu 55°C, digiling dan lolos pada saringan 1 mm (Rimbawanto *et al.*, 2015; 2017).

Cairan rumen berasal dari 3 ekor domba lokal yang diberi pakan 70% rumput alam dan 30% pollard. Pengambilan cairan rumen dilakukan pada pagi hari sebelum diberi pakan, disaring kemudian ditambah dengan buffer McDougall suhu 39°C dengan rasio 1 : 4 (v/v) sebagai sumber inokulum dalam percobaan fermentasi.

Tabung reaksi sebanyak 80 buah (40 buah untuk fermentasi satu tahap dan 40 buah untuk fermentasi dua tahap), setiap tahap dibagi menjadi 8 sesuai dengan perlakuan berdasarkan macam substrat berupa rumput alam, kaliandra, lamtoro, dan *I. zollingeriana* (Tabel 1), setiap perlakuan di ulang 5 kali. Fermentasi tahap pertama dilakukan secara *anaerob* dengan cara mengaliri gas CO<sub>2</sub> dalam tabung reaksi yang telah berisi sampel dan larutan McDougall sebelum ditutup. Fermentasi dilakukan dalam *waterbath* pada suhu 39°C, pH 6,7 – 6,9 selama 48 jam. Setelah inkubasi 48 jam, fermentasi dihentikan dengan menambah 5% HgCl<sub>2</sub>. Hasil fermentasi tahap pertama disaring menggunakan *gooch cruss* yang diberi *glass wool*. Filtrat yang diperoleh untuk analisis pH dengan pH meter dan jumlah protozoa. Satu mililiter filtrat diencerkan dengan 4 ml garam yang mengandung formalin dan *methyl green*, protozoa dihitung menggunakan *Fuchs-Rosenthal chamber* (Ogimoto and Imai, 1981). Sebagian filtrat disentrifus pada kecepatan 10.000 g selama 15 menit, endapan yang diperoleh dianalisis protein mikroba menggunakan metode Lowry secara spektrofotometri (Plummer, 1988) dan filtratnya untuk analisis VFA total dengan cara destilasi uap (Kromann *et al.*, 1967) dan N-NH<sub>3</sub> dengan reaksi warna phenol hypochlorit (Weatherburn, 1967). Empat puluh tabung lainnya setelah tahap pertama ditambah 6 mL HCl 20% (v/v) secara bertahap agar tidak berbuih dan 2 ml pepsin 5% (w/v) diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 39°C secara *aerob* (tabung tanpa ditutup) selama 48 jam, Hasil fermentasi tahap kedua disaring menggunakan *gooch cruss* yang diberi *glass wool*. *Gooch cruss* yang berisi residu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai beratnya konstan, untuk menetapkan bahan kering (BK) dan untuk menghitung kecernaan BK. Sebagian BK diabukan dalam tanur pada temperatur 550°C (AOAC, 2002) untuk mengetahui kadar abu untuk menghitung kecernaan BO, dan sebagian BK dianalisis kadar protein kasar (AOAC, 2002).

Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) pada 8 macam substrat yang diuji dan diulangan 5 kali. Data yang diperoleh diuji dengan analisis variansi RAL, bila menunjukkan pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan multiple range test* untuk menguji perbedaan antara nilai rerata perlakuan.

Tabel 1. Subtrat perlakuan

Nama Bahan	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
Rumput alam, % BK	50	50	50	50	50	50	50	50
Kaliandra, % BK	50	37,5	25	12,5	-	-	-	-
Lamtoro, % BK	-	-	-	-	50	37,5	25	12,5
<i>Indigofera zollingeriana</i> , % BK	-	12,5	25	37,5	-	12,5	25	37,5
Komposisi kimia								
Bahan kering, %	23,83	23,57	23,32	23,06	23,46	23,29	23,13	22,97
Abu, %	7,67	7,66	7,66	7,65	8,62	8,37	8,13	7,89
Protein kasar, %	15,74	15,80	15,86	15,92	15,55	15,66	15,77	15,88
Lemak kasar, %	4,25	4,18	4,11	4,04	4,05	4,03	4,01	3,99
Serat kasar, %	27,43	27,51	27,58	27,65	27,88	27,84	27,80	27,76
Total digestible nutrien, %	59,82	59,71	59,59	59,48	57,98	58,32	58,67	59,01
Calsium, %	0,88	0,93	0,99	1,04	0,85	0,91	0,97	1,03
Phosphor, %	0,18	0,20	0,22	0,24	0,17	0,19	0,22	0,24
Total tanin, %	4,78	3,83	2,88	1,93	3,54	2,90	2,26	1,62
Tanin kondensasi, %	3,52	2,66	1,80	0,94	0,71	0,55	0,40	0,24
Tanin hidrolisis, %	1,26	1,17	1,08	0,99	2,82	2,34	1,86	1,38

BK (bahan kering); R1 (rumput alam 50% : kaliandra 50%); R2 (rumput alam 50% : kaliandra 37,5% : *I. zollingeriana* 12,5%); R3 (rumput alam 50% : kaliandra 25% : *I. zollingeriana* 25%); R4 (rumput alam 50% : kaliandra 12,5% : *I. zollingeriana* 37,5%); R5 (rumput alam 50% : lamtoro 50%); R6 (rumput alam 50% : lamtoro 37,5% : *I. zollingeriana* 12,5%); R7 (rumput alam 50% : lamtoro 25% : *I. zollingeriana* 25%); R8 (rumput alam 50% : lamtoro 12,5% : *I. zollingeriana* 37,5%).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh kombinasi leguminosa kaya tanin (kaliandra dan lamtoro) yang disubstitusi rendah tanin (*I. zollingeriana*) terhadap pH, produk fermentasi, mikroba rumen, dan pencernaan pada fermentasi menggunakan cairan rumen secara *in vitro* disajikan dalam Tabel 2.

Nilai rata-rata pH medium setelah fermentasi 48 jam tidak berbeda ( $P > 0,05$ ) karena perbedaan rasio substitusi *I. zollingeriana* pada kaliandra maupun pada lamtoro dalam pakan basal rumput alam, pH medium tetap normal berkisar 6,72 – 6,76. Hasil yang sama juga telah dilaporkan oleh Tarigan *et al.* (2017), bahwa pellet campuran 45% kaliandra dan 45% *I. zollingeriana* secara *in vitro* tidak berpengaruh pada pH medium dengan rata-rata 6,73.

Pengaruh substitusi *I. zollingeriana* pada kaliandra maupun pada lamtoro berpengaruh ( $P < 0,01$ ) terhadap konsentrasi N-NH<sub>3</sub> dan VFA total medium, protein mikroba, total protozoa, pencernaan bahan kering, organik dan protein kasar secara *in vitro* dan mengalami peningkatan ( $P < 0,05$ ) dengan meningkatnya level substitusi *I. zollingeriana*.

Pengaruh positif meningkatnya konsentrasi N-NH<sub>3</sub> pada substitusi *I. zollingeriana* pada kaliandra maupun pada lamtoro karena menurunnya konsentrasi tanin (Tabel 1) dengan meningkatnya level substitusi *I. zollingeriana*. Meningkatnya konsentrasi N-NH<sub>3</sub> karena kompleks protein-tanin yang terbentuk pada fermentasi tahap pertama (48 jam) tidak mengganggu aktivitas enzim bakteri proteolitik. Hasil pengukuran sintesis biomasa mikroba dinyatakan dalam kadar protein mikroba rumen juga meningkat dengan meningkatnya substitusi *I. zollingeriana* dalam subtrat. Hasil ini sesuai yang dilaporkan Min *et al.* (2003),

bahwa populasi bakteri proteolitik akan meningkat nyata, bila *polyethylene glycol* (PEG) difuskan dalam rumen domba yang pakannya mengandung *Lotus corniculatus* (3,2% tanin kondensasi/kg BK), PEG berikatan dengan tanin (Bhatta *et al.*, 2009) sehingga meningkatkan degradasi protein dan menghasilkan konsentrasi N-NH<sub>3</sub> lebih tinggi. Terbentuknya kompleks tanin-protein di dalam rumen menurunkan aktivitas enzim bakteri proteolitik (Waghorn *et al.*, 1994; Patra dan Saxena, 2011). Konsentrasi total tanin tertinggi dalam penelitian ini pada substrat rumput alam 50% dan kaliandra 50% (R1) maupun pada substrat rumput alam 50% dan lamtoro 50% (R2) dengan konsentrasi N-NH<sub>3</sub> terendah (8,308 dan 8,484 mg/dl).

Tabel 2. Rerata nilai pH, pencernaan, produk fermentasi, dan mikroba rumen pada fermentasi rumput alam, kaliandra, lamtoro, *I. zollingeriana* dengan rasio yang berbeda

Peubah respon	Ransum								Sig.
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	
pH	6,72	6,72	6,72	6,73	6,73	6,74	6,74	6,76	0,113
N-NH <sub>3</sub> , mg/dl	8,308 <sup>a</sup>	9,030 <sup>b</sup>	11,102 <sup>c</sup>	12,00 <sup>d</sup>	8,484 <sup>a</sup>	9,156 <sup>b</sup>	12,156 <sup>d</sup>	12,892 <sup>e</sup>	0,000
VFA total, mM/l	70,528 <sup>a</sup>	80,152 <sup>b</sup>	98,858 <sup>d</sup>	117,808 <sup>f</sup>	70,666 <sup>a</sup>	84,278 <sup>c</sup>	100,150 <sup>e</sup>	120,322 <sup>g</sup>	0,000
Protein mikroba, mg/ml	0,468 <sup>a</sup>	0,496 <sup>a</sup>	0,536 <sup>b</sup>	0,592 <sup>d</sup>	0,476 <sup>a</sup>	0,544 <sup>bc</sup>	0,574 <sup>cd</sup>	0,604 <sup>d</sup>	0,000
Total Protozoa, x10 <sup>3</sup> /ml	36,87 <sup>c</sup>	38,680 <sup>d</sup>	40,538 <sup>e</sup>	44,630 <sup>g</sup>	32,846 <sup>a</sup>	35,068 <sup>b</sup>	37,382 <sup>c</sup>	43,248 <sup>f</sup>	0,000
Kecernaan bahan kering, %	55,01 <sup>a</sup>	60,77 <sup>d</sup>	65,14 <sup>f</sup>	68,04 <sup>g</sup>	55,00 <sup>a</sup>	57,29 <sup>b</sup>	59,03 <sup>c</sup>	63,97 <sup>e</sup>	0,000
Kecernaan bahan organik, %	51,03 <sup>a</sup>	57,81 <sup>b</sup>	63,08 <sup>c</sup>	66,95 <sup>d</sup>	50,99 <sup>a</sup>	63,12 <sup>c</sup>	63,03 <sup>c</sup>	62,95 <sup>c</sup>	0,000
Kecernaan protein kasar, %	64,43 <sup>a</sup>	70,29 <sup>d</sup>	72,34 <sup>e</sup>	74,34 <sup>f</sup>	64,46 <sup>a</sup>	74,11 <sup>f</sup>	67,78 <sup>c</sup>	65,06 <sup>b</sup>	0,000

R1 (rumput alam 50% : kaliandra 50%); R2 (rumput alam 50% : kaliandra 37,5% : *I. zollingeriana* 12,5%); R3 (rumput alam 50% : kaliandra 25% : *I. zollingeriana* 25%); R4 (rumput alam 50% : kaliandra 12,5% : *I. zollingeriana* 37,5%); R5 (rumput alam 50% : lamtoro 50%); R6 (rumput alam 50% : lamtoro 37,5% : *I. zollingeriana* 12,5%); R7 (rumput alam 50% : lamtoro 25% : *I. zollingeriana* 25%); R8 (rumput alam 50% : lamtoro 12,5% : *I. zollingeriana* 37,5%).

Peningkatan produk VFA total pada pH 6,72 – 6,76 semua medium perlakuan, juga diikuti meningkatnya total protozoa. Protozoa sangat respon dengan adanya perubahan konsentrasi asam asetat dan butir. Vogels *et al.* (1980) tranfer hidrogen ke archaea difasilitasi adanya interaksi sinergis antara methanogen dan ciliata. Produk VFA total yang meningkat dimungkinkan adalah asam asetat dan butir, karena tersedianya hidrogen diikuti dengan meningkatnya total protozoa. Ultee *et al.* (2002), senyawa kelompok hidroksil dalam struktur phenol produk metabolit sekunder tanaman lebih efektif sebagai antimikroba dibanding bukan phenol. Tanin adalah senyawa phenol, menurunnya konsentrasi tanin pada substrat yang disubstitusi *I. zollingeriana* dalam penelitian ini akan meningkatkan aktivitas metanogenik.

Kecernaan bahan kering, organik dan protein kasar setelah inkubasi 96 jam pada substrat yang leguminosa di substitusi *I. zollingeriana*, menunjukkan lebih tinggi dibanding substrat (rumput alam 50% + kaliandra 50% dan rumput alam 50% + lamtoro 50%). Nilai pencernaan tersebut merupakan efek positif menurunnya konsentrasi tanin dalam substrat. Hasil yang sama telah dilaporkan bahwa tidak adanya PEG, menyebabkan degradasi bahan kering dan ketersediaan N rendah (Stürm *et al.*, 2007; Tiemann *et al.*, 2008). Ketersediaan protein di paska rumen tertinggi 74,34% pada campuran rumput alam, kaliandra, dan *I. zollingeriana* (50: 12,5: 37,5% BK) dan 74,11% pada campuran rumput alam, lamtoro, dan *I. zollingeriana* (50: 37,5: 12,5% BK). Hal ini menunjukkan adanya ikatan kompleks antara tanin kondensasi dari kaliandra dan lamtoro dengan protein sehingga tidak terdegradasi di dalam rumen. Perbedaan rasio antara kedua substrat tersebut karena perbedaan rasio prodelphinidin dan procyanidin maupun berat molukul. Menurut Huang *et al.* (2010), rasio antara prodelphinidin dan procyanidin dalam tanin kondensasi akan mempengaruhi kemampuan mengikat protein.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diambil suatu kesimpulan bahwa penggunaan leguminosa kaya tanin (kaliandra atau lamtoro) yang dicampur dengan leguminosa rendah tanin (*I. zollingeriana*) dapat digunakan untuk meningkatkan ketersediaan protein di paska rumen.

## REFERENSI

- Abdullah, L. 2010. Herbage production and quality of shrub Indigofera treated by different concentration of foliar fertiliser. *Media Peternakan* 33(3): 169–175,
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis. 17th Edition. Association of Official Analytical, Washington DC, USA. 684 pages.
- Bhatta, R., Y. Uyeno, and K. Tajima. 2009. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science* 92: 5512-5522.
- Huang, X.D., J.B. Liang, H.Y. Tan, R. Yahya, B. Khamsekhiew, and Y.W. Ho. 2010. Molecular weight and protein binding affinity of Leucaena CTs and their effects on *in vitro* fermentation parameters. *Animal Feed Science and Technology*. 159:81–87.
- Kromann, R.P., J.H. Meyer, and W.J. Stielau. 1967. Steam distillation of volatile fatty acids in rumen ingesta. *Journal of Dairy Science* 50 (1): 73-76,
- Min, B. R., T. N. Barry, G. T. Attwood, and W. C. McNabb. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. *Animal Feed Science and Technology* 106:3–19.
- Ogimoto, K., and S. Imai. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Press. Tokyo, 231 pages.
- Patra, A.K. and J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition . A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91: 24–37.
- Piluzza, G., L. Sulas, and S. Bullitta. 2014. Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: a review. *Grass and Forage Science* 69(1):32-48.
- Plummer, D.T. 1987. An Introduction to Practical Biochemistry. McGraw Hill Ltd. Bombay, New Delhi. 352 pages.
- Rimbawanto, E.A., L.M. Yusiati, E. Baliarti, and R. Utomo. 2015. The effect of condensed tannin of Leucaena and Calliandra leaves in protein trash fish silage on *in vitro* ruminal fermentation, microbial synthesis and digestibility. *Journal of Animal Production* 17(2): 83-91.
- Rimbawanto, E.A., S. Suhermiyati, and B. Hartoyo. 2017. Effect of slow release urea supplementation of sheep feed protected with condensed tannin from Leucaena on protein degradation in rumen and post-rumen in vitro. *Journal Animal Production* 19(2):119-126.
- Soltan, Y.A., A.S. Morsy, H. Louvandini, and A.L. Abdalla. 2012, Comparative *in vitro* evaluation of forage legumes (Prosopis, Acacia, Atriplex, and Leucaena) on ruminal fermentation and methanogenesis. *Journal of Animal and Feed Science* 21:759-772.
- Stürm, C.D., T.T. Tiemann, C.E. Lascano, M. Kreuzer, and H.D. Hess. 2007. Nutrient composition and in vitro ruminal fermentation of tropical legume mixtures with contrasting tannin contents. *Animal Feed Science and Technology* 138: 29–46.

- Tarigan, A., S.P. Ginting, I.I. Arief, D.A. Astuti, and L. Abdullah. 2017. Physical quality and digestibility *in vitro* determination of green pellet concentrate based on *Indigofera zollingeriana*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 22(3): 114-123.
- Tiemann, T.T., P. Avila, G. Ramirez, C.E. Lascano, M. Kreuzer, and H.D. Hess. 2008. In vitro ruminal fermentation of tanniferous tropical plants: plant-specific tannin effects and counteracting efficiency of PEG. *Animal Feed Science and Technology* 146:222–241.
- 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.
- Ultee, A., M. H. J. Bennik, and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology* 68:1561–1568.
- Vogels, G. D., W. F. Hoppe, and C. K. Stumm. 1980. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Applied and Environmental Microbiology* 39:123–128.
- Waghorn, G.C., I.D. Shelton and W.C. McNabb. 1994. The effect of condensed tannin in *Lotus pedunculatus* on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *Journal of Agricultural Science* 123:109–119.
- Wheatherburn, M.W. 1967. Fenol-hypoclorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry* 39: 971-974.