

Evaluasi Suplementasi *Indigofera zollingeriana* Sebagai Sumber *Green Protein concentrate* terhadap Produksi Gas Metan, Amonia dan Sintesis Protein Mikroba Rumen

Afzalani Afzalani*, R.A. Muthalib, Rahmi Dianita,
Fachroerrozi Hoesni, Raguati Raguati, Endri Musnandar

Fakultas Peternakan Universitas Jambi

*Corresponding email: afzalani@unj.ac.id

Abstrak. Penggunaan sumber protein murah, berkualitas, menghasilkan emisi metan dan ammonia rendah merupakan persyaratan yang perlu dipertimbangkan dalam sistem produksi ternak ruminansia. Adanya pelarangan penggunaan sumber protein yang berasal dari tepung ikan oleh *Europe Commission*, mendorong upaya eksplorasi sumber protein yang berasal dari tanaman untuk dapat digunakan sebagai sumber protein konsentrat yang dikenal dengan *green protein concentrate*. Tanaman *Indigofera zollingeriana* adalah leguminosa yang potensial untuk digunakan sebagai sumber pakan yang memiliki kandungan protein tinggi yakni sekitar 25-27%. Namun demikian, perlu dilakukan evaluasi mendalam terkait dengan sifat metabolismenya di rumen. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi tanaman *Indigofera zollingeriana* (IZ) sebagai sumber suplemen *green protein concentrate* terhadap produksi gas metan, ammonia dan sintesis protein mikroba. Penelitian ini dilaksanakan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan suplementasi *I. zollingeriana* (IZ) sebagai sumber *green protein concentrate* disusun sebagai berikut : R0 = Pakan dasar (60% hijauan dan 40% konsentrat + 0% IZ, R1; R0 + 10% IZ, R2; R0 + 20% IZ, dan R3; R0 + 30% IZ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi IZ nyata ($P < 0.05$) meningkatkan produksi gas total, ammonia ($N-NH_3$), total volatile fatty acid (TVFA), metabolisme energy (ME) serta berpengaruh nyata ($P < 0.05$) menurunkan gas metan dan persentase gas metan. Sedangkan perlakuan R1 nyata ($P < 0.05$) lebih tinggi dalam menghasilkan KcBK, KcBO, dan produksi protein mikroba (PPM). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sifat protein IZ memiliki ketahanan yang rendah terhadap perombakan mikroba rumen, relatif rendah dalam menurunkan produksi gas metan. Suplementasi IZ sampai taraf 10% (R1) menghasilkan KcBK, KcBO dan PPM lebih tinggi. Perlu upaya proteksi protein asal IZ guna menekan perombakannya oleh mikroba di rumen.

Kata kunci: Amonia; Gas metan; *Indigofera zollingeriana*; Protein mikroba; Suplementasi

Abstract. The use of protein with low-cost, high quality, low methane, and ammonia emissions are a prerequisite as a protein source in ruminant. However, the European Commission has prohibited protein derived from fish meals for ruminant feeds. So encouraging efforts to explore the other protein sources to be most important. Most of the high protein legumes grow in tropical areas such as Indonesia and have the potential as an alternative protein source in ruminant feed, including *Indigofera zollingeriana* (25-27% protein content). But many browse legumes with high protein are a heterogeneous group of plants, with variable secondary metabolic content and rumen degradable protein. The aim of this experiment was to evaluate the characteristics fermentation of IZ as green protein supplement on in vitro methane, ammonia and microbial protein production. The experiment was a completely randomized design with four different level supplementation of *Indigofera zollingeriana* (IZ) as green protein concentrate and five replications. The treatment diets were R0; basal diet (60% forage + 40% concentrate) + 0% IZ, R1; R0 + 10% IZ, R2; R0 + 20% IZ, and R3; R0 + 30% IZ. The experiment result showed that supplementation of IZ was significant effects ($P < 0.05$) to increase total gas, ammonia ($N-NH_3$), total volatile fatty acid (TVFA), and metabolizable energy (ME) and significant effect ($P < 0.05$) to decrease of methane and methane percentage. Supplementation IZ at a level of 10% was significantly higher for dry matter digestibility (DMD), organic matter digestibility (OMD), and microbial protein production (PPM) than diets treatment of R0, R2, and R3. The experiment concluded that Supplementation of *I. zollingeriana* (IZ) was able to reduce the methane gas production. Protein characteristics of IZ have easily degradable by rumen microbe showed the ammonia production was linearly increasing by 45.66% for each increasing level of IZ supplementation. Microbial protein production was higher (184.33 mg/ml) obtained of IZ supplementation up to 10% (R1). The experiment suggests doing protected protein of IZ when be used as a protein source in ruminant diets.

Keywords: Ammonia; Methane, *Indigofera zollingeriana*; Microbial protein; Supplementation

PENDAHULUAN

Ternak ruminansia memiliki kemampuan untuk mengkonversikan bahan pakan yang sedikit atau tidak bernilai sama sekali bagi manusia, menjadi bahan pangan yang berkualitas tinggi seperti daging dan susu untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bagi manusia (Broderick, 2017). Komposisi asam amino esensial dari

daging dan susu yang yang diproduksi dari ternak ruminansia, menjadikan sumber protein tersebut sebagai tambahan yang berharga untuk suplai pangan manusia. Diperkirakan akan ada peningkatan permintaan protein ruminansia di masa depan. Peningkatan kemampuan produktifitas per ekor ternak melalui penggunaan sumber protein murah dan berkualitas akan dapat

menurunkan biaya serta gangguan lingkungan selama proses pemeliharaan ternak hingga berproduksi (daging atau susu).

Protein bahan pakan pada ternak ruminansia dikelompokkan dalam dua bagian yakni, protein yang didegradasi di rumen (*rumen degradable protein* = RDP) dan protein yang tidak didegradasi di rumen (*rumen undegradable protein* = RUP), dimana RDP terdiri dari nitrogen bukan protein (NPN) dan nitrogen protein. Ketika protein pakan perombakannya berlebihan, akibatnya efisiensi pemanfaatannya untuk produksi menurun tajam dan sejumlah besar hilang sebagai N-feses, urin, dan gas N yang dapat menyebabkan efek negatif terhadap lingkungan. Disamping itu menyebabkan meningkatnya biaya dan efisiensi protein yang rendah (Bach dkk., 2005; Ružić-Muslić, 2014).

Pada saat ini *Europe commission* telah melarang penggunaan tepung ikan dalam makanan untuk ternak sebagai sumber protein, sehingga banyak penelitian telah difokuskan pada mempelajari efek dari penggunaan kedelai, bunga matahari dan sumber protein "unconventional" seperti sumber protein yang bersal dari tanaman pakan seperti legume pohon sebagai sumber *green protein concentrate* dalam makanan untuk nutrisi ruminansia. (Ružić-Muslić, 2014). *Indigofera zollingeriana* merupakan salah satu legum yang potensial untuk pakan ternak karena berkualitas tinggi dan toleran terhadap beragam kondisi lingkungan. Disamping itu tanaman ini memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yakni berkisar 25.17 – 26.44% meskipun ditanam dengan kerapatan tanaman yang berbeda (Kumalasari dkk., 2017). Produksi dan kualitas *I. zollingeriana* terlihat lebih tinggi dibandingkan legum lainnya, sehingga termasuk legum yang mempunyai prospek tinggi untuk dikembangkan sebagai komoditi industri konsentrat protein hijau (Abdullah, 2014). Tanaman ini juga adaptif dikembangkan di Indonesia karena sifatnya yang toleran terhadap musim kering, tahan genangan air serta tahan terhadap salinitas tanah. Selain itu tanaman ini memiliki pertumbuhan yang sangat cepat, adaptif terhadap tingkat kesuburan tanah rendah dan mudah dalam pemeliharaannya (Kumalasari dkk., 2017).

Penelitian ini berfokus pada evaluasi penggunaan *I. zollingeriana* sumber *green protein concentrate* untuk pakan ternak ruminansia.

METODE

Persiapan Sampel dan Pakan Penelitian

Sampel *I. zollingeriana* dan hijauan rumput kolonjono (*Brachearia mutica*) dipanen dari kebun percobaan Fakultas Peternakan Universitas Jambi. Sampel dikeringkan pada panas matahari, kemudian dilanjutkan pengeringan menggunakan oven suhu 60°C selama 24 jam dan digiling dengan ukuran saringan 1 mm sebelum digunakan dalam campuran pakan penelitian serta inkubasi *in vitro*.

Pakan penelitian yang digunakan sebagai pakan dasar disusun dengan rasio hijauan konsentrat 60:40%, dengan kandungan protein 14% dan TDN 65%. Konsentrat diformulasi menggunakan dedak 58%, jagung giling 25%, bungkil kedele 6%, bungkil kelapa 9%, mineral mix 1% dan garam 1%. Hijauan yang digunakan yakni rumput kolonjono (*Brachiaria mutica*). Komposisi kimia hijauan, konsentrat, *I. Zollingeriana* dan ransum percobaan tercantum pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Empat jenis pakan percobaan yang digunakan dalam penelitian terdiri R0= 60% Hijauan +40% konsentrat+ 0% *I. zollingeriana* (IZ), R1= R0 + 10% IZ, R2= R0 + 20% IZ dan R3= R0 + 30% IZ.

Prosedur Inkubasi *In Vitro*

Cairan rumen diambil dari rumah potong hewan dari 2 ekor ternak sapi Bali jantan sebagai donor. Ternak sapi sebelum dipotong diberi pakan 2 kali sehari dengan pakan yang mengandung hijauan konsentrat 60:40%, berlangsung selama 3 hari sebelum dipotong. Koleksi cairan rumen dilakukan berdasarkan prosedur *Bioscreen Technologies* (2015).

Cairan rumen dimasukkan ke dalam botol plastik dan di tempatkan dalam *ice box* yang berisi air hangat suhu 39-40°C, dibawa ke laboratorium, disaring dengan menggunakan 4 lapis kain dan dicampur dengan buffer McDougall (1:4 v/v) sesuai prosedur Tilley dan Terry (1963).

Sebanyak 2000 ml larutan campuran anatara cairan rumen dan McDougall dimasukkan ke dalam botol gelap kapasitas 2500 ml, dialiri dengan gas CO₂ dan selanjutnya dipasang *automatic dispenser pipette*. Ditimbang sejumlah 500 mg pakan penelitian, masukkan dalam botol serum kapasitas 100 ml, dimasukkan ke dalam oven suhu 39°C selama semalam, dan kemudian masukkan sebanyak 40 ml larutan campuran cairan rumen-buffer, ditutup dengan karet penutup dan dijepit menggunakan *aluminium seal cup*.

Sebanyak 43 botol serum yang terdiri dari 4 perlakuan, 5 ulangan dan masing-masing berisi 2 unit penelitian serta 3 larutan blanko (cairan rumen-buffer) diinkubasikan dalam inkubator suhu 39°C selama 48 jam. Setiap botol serum diinjeksi dengan *syringe* melalui karet penutup untuk mengeluarkan gas sebagai titik awal dimulainya inkubasi.

Produksi gas diukur secara manual pada waktu inkubasi 3, 6, 9, 12, 24 dan 48 jam dengan menginjeksikan jarum menggunakan gelas syringe 10 ml (*Fortune*[®]) dengan melihat pergerakan piston pada skala dari glass syringe dan dicatat sebagai produksi gas yang dihasilkan. Gas yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengukur produksi gas metan.

Produksi gas metan diukur menggunakan metode yang dimodifikasi dari Fieves dkk. (2005). Syringe yang berisi gas dimasukkan melalui saluran *in-let gas washing glass* (DuranTM) yang berisi larutan NaOH 4 M guna

menyerap CO₂, dan pada saluran *out-let* dipasang dengan gelas syringe yang lain untuk mengukur gas metan. Total produksi gas (TG) dan gas metan dihitung setelah dikoreksi dengan balnko.

Konsentrasi metan (CH₄) dan potensi reduksinya gas metan (PRM) dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :

$$CH_4 (\%) = \frac{\text{Total } CH_4 (\text{ml})}{\text{Total Gas (ml)}} \times 100\%$$

$$PRM (\%) = \frac{\text{Total } CH_4 (\text{kontrol}) - \text{Total } CH_4 (\text{IZ})}{\text{Total } CH_4 (\text{kontrol})} \times 100\%$$

Kandungan energy metabolis (ME, MJ/kg DM) dihitung dengan menggunakan persamaan Menke and Steingass (1988), dan total *volatile fatty acid* (TVFA) menggunakan persamaan Getachew dkk. (2008) sebagai berikut;

$$ME (\text{MJ/kg DM}) = 2.2 + 0.136 \times GP_{24} + 0.057 \times CP + 0.0029 \times CP^2$$

$$TVFA (\mu\text{mol L}^{-1}) = 0.0239 \times GP_{24} - 0.00425$$

Dimana, CP dan GP adalah persentase protein kasar dan produksi gas pada 24 jam inkubasi. Sedangkan produksi protein mikroba dihitung berdasarkan Blummel dkk. (1997) yakni;

Produksi protein mikroba (PPM) (mg/g BK) = mg KcBK- (ml gas/24 jam x 2.2 mg/ml), dimana 2.2 mg/ml adalah faktor stokiometri yang menggambarkan mg dari C, H dan O yang dibutuhkan untuk memproduksi VFA yang dihubungkan dalam produksi 1 ml gas.

Tabel 1. Komposisi kimia hijauan, konsentrat, *I. zollingeriana* dan ransum dasar

Zat Makanan	Hijuan	Konsentrat	<i>I. zollingeriana</i>	Ransum Dasar
Bahan Kering,%	91.96	91.48	93.53	91.93
Protein Kasar, %	12.94	12.47	28.12	14.01
Lemak Kasar,%	1.37	3.64	5.91	2.46
Serat Kasar,%	27.67	8.81	9.11	20.15
BETN, %	50.13	68.74	49.25	56.02
Abu, %	7.89	6.34	7.61	7.37
TDN, %	61.92	70.48	66.97	65.06

Tabel 2. Komposisi kimia pakan penelitian

Zat Makanan	R0	R1	R2	R3
Bahan Kering,%	91.93	91.98	92,8653	93.33
Protein Kasar, %	14.01	16.82	19,634	22.45
Lemak Kasar,%	2.46	3.05	3,642	4.23
Serat Kasar,%	20.15	21.06	21,972	22.88
BETN, %	56.02	60.95	65,87	70.80
Abu, %	7.37	8.13	8,892	9.65
TDN, %	65.06	71.76	78,454	85.15

Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik

Pada akhir inkubasi 48 jam, proses fermentasi pakan penelitian dihentikan dengan ditetesi larutan HgCl jenuh sebanyak 2 tetes, disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan endapan pakan dan supernatannya. Endapan pakan digunakan

untuk mengukur kecernaan Bahan Kering (KcBK) dan kecernaan Bahan Organik (KcBO). Sementara itu supernatannya digunakan untuk penentuan konsentrasi ammonia.

Penentuan KcBK dan KcBO dilakukan dengan menganalisis kandungan bahan kering dan bahan organik residu sampel setelah 48 jam inkubasi. KcBK dan KcBO dihitung dengan formula sebagai berikut:

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

$$KcBO = \frac{\text{berat BO sampel, (g)} - (\text{berat BO residu, (g)} - \text{berat BO blanko, (g)})}{\text{berat BO sampel (g)}} \times 100\%$$

Pengukuran Produksi Amonia (NH₃)

Pengukuran produksi NH₃ menggunakan metode Mikrodifusi *conway* (*General Laboratory Procedure, 1966*). Sebelum digunakan, bibir cawan *conway* diolesi dengan vaselin. Sebanyak 1 ml supernatan diambil kemudian dimasukan pada salah satu sisi alur dari cawan *conway*. Sedangkan sisi yang lain diisi dengan 1 ml Na₂CO₃ jenuh. Antara supernatan dan Na₂CO₃ tidak boleh bercampur. Larutan asam borat berindikator sebanyak 1 ml ditempatkan dalam cawan kecil yang terletak di tengah cawan *conway*, kemudian cawan *conway* langsung ditutup rapat hingga kedap udara. Kemudian cawan *conway* digoyang-goyangkan hingga supernatan dan NaCO₃ tercampur rata, disimpan pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah 24 jam asam borat berindikator dititrasi dengan H₂SO₄ 0,005 N sampai terjadi perubahan warna dari biru menjadi merah.

Produksi ammonia dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$NH_3 (\text{mM}) = \frac{\text{Volume } H_2SO_4 \times N. H_2SO_4}{\text{berat BK sampel (g)}} \times 1000$$

Analisis Statistik

Penelitian dilaksanakan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan. Masing-masing ulangan berisi 2 unit percobaan dan 3 blanko. Analisis ragam (ANOVA) dilakukan untuk melihat efek perlakuan terhadap peubah yang diukur. Uji Duncan digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan rata-rata dari setiap perlakuan, menggunakan tingkat kepercayaan P<0.05. Untuk mengestimasi jumlah IZ yang digunakan sebagai suplemen protein dalam pakan dilihat dengan uji polynomial orthogonal menggunakan aplikasi exel. Sedangkan rata-rata *standar error of mean* (SEM) dihitung dari rerata kuadrat tengah galat. Analisis statistik menggunakan program SPSS versi 17.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Gas dan Gas Metan

Tabel 3. Efek suplementasi *I. zollingeriana* (IZ) dalam pakan terhadap produksi gas total, gas metan dan persentase gas metan di rumen

Parameter	R0	R1	R2	R3	SEM	P
Produksi Gas Total,ml	68.24 ^d	75.30 ^c	78.63 ^b	81.24 ^a	0.67	<0.001
Gas Metan, ml	33.07 ^b	36.00 ^c	34.02 ^b	31.25 ^a	0.49	<0.001
Gas Metan,%	48.47 ^c	47.80 ^c	43.28 ^b	38.48 ^a	0.67	<0.001

SEM: standard error of mean, P: probability

Superskrip a-d berbeda pada baris yang sama berbeda (P<0.05)

Hasil pengukuran efek suplementasi *I. zollingeriana* dalam pakan terhadap produksi gas dan gas metan seperti tercantum pada Tabel 3. Pada Tabel 3 terlihat bahwa perlakuan suplementasi IZ sampai dengan taraf 30% (R3) nyata (P<0.05) berpengaruh terhadap produksi gas total, gas metan dan persentase gas metan. Produksi gas total meningkat (P<0.05) dengan semakin meningkatnya taraf suplementasi IZ dalam pakan. Peningkatan ini mengindikasikan bahwa suplementasi IZ mampu memperbaiki fermentabilitas dari pakan. Disamping itu, IZ memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan pakan dasar (R0, Tabel 1). Namun demikian terlihat bahwa produksi gas metan dan persentase gas metan mengalami penurunan dengan meningkatnya taraf suplementasi IZ dalam pakan,

Persentase gas metan mengalami penurunan sebesar 0.67, 5.19 dan 9.99% masing-masing untuk perlakuan R1, R2 dan R3, dibandingkan dengan R0 (kontrol). Penurunan persentase gas metan yang diperoleh dalam penelitian ini relatif rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan Denek dkk. (2017), dimana suplementasi *pistachio by product* yang mengandung 8% tannin kondensasi mampu menurunkan produksi metan 30%. Rendahnya penurunan persentase gas metan yang diperoleh dalam penelitian ini disebabkan karena rendahnya kandungan tannin pada IZ yakni sekitar 0.09-0.65% (Abdullah, 2010). Lebih lanjut Hariadi dan Santoso (2010) melaporkan bahwa produksi metan akan menurun dengan semakin meningkatnya kandungan tannin pada tanaman.

Kecernaan Pakan dan Produk Metabolik Rumen

Kecernaan pakan yang diukur dalam penelitian ini meliputi nilai Kecernaan Bahan Kering (KcBK) dan Kecernaan Bahan Organik (KcBO). Sedangkan produk metabolik rumen yang diukur terdiri dari nilai pH, konsentrasi ammonia (N-NH₃) rumen, *total volatile fatty acid* (TVFA), energy metabolism (ME), dan produksi protein mikroba (PPM). Data hasil pengukuran kecernaan pakan dan produk metabolik rumen dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Efek suplementasi *I. zollingeriana* (IZ) dalam pakan terhadap KcBK, KcBO dan produk metabolik rumen

Parameter	R0	R1	R2	R3	SEM	P
KcBK, %	50.00 ^b	69.06 ^a	47.49 ^{bc}	43.95 ^c	1.60	<0.001
KcBO, %	54.39 ^b	73.89 ^a	53.46 ^b	53.85 ^b	1.18	<0.001
pH	7.35 ^a	7.04 ^b	6.71 ^c	7.20 ^{ab}	0.07	<0.001
N-NH ₃ , mg/dl	9.86 ^a	15.37 ^b	18.70 ^b	23.97 ^c	1.14	<0.001
TVFA, μmol/l	0.98 ^d	1.24 ^c	1.32 ^b	1.42 ^a	0.02	<0.001
ME, MJ/kg BK	8.13 ^d	9.59 ^c	10.08 ^b	10.63 ^a	0.12	<0.001
PPM, mg/g	154.13 ^b	225.83 ^a	110.09 ^c	83.53 ^d	7.46	<0.001

SEM: standard error of mean, P: probability, KcBK : Kecernaan bahan kering, KcBO: Kecernaan bahan organik, N-NH₃: N-amonia, TVFA: Total volatile fatty acid, ME: Metabolisme energy, PPM: Produksi protein mikroba.

Superskrip a-d berbeda pada baris yang sama berbeda (P<0.05)

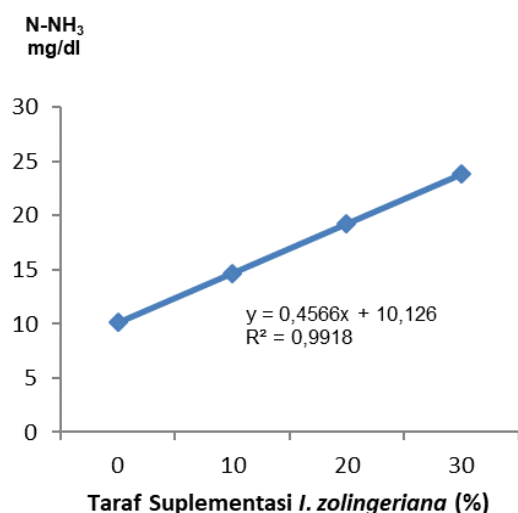
Nilai KcBK dan KcBO (Tabel 4) yang diperoleh nyata P<0.05) dipengaruhi oleh taraf suplementasi IZ dalam pakan. Nilai KcBK dan KcBO tertinggi diperoleh pada taraf suplementasi IZ sebesar 10% (R1) nyata lebih tinggi dibandingkan perlakuan R0, R2 dan R3., peningkatan taraf suplementasi IZ di atas 10% cenderung menyebabkan penurunan nilai KcBK dan KcBO. Hal ini terjadi diakibatkan oleh karena adanya peran metabolik sekunder yang terdapat pada IZ, terutama tannin. Semakin tinggi jumlah suplementasi IZ yang diberikan menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi tannin. Besarnya pengaruh tannin terhadap KcBK dan KcBO merupakan suatu fungsi dari dosis, jenis tannin dan bobot molekul (Getachew dkk., 2008). Pada konsentrasi tinggi, tanin dapat mengurangi konsumsi ransum dikarenakan rasanya yang *astringent*

serta menurunkan kecernaan (Mueller-Harvey 2006). Namun demikian, nilai KcBK dan KcBO yang diperoleh masih berada penilaian kualitas pakan yang baik, sehingga suplementasi IZ sampai 30% (R3) belum mengganggu kecernaan zat makanan meski kandungan tanin yang diberikan meningkat. Hasil penelitian Cieslak dkk. (2016), dimana penggunaan ekstrak tannin dari *Sanguisorba officinale* (SOTE) sampai 40 mg tidak menyebabkan efek negatif terhadap kecernaan. Sementara itu kadar tanin pada penelitian ini berkisar antara 0.3 – 1.95 g/kg. Tanin mempunyai efek biologis baik yang bersifat positif maupun negatif tergantung pada konsentrasi serta sumber, tergantung pada konsentrasi serta sumber tana-mannya (Makkar, 2003).

Pengukuran kondisi pH rumen penting dilakukan karena kondisi pH berperan penting dalam

mempengaruhi aktifitas mikroba dalam proses pencernaan pakan. Nilai pH berada di bawah 6.2 berpengaruh negatif pada pencernaan fraksi serat, sementara nilai pH dibawah 5.5 akan berdampak terhadap kejadian rumen asidosis, menurunkan konsumsi dan bahkan pada kondisi ekstrim ternak tidak mau makan (*off feed*) serta dapat menyebabkan problem yang serius. Oleh karena itu penting untuk menjaga keseimbangan pH dan populasi mikroba rumen. Nilai pH dapat bervariasi sekitar 5.5-7.5 tergantung pada tipe pakan dan frekuensi pemberian pakan (Franzolin dan Dehority, 2010). Hasil pengukuran efek suplementasi IZ nyata ($P < 0.05$) mempengaruhi nilai pH rumen. Nilai pH rumen yang diperoleh bervariasi antara 6.71-7.35. Nilai pH yang diperoleh masih berada batas pH yang ideal untuk aktifitas mikroba di rumen (Van Soest, 1994), dan di atas 6.0 yang dibutuhkan untuk sintesis protein mikroba (Russell dkk., 1992).. Jadi efek suplementasi IZ sampai dengan taraf 30% (R3) tidak berdampak negatif pada kondisi pH rumen.

Pengukuran konsentrasi $N-NH_3$ penting dilakukan pada ternak ruminansia guna mengevaluasi kualitas pakan sumber protein yang diberikan. Semakin tinggi jumlah $N-NH_3$ yang terbentuk di rumen, menunjukkan bahwa semakin tingginya protein pakan yang didegradasi oleh mikroba rumen serta dapat digunakan sebagai indikator rendahnya efisiensi sumber protein. Hasil pengukuran efek taraf suplementasi IZ sebagai sumber protein, nyata ($P < 0.05$) meningkatkan konsentrasi $N-NH_3$ (Tabel 4). Konsentrasi $N-NH_3$ yang diperoleh bervariasi 9.86-23.97 mg/dl. Nilai ini berada di atas ambang yang dibutuhkan oleh mikroba rumen. Menurut Satter dan Slyter (1974), konsentrasi $N-NH_3$ sebesar 5 mg/dl sudah cukup untuk mendukung pertumbuhan mikroba yang optimal untuk membantu proses pencernaan pakan. Gambaran hubungan taraf suplementasi IZ dengan konsentrasi $N-NH_3$ tercantum pada Gambar 1.

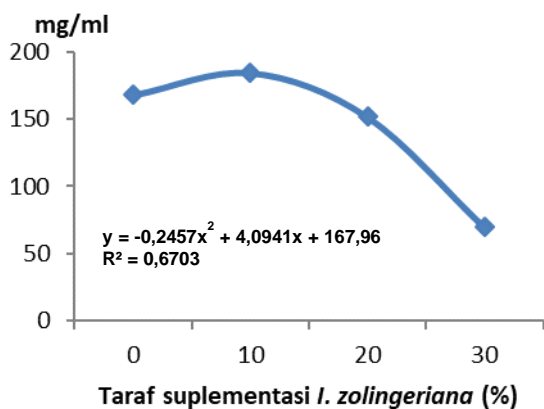


Gambar 1. Hubungan taraf suplementasi *I. zollingeriana* terhadap $N-NH_3$

Pada Gambar 1, terlihat bahwa semakin tinggi taraf suplementasi IZ konsentrasi $N-NH_3$ semakin meningkat. Kondisi ini menunjukkan bahwa kandungan protein dari IZ yang tinggi (28.12%) berperan dalam meningkatkan konsentrasi $N-NH_3$. Tingginya konsentrasi $N-NH_3$ menunjukkan bahwa IZ sebagai sumber protein, memiliki sifat ketahanan protein yang rendah terhadap degradasi oleh mikroba rumen. Pada gambar 1 di atas terlihat bahwa peningkatan taraf suplementasi IZ akan meningkatkan konsentrasi $N-NH_3$ sebesar 0,4566 mg/dl (45.66%) untuk setiap peningkatan taraf suplementasi IZ. Peningkatan ini disebabkan karena mikroba rumen cenderung untuk merombak protein menjadi ammonia, selanjutnya ammonia akan digunakan untuk produksi masa sel mikroba. Namun demikian tidak semua $N-NH_3$ yang terbentuk digunakan oleh mikroba, sebagian akan di ekskresikan melalui urin dan feses yang berkontribusi sebagai polutan pada air, emisi gas N serta sejumlah kecil partikel yang terbentuk di atmosfer (Kulling dkk., 2003; Hristov, 2011; Hristov dkk., 2011; Cameron dkk., 2013). Bahan pakan sumber protein yang bersifat seperti di atas, meskipun memiliki kandungan protein yang tinggi, namun tidak dapat digolongkan pada sumber protein yang berkualitas untuk ternak ruminansia. Ketika protein pakan perombakannya berlebihan, akibatnya efisiensi pemanfaatannya untuk produksi menurun tajam dan sejumlah besar hilang sebagai N-feses, urin, dan gas N yang dapat menyebabkan efek negatif terhadap lingkungan. Disamping itu menyebabkan meningkatnya biaya dan efisiensi protein yang rendah (Bach dkk., 2005; Ružić-Muslić, 2014).

Efek peningkatan taraf suplementasi IZ nyata ($P < 0.05$) meningkatkan TVFA dan ME (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa IZ memiliki nilai fermentabilitas yang lebih baik. Produksi TVFA berkorelasi positif dengan nilai ME. Hal ini disebabkan karena TVFA berkontribusi sebesar 65-75% terhadap ME yang dihasilkan (Penner dkk., 2009). Produksi gas fermentasi secara kualitatif dan kuantitatif merupakan hasil dari produksi TVFA. Hasil ini semakin jelas mengkonfirmasi keberadaan tannin pada IZ tidak menyebabkan efek negatif terhadap fermentabilitas, bahkan memperlihatkan sumbangannya yang besar terhadap ketersediaan energy pada ternak ruminansia.

Protein mikroba rumen merupakan sumber utama asam amino dan berkontribusi sekitar dua pertiga dari asam amino yang diabsorpsi oleh ternak ruminansia (Pathak, 2008). Hasil pengukuran efek taraf suplementasi IZ sebagai sumber protein nyata ($P < 0.05$) berpengaruh terhadap produksi protein mikroba (PPM) (Tabel 4). Hubungan taraf suplementasi IZ terhadap produksi protein mikroba seperti tercantum pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan taraf suplementasi *I. zollingeriana* terhadap produksi protein mikroba

Pada Gambar 2 di atas, terlihat bahwa produksi protein mikroba optimal terjadi pada suplementasi IZ taraf 10% (R1). Hal ini erat kaitannya dengan jumlah bahan organik yang dicerna. Dimana pada taraf suplementasi IZ sebesar 10%, jumlah bahan organik yang dicerna sebesar 73.89% lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan R0, R2 dan R3 masing-masing sebesar 54.39, 53.46 dan 53.85%. Pathak (2008), menyatakan terdapat hubungan yang erat antara bahan organik (BO) yang dicerna dengan sintesis protein mikroba, dimana efisiensi sintesis protein mikroba meningkat dengan meningkatnya ketersediaan bahan organik yang dicerna. Meskipun suplementasi IZ menyebabkan peningkatan secara linier konsentrasi N-NH₃, namun tidak linier menyebabkan peningkatan sintesis protein mikroba akibat tidak cukup disuplai dari BO yang dicerna. Hal ini memperkuat asumsi bahwa kelebihan produksi N-NH₃ tidak memberikan manfaat yang positif untuk produksi protein mikroba, bahkan justru dapat menurunkan nilai efisiensi protein karena nitrogen akan banyak diekskresikan melalui urin dan feses. Fungsi utama metabolisme karbohidrat oleh mikroba rumen adalah untuk menghasilkan energy bebas dalam bentuk ATP yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba. Pola dan tingkat metabolisme nitrogen untuk sintesis protein mikroba sangat tergantung pada ketersediaan energi yang dihasilkan oleh fermentasi karbohidrat. Rata-rata, 20 gram protein bakteri disintesis per 100 gram bahan organik yang difermentasi dalam rumen (Harun dan Sali 2019).

SIMPULAN

Suplementasi *I. zollingeriana* (IZ) mampu menurunkan produksi gas metan dan persentase gas metan. Karakteristik protein dari IZ tidak tahan terhadap perombakan oleh mikroba rumen yang ditandai dengan peningkatan konsentrasi N-NH₃ sebesar 45.66% untuk setiap peningkatan taraf suplementasi. Produksi protein mikroba optimal diperoleh pada taraf suplementasi IZ 10% (R1) yakni sebesar 184.33 mg/ml. Perlu upaya proteksi protein dilakukan, jika IZ sebagai bahan pakan

sumber protein hijau akan digunakan dalam pakan ternak ruminansia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, L. 2014. Prospektif agronomi dan ekofisiologi indigofera *zollingeriana* sebagai tanaman penghasil hijauan pakan berkualitas tinggi. Pastura. 3 (2) : 79 – 83.
- Abdullah, L., 2010. Herbage production and quality of shrub *Indigofera* treated by different concentration of foliar fertiliser. Med. Pet. 33 (3): 169–175.
- Bach, A., S. Calsamiglia, and M. D. Stern. 2005. Nitrogen Metabolism in the Rumen. J. J. Dairy Sci. 88:(E. Suppl.):E9–E21.
- Bioscreen Technologies. 2015. Bioscreen technologies research laboratories - artificial rumen by-pass analysis of rumen protected feed additives. <https://www.youtube.com/watch?v=AAT63sytI0w>.
- Broderick, G.A. 2017. Optimizing ruminant conversion of feed protein to human food protein. Animal, 12 (8): 1722–1734
- Cameron, K. C., H. J. Di, and J. L. Moir. 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: A review. Ann. Appl. Biol. 162:145–173.
- Cieslak, A., P. Zmora, A. Matkowski, I. Nawrot-Hadzik, E. Pers-Kamczyc, M. El-Sherbiny¹, M. Bryszak¹ and M. Szumacher-Strabel. (2016). Tannins from *Sanguisorba officinalis* affect in vitro rumen Methane production and fermentation. The J. of Anim. & Plant Sci. 26(1): 54–62.
- Denek, N., S.S. Aydin, A. Can. 2017. The effects of dried pistachio (*Pistachio vera* L.) by-product addition on corn silage fermentation and in vitro methane production. J Appl Anim Res. 45:185–189.
- Fievez. V., O.J. Babayemi and D. Demeyer, D. 2005. Estimation of direct and indirect gas production in syringe: a tool estimate short chain fatty acid production the requires minimal laboratory facilities. Animal Feed Science and Technology. 5(1):197-210.
- Franzolin, R., dan B.A. Dehority. 2010. The role of pH on the survival of rumen protozoa in steers. R. Bras. Zootec., 39 (10): 2262-2267.
- General Laboratory Procedure. 1966. Report of Dairy Science. University of Wisconsin Madison.USA.
- Getachew G., W. Pittroff, D.H. Putnam, A. Dandekar, S. Goyal, E.J. DePeters. 2008. The influence of addition of gallic acid, tannic acid or quebracho tannins to alfalfa hay on in vitro rumen fermentation and microbial protein synthesis. Anim Feed Sci Technol. 140:444–461.
- Hariadi, B.T. and Santoso, B. 2010. Evaluation of tropical plants containing tannin on *in vitro* methanogenesis and fermentation parameters

- using rumen fluid. *J. Sci. Food and Agric.* 90 (3): 456-461.
- Harun, A.Y. dan K. Sali. 2019. Factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review. *Vet Med Open J.* 4(1): 27-35.
- Hristov, A. N. 2011. Contribution of ammonia emitted from livestock to atmospheric PM2.5 in the United States. *J. Dairy Sci.* 94:3130–3136.
- Hristov, A. N., M. Hanigan, A. Cole, R. Todd, T. A. McAllister, P. M. Ndegwa, and A. Rotz. 2011. Ammonia emissions from dairy farms and beef feedlots: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 91:1–35.
- Kulling, D. R., H. Menzi, T. F. Krober, A. Neftel, F. Sutter, P. Lischer, and M. Kreuzer. 2003. Ammonia, nitrous oxide and methane emissions from differently stored dairy manure derived from grass- and hay-based rations. *Nutrient Cycling in Agro-ecosystems* 65: 13–22,
- Kumalasari, N.R., G. P. Wicaksono, & L. Abdullah. 2017. Plant growth pattern, forage yield, and quality of *Indigofera zollingeriana* influenced by row spacing. *Media Peternakan.* 40(1):14-19.
- Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins Ružić-Muslić, D., M.P. Petrović, M.M. Petrović, Z. Bijelić, V. Caro-Petrović, N. Maksimović, V. Mandić. 2014. Protein source in diets for ruminant nutrition. *J. Biotechnology in Animal Husbandry* 30 (2), p 175-184.
- Menke, K.H., Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28, 7–55.
- Mueller-Harvey, I., 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2010-2037.
- Pathak, A.K. 2008. Various factors affecting microbial protein synthesis in the rumen. Review. *Veterinary World*, Vol.1(6): 186- 189
- Penner G.B., J.R. Aschenbach, G. Gäbel, R. Rackwitz, and M.Oba. 2009. Epithelial capacity for apical uptake of short chain fatty acids is a key determinant for intraruminal pH and the susceptibility to subacute ruminal acidosis in sheep. *J. Nutr.* 139 (9), 1714-1720.
- Russell J.B., J.D. O'Connor, D.G. Fox, P.J. Van Soest and C.J. Sniffen, 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. *J Anim Sci* 70:3551–3561.
- Ružić-Muslić, D., M.P. Petrović, M.M. Petrović, Z. Bijelić, V. Caro-Petrović, N. Maksimović, V. Mandić. 2014. Protein source in diets for ruminant nutrition. *J. Biotechnology in Animal Husbandry* 30 (2), p 175-184.
- Satter, L.D. dan L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *Brit. J. Nutr.* 32:199-208.
- Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.* 18:104-111.
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Rumen* (2nd Ed). Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY. p 476.