

## Uji Efektivitas Saponin Buah *Sapindus rarak* sebagai Inhibitor Metanogenesis secara *In Vitro* pada Sistem Pencernaan Rumen

AMLIUS THALIB

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

### ABSTRACT

THALIB, A. 2004. *In vitro* study of effectiveness of saponin from *Sapindus rarak* fruit as methanogenesis inhibitor on ruminal digestion system. *JITV* 9(3): 164-171.

Methane produced in the rumen system causes the loss of ingested chemical energy, and the methane emitted contributes the greenhouse effect to the atmosphere environment. A study to evaluate the effectiveness of saponin from *Sapindus rarak* fruit as an inhibitor of ruminal methanogenesis was conducted. The method conducted in this study was a fermentation of a substrate by *in vitro* technique using rumen fluid (obtained from fistulated sheep) as inoculum. Substrate (king grass) was fermented in anaerobic incubator system at pH of medium 6.9 and temperature of 39°C for 48 hours. Inoculum was supplemented with an ingredient obtained by extraction of *Sapindus rarak* fruit with methanol (Aksapon SR) and the ones without extraction (*lerak powder*), and further, these treatments were compared to other methanogenesis inhibitors (i.e.  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  and polyunsaturated longchain fatty acids: PULCFA). The treatments were 1). Inoculum without treatment (K); 2). K + Aksapon SR (80  $\text{mg}/_{100}$  ml); 3). K + *lerak powder* (160  $\text{mg}/_{100}$  ml); 4). K +  $\text{Fe}^{3+}$  (0.8  $\text{mg}/_{100}$  ml); 5). K +  $\text{SO}_4^{2-}$  (96  $\text{mg}/_{100}$  ml); 6). K + PULCFA (24  $\text{mg}/_{100}$  ml). Measurements conducted were portion of methane, dry matter digestibility (DMD),  $\text{NH}_3\text{-N}$  content, microbial population, and volatile fatty acids (VFA). The data measured were analyzed by using completely randomized design. The results of the experiment showed that Aksapon SR was the most effective inhibitor of methanogenesis compared to the others, that is when compared to control, Aksapon SR lowered methane production by 31% ( $P < 0.01$ ), and followed by treatments of  $\text{Fe}^{3+}$  (22%) ( $P < 0.05$ ), *lerak powder* (21%) ( $P < 0.05$ ), PULCFA (11%) ( $P > 0.05$ ) and  $\text{SO}_4^{2-}$  (10%) ( $P > 0.05$ ). All additive treatments did not affect the DMD value of the substrate fermented by control inoculum. Compared to control, all treatments lowered the protozoal population where the Aksapon SR gave the strongest effect ( $1.91 \times 10^5$  vs  $9.94 \times 10^5$  cell/ml), and the decrease of protozoal number in Aksapon SR treatment was followed by the increase of bacterial ( $4.13 \times 10^9$  vs  $2.56 \times 10^9$  colony/ml). Aksapon SR and  $\text{SO}_4^{2-}$  did not influence the total VFA production, while lower VFA productions were found on *lerak powder* and  $\text{Fe}^{3+}$  treatments ( $P < 0.05$ ), and the reverse effect was shown by PULCFA ( $P < 0.05$ ). Acetate/propionate ratio was significantly changed by Aksapon SR and *lerak powder* treatments (i.e. 1.37 and 1.33 respectively, vs 2.20). In conclusion, Aksapon SR was the most effective methanogenesis inhibitor compared to the others used in this study, and saponin contained in *Sapindus rarak* fruit could also be used as propionate enhancer.

**Key words:** Saponin, *Sapindus rarak*, methanogenesis, inhibitor

### ABSTRAK

THALIB, A. 2004. Uji efektivitas saponin buah *Sapindus rarak* sebagai inhibitor metanogenesis secara *in vitro* pada sistem pencernaan rumen. *JITV* 9(3): 164-171.

Pembentukan gas metana pada sistem rumen dapat menyebabkan hewan ruminansia mengalami kehilangan sebagian energi kimia yang tercerna, dan gas metana yang diemisikan dapat memberikan kontribusi efek rumah kaca terhadap lingkungan atmosfer. Suatu penelitian mengenai efektivitas saponin buah lerak sebagai inhibitor metanogenesis rumen telah dilakukan. Studi dilakukan dengan metode fermentasi substrat rumput Raja secara *in vitro* dengan menggunakan inoculum cairan rumen dari domba berfistula dalam sistem inkubator secara anaerobik dengan pH media 6,9 pada suhu 39°C selama 48 jam. Inoculum disuplementasi dengan ekstrak buah lerak dengan metanol (Aksapon SR) dan yang tanpa diekstrak (serbuk lerak), dan perlakuan ini dibandingkan dengan zat inhibitor lain yaitu ion  $\text{Fe}^{3+}$  dan  $\text{SO}_4^{2-}$ , dan asam lemak rantai panjang berikatan rangkap banyak (PULCFA). Perlakuan yang diberikan adalah: 1). Inoculum tanpa perlakuan (K); 2). K + Aksapon SR (80  $\text{mg}/_{100}$  ml); 3). K + serbuk lerak (160  $\text{mg}/_{100}$  ml); 4). K +  $\text{Fe}^{3+}$  (0,8  $\text{mg}/_{100}$  ml); 5). K +  $\text{SO}_4^{2-}$  (96  $\text{mg}/_{100}$  ml); 6). K + PULCFA (24  $\text{mg}/_{100}$  ml). Pengukuran yang dilakukan: komposisi gas metana, kecernaan bahan kering,  $\text{N-NH}_3$ , populasi mikroba dan asam-asam lemak volatil (VFA). Data hasil perlakuan dianalisis dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efektivitas Aksapon SR relatif yang tertinggi dibandingkan dengan aditif inhibitor metanogenesis lainnya. Yakni dibandingkan dengan inoculum kontrol, Aksapon SR dapat menurunkan produksi gas metan sebesar 31% ( $P < 0,01$ ), kemudian diikuti berturut-turut oleh  $\text{Fe}^{3+}$  (22%) ( $P < 0,05$ ), serbuk lerak (21%) ( $P < 0,05$ ), PULCFA (11%) ( $P > 0,05$ ) dan  $\text{SO}_4^{2-}$  (10%) ( $P > 0,05$ ). Semua perlakuan tidak berpengaruh terhadap nilai kecernaan bahan kering substrat yang difermentasi oleh inoculum kontrol. Dibandingkan dengan kontrol, semua perlakuan menyebabkan penurunan protozoa, dengan yang tertinggi diperlihatkan oleh perlakuan Aksapon SR ( $1,91 \times 10^5$  vs  $9,94 \times 10^5$  sel/ml), dan penurunan protozoa oleh Aksapon SR ini diikuti dengan peningkatan jumlah bakteri ( $4,13 \times 10^9$  vs  $2,56 \times 10^9$  koloni/ml). Perlakuan Aksapon SR dan  $\text{SO}_4^{2-}$  tidak berpengaruh terhadap produksi VFA total, sementara produksi VFA lebih rendah pada perlakuan serbuk lerak dan  $\text{Fe}^{3+}$  ( $P < 0,05$ ), dan sebaliknya lebih

tinggi pada perlakuan PULCFA ( $P < 0,05$ ). Dibandingkan dengan kontrol, terlihat terjadi perubahan rasio asetat/propionat secara sangat nyata pada perlakuan Aksapon SR dan serbuk lerak (berturut-turut 1,37 dan 1,33 vs 2,20). Disimpulkan dari percobaan ini bahwa Aksapon SR relatif yang paling efektif sebagai inhibitor metanogenesis rumen dibandingkan inhibitor lain yang digunakan dalam studi ini, dan saponin yang terkandung dalam buah lerak sekaligus juga dapat digunakan sebagai pengkaya asam propionat.

**Kata kunci:** Saponin, *Sapindus rarak*, metanogenesis, inhibitor

## PENDAHULUAN

Emisi gas metana oleh hewan ruminansia dapat merugikan hewan itu sendiri dan menyebabkan efek ruang kaca terhadap lingkungan atmosfer. Pembentukan gas metana melalui proses metanogenesis dalam sistem pencernaan rumen, merupakan hasil akhir dari jalur fermentasi makromolekul kimia pakan (FONTY dan MORVAN, 1995). Pada prinsipnya pembentukan gas metana yang utama dalam rumen adalah melalui reduksi  $\text{CO}_2$  oleh  $\text{H}_2$  yang dikatalisis oleh enzim yang dihasilkan oleh bakteri metanogen. Metanogenesis dapat menyebabkan kehilangan energi hingga 15% dari total energi kimia yang tercerna (BOCCAZZI dan PATTERSON, 1995). Pembentukan gas metana melalui jalur metanogenesis rumen berpengaruh besar terhadap pembentukan produk-produk akhir fermentasi di rumen, yakni terutama berpengaruh terhadap jumlah mol ATP yang terbentuk, yang selanjutnya berpengaruh terhadap efisiensi produksi mikroba rumen (PINARES-PATINO *et al.*, 2001). Kontribusi gas metana dari rumen terhadap efek ruang kaca cukup tinggi yakni mencapai sekitar 15–25% dari emisi gas metana global (STEWART, 1999). Sekitar 1150 kg gas metana diemisikan oleh seekor sapi dewasa per tahun (JOHNSON *et al.*, 2001).

Beberapa cara untuk mengurangi kerugian akibat metanogenesis rumen, telah dilaporkan, dan salah satu cara tersebut adalah melalui inhibisi proses metanogenesis pada ternak ruminansia. Pada prinsipnya inhibisi metanogenesis dapat dilakukan secara kimiawi dan mikrobiologis. Beberapa senyawa telah dilaporkan efektif sebagai inhibitor produksi gas metana, seperti senyawa-senyawa asam bromoetanasulfonat (BOCCAZZI dan PATTERSON, 1995), sulfur dan garam feri (BAKER, 1995; OBASHI *et al.*, 1995), antrakinin (KUNG *et al.*, 2003). JOUANY (1991) melaporkan adanya hubungan antara populasi protozoa dan metanogenesis dalam sistem pencernaan rumen bahwa perlakuan defaunasi disamping dapat menghilangkan/menurunkan populasi protozoa rumen, juga dapat menurunkan produk gas metana.

Akhir-akhir ini sudah mulai berkembang pemanfaatan tanaman yang mengandung saponin sebagai alternatif penggunaan bahan-bahan kimia industri/sintetik untuk menekan populasi protozoa dalam rumen (THALIB *et al.*, 1994a; STEWART, 1999; SUPARWI, 2000). Secara kimia saponin memiliki diversifikasi struktur yang luas, dan senyawa-senyawa saponin tertentu dengan sifat surfaktannya dapat

menyebabkan terjadinya lisis pada dinding sel protozoa, dengan demikian dapat digunakan untuk defaunasi protozoa. Beberapa tanaman tropis mengandung saponin dalam jumlah tinggi dan salah satu diantaranya adalah buah lerak (*Sapindus rarak*). Buah *Sapindus rarak* dalam bentuk hasil ekstraksi dengan metanol telah dilaporkan mengandung saponin dengan kadar dua kali lebih tinggi daripada buahnya yang tanpa diekstrak (yakni mencapai 15%) (THALIB *et al.*, 1994a). Penggunaannya sebagai defaunator protozoa rumen dilaporkan sangat efektif (THALIB *et al.*, 1994b; 1996; 1998; 2001). Dalam penelitian ini, ekstrak buah *Sapindus rarak* digunakan untuk menghambat produksi gas  $\text{CH}_4$ , dan efektifitasnya sebagai inhibitor metanogenesis dibandingkan dengan senyawa-senyawa antireduktan dan asam lemak dengan ikatan rangkap banyak berantai panjang (PULCFA).

## MATERI DAN METODE

### Materi pokok yang digunakan

Perangkat peralatan fermentasi yang dilengkapi dengan sistem inkubator secara anaerobik; inokulum (mikroba rumen) dari cairan rumen domba (berfistula) yang diberi pakan rumput Raja + konsentrat 16% protein kasar sebanyak 200 g/hari; serbuk rumput Raja sebagai substrat; inhibitor metanogenesis: serbuk buah lerak (*Sapindus rarak*) dan hasil ekstrak serbuk buah lerak dengan metanol dan inhibitor metanogenesis lainnya dengan mekanisme yang berbeda (yaitu garam feri, garam sulfat, dan asam lemak berantai panjang dengan ikatan rangkap banyak).

Serbuk buah lerak dan produk ekstraknya digunakan perannya sebagai inhibitor metanogenesis melalui mekanisme menghambat pertumbuhan protozoa rumen (*protozoa defaunating agent*). Buah lerak segar diperoleh dari Ungaran, Jawa tengah. Kulit dan daging buah dipisahkan dari bijinya, dikeringkan dalam oven selama 2 hari pada suhu  $60^\circ\text{C}$ , lalu digiling halus (serbuk lerak). Selanjutnya serbuk lerak disiapkan dalam bentuk ekstrak saponin kasar menurut prosedur THALIB *et al.* (1994b), dan dinamakan dengan Aksapon SR. Ion  $\text{Fe}^{3+}$  dan  $\text{SO}_4^{2-}$  digunakan perannya sebagai inhibitor metanogenesis melalui suatu mekanisme bahwa kedua ion ini memiliki nilai  $\Delta G^0_{\text{reduksi}}$  yang lebih negatif daripada  $\text{CO}_2$ , dan kedua senyawa ini digunakan dalam bentuk murni masing-masing sebagai  $\text{FeCl}_3$

anhydrous (Merck) dan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydrous (Merck). Asam lemak berantai panjang dengan ikatan rangkap banyak (PULCFA) digunakan perannya sebagai inhibitor metanogenesis berdasarkan afinitas senyawa ini terhadap hidrogen melalui reaksi hidrogenasi, dan substans ini diperoleh dari minyak jagung. Minyak ditempatkan dalam sebuah botol dan didinginkan dalam lemari pendingin (suhu 5°C) lalu dibiarkan/disimpan hingga 3/4 bagian minyak mengalami pembekuan dan 1/4 bagian yang masih cair diambil untuk digunakan dalam perlakuan sebagai minyak yang diasumsikan mengandung PULCFA dengan kadar tinggi. Asumsi ini berdasarkan bahwa makin banyak ikatan rangkap yang dimiliki oleh suatu asam lemak berantai panjang makin rendah titik beku normalnya.

### Prosedur dan perlakuan fermentasi

Fermentasi substrat (serbuk rumput Raja) dengan cairan rumen sebagai sumber mikroba dilakukan menurut prosedur THEODOROU dan BROOKS (1990) yang dimodifikasi (THALIB *et al.*, 2000). Prosedur mencakup inkubasi substrat selama 48 jam dengan inokulum cairan rumen domba (10 ml) dalam media fermentasi pada pH 6,9 dan suhu 39°C. Komposisi media terdiri dari 86 bagian volume larutan basal dan 4 bagian volume larutan pereduksi. Total volume media dan inokulum 100 ml. Perlakuan inokulum dengan pemberian aditif inhibitor metanogenesis adalah sebagai berikut:

1. Inokulum tanpa aditif (K)
2. K + Aksapon SR (80 mg/100 ml)
3. K + serbuk lerak (160 mg/100 ml)
4. K + Fe<sup>3+</sup> (0,8 mg/100 ml)
5. K + SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (96 mg/100 ml)
6. K + PULCFA (24 mg/100 ml)

Konsentrasi masing-masing aditif yang digunakan dalam perlakuan ini ditetapkan melalui pengujian yang menghasilkan nilai produksi gas CH<sub>4</sub> terendah dalam rentangan konsentrasi untuk Aksapon SR (20–100 mg/100 ml); serbuk lerak (40–200 mg/100 ml); Fe<sup>3+</sup> (0,1-1,6 mg/100 ml); SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (48-384 mg/100 ml); dan PULCFA (6-48 mg/100 ml).

**Tabel 1.** Rataan produksi gas (total, persentase CH<sub>4</sub> dalam volume gas total, dan perbandingan volume CH<sub>4</sub>: volume CO<sub>2</sub>) hasil fermentasi substrat rumput Raja selama 48 jam masa inkubasi

Perlakuan inokulum	Gas total (ml)	V.CH <sub>4</sub> /V.total (%)	V.CH <sub>4</sub> /V.CO <sub>2</sub>
Kontrol (K)	112,70	32,56 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>
K + Aksapon SR	111,49	22,34 <sup>c**</sup>	0,28 <sup>c**</sup>
K + Serbuk lerak	109,43	25,70 <sup>b*</sup>	0,34 <sup>b*</sup>
K + Fe <sup>3+</sup>	107,94	25,53 <sup>b*</sup>	0,34 <sup>b*</sup>
K + SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	118,73	29,25 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>
K + PULCFA	120,59	28,99 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>

Nilai rataan dengan huruf berbeda dalam satu kolom untuk pengamatan yang sama menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan. Terhadap kontrol: (\*\*\*) berbeda sangat nyata (P<0,01) dan (\*) berbeda nyata (P<0,05)

### Parameter/analisis kimia

Komposisi produksi gas CO<sub>2</sub> dan CH<sub>4</sub> dianalisis menurut prosedur TJANDRAATMADJA (1981). Prosedur mencakup penampungan gas hasil fermentasi dengan siring pengukur volume. Dengan sistem konektor T, gas dalam siring tersebut diinjeksikan ke dalam 2 tabung yang dihubungkan secara serial dan keduanya berisi larutan NaOH 6 N, dan selanjutnya gas yang lepas ditampung dengan siring pengukur volume kedua untuk menampung gas CH<sub>4</sub>.

Kecernaan bahan kering *in vitro* (*in vitro* DMD) substrat, dengan prinsip dasar seperti dijelaskan pada paragraf prosedur fermentasi.

Analisis produk hasil fermentasi berupa asam lemak volatil (VFA) dengan khromatografi gas (GC Chrompack CP 9002) dan N-NH<sub>3</sub> dengan cawan Conway (keduanya prosedur baku Balitnak).

Populasi mikroba: populasi protozoa (dengan haemositometer), dan populasi bakteri dengan metode *roll tube* menurut prosedur OGIMOTO dan IMAI (1981).

### Analisis data

Data pengukuran hasil fermentasi substrat (rumput raja) oleh 6 perlakuan inokulum yang terdiri dari 5 buah botol inkubator sebagai ulangan untuk setiap perlakuan, dianalisis berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL). Perbedaan nilai rata-rata antar perlakuan diuji berdasarkan uji beda nyata terkecil (STEEL dan TORRIE, 1980).

### HASIL

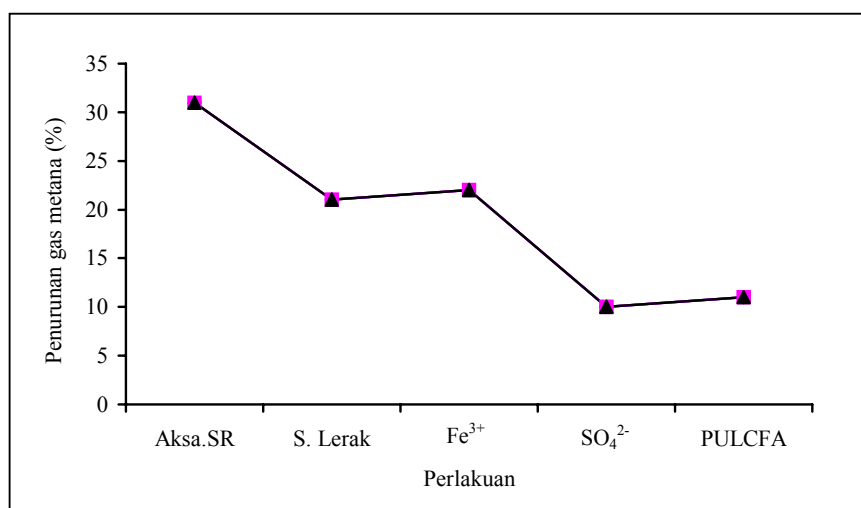
Semua zat yang digunakan dalam perlakuan inokulum diuji sebagai inhibitor metanogenesis, dan berdasarkan data persentase volume gas metana per volume gas total serta rasio volume CH<sub>4</sub>/volume CO<sub>2</sub> (Tabel 1), memperlihatkan bahwa semua zat tersebut (Aksapon SR, serbuk lerak, ion Fe<sup>3+</sup>, ion SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> dan PULCFA) dapat berperan sebagai inhibitor metanogenesis, namun dengan derajat efektivitas yang berbeda. Dibandingkan kontrol, Aksapon SR secara sangat nyata (P<0,01) dapat menurunkan produksi gas

metana, dan dengan derajat efektivitas yang lebih rendah, perlakuan serbuk lerak dan ion feri secara nyata ( $P < 0,05$ ) berpengaruh terhadap penghambatan metanogenesis. Perlakuan ion  $SO_4^{2-}$  dan PULCFA walaupun juga dapat menurunkan produksi gas metana namun tidak nyata ( $P > 0,05$ ). Derajat efektivitas dalam persentase kemampuan masing-masing perlakuan untuk menurunkan produksi gas metan yang dihasilkan oleh inokulum kontrol diperlihatkan dalam Gambar 1.

Terhadap perlakuan inokulum dengan semua zat aditif inhibitor metanogenesis ini dilanjutkan dengan analisis/pengamatan: kecernaan bahan kering substrat; kandungan N-NH<sub>3</sub> dan VFA; populasi protozoa dan bakteri. Hasil analisis memperlihatkan bahwa semua perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata berbeda terhadap hampir semua parameter yang diamati (Tabel 2 dan 3).

Tidak terdapat perbedaan kecernaan bahan kering substrat antar perlakuan ( $P > 0,05$ ) kecuali antara perlakuan ion  $SO_4^{2-}$  dan PULCFA ( $P < 0,05$ ), dan hal yang hampir sama juga terjadi pada produksi gas total (Tabel 1). Kandungan NH<sub>3</sub> yang dihasilkan selama

fermentasi pada semua perlakuan terlihat telah memenuhi kebutuhan minimal sebagai sumber N untuk kebutuhan sintesis sel-sel bakteri (yakni kandungan NH<sub>3</sub> yang diperlukan minimal 50 mg/ml), dan tidak terdapat perbedaan kandungan NH<sub>3</sub> antara semua perlakuan dan kontrol. Namun perlakuan inhibitor Aksapon SR cenderung memperlihatkan kandungan NH<sub>3</sub> yang tertinggi. Semua perlakuan aditif inhibitor metanogenesis menyebabkan terjadi penurunan populasi protozoa dengan tingkat yang berbeda antar perlakuan. Dibandingkan kontrol, perlakuan-perlakuan Aksapon SR, serbuk lerak, ion  $SO_4^{2-}$  dan PULCFA menurunkan populasi protozoa secara sangat nyata ( $P < 0,01$ ), dan secara nyata ( $P < 0,05$ ) oleh perlakuan ion  $Fe^{3+}$ . Penurunan protozoa pada perlakuan Aksapon SR menyebabkan peningkatan populasi bakteri ( $P < 0,05$ ), dan tidak terjadi perbedaan populasi bakteri akibat penurunan protozoa pada perlakuan-perlakuan serbuk lerak dan ion  $Fe^{3+}$ . Sebaliknya penurunan protozoa juga diikuti dengan penurunan bakteri ( $P < 0,05$ ) pada perlakuan-perlakuan ion  $SO_4^{2-}$  dan PULCFA.



**Gambar 1.** Persentase penurunan produksi gas metana hasil fermentasi substrat oleh perlakuan zat inhibitor metanogenesis rumen terhadap kontrol

**Tabel 2.** Rataan kecernaan substrat rumput Raja, kadar N-NH<sub>3</sub>, populasi protozoa dan bakteri selama 48 jam masa inkubasi

Perlakuan inokulum	DMD (%)	N-NH <sub>3</sub> (mg/l)	Protozoa (x 10 <sup>5</sup> sel/ml)	Bakteri (x 10 <sup>9</sup> kol./ml)
Kontrol (K)	49,52 <sup>ab</sup>	62,47 <sup>ab</sup>	9,44 <sup>a</sup>	2,56 <sup>b</sup>
K + Aksapon SR	49,23 <sup>ab</sup>	72,27 <sup>a</sup>	1,91 <sup>d**</sup>	4,13 <sup>a*</sup>
K + Serbuk lerak	48,67 <sup>ab</sup>	62,89 <sup>ab</sup>	3,45 <sup>c**</sup>	2,54 <sup>b</sup>
K + Fe <sup>3+</sup>	48,72 <sup>ab</sup>	55,90 <sup>b</sup>	6,71 <sup>b*</sup>	2,48 <sup>b</sup>
K + SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	47,70 <sup>b</sup>	53,87 <sup>b</sup>	2,08 <sup>d**</sup>	1,60 <sup>c*</sup>
K + PULCFA	50,96 <sup>a</sup>	53,97 <sup>b</sup>	2,60 <sup>cd**</sup>	1,40 <sup>c*</sup>

Nilai rata-rata dengan huruf berbeda dalam satu kolom untuk pengamatan yang sama menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan. Terhadap kontrol: (\*\*) berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) dan (\*) berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Produksi VFA total, asam asetat berbanding asam propionat, dan persentase asam asetat, asam propionat, asam butirrat dan VFA bercabang masing-masing dalam kandungan total produksi VFA seperti yang diperlihatkan dalam Tabel 3. Dibandingkan kontrol (K), produksi VFA total pada perlakuan ion feri dan serbuk lerak lebih rendah ( $P < 0,05$ ), sebaliknya produksi VFA total pada perlakuan PULCFA lebih tinggi ( $P < 0,05$ ), sedangkan produksi VFA total pada perlakuan Aksapon SR dan ion  $SO_4^{2-}$  tidak berbeda. Komponen asam-asam lemak volatil dalam VFA total antar perlakuan menunjukkan komposisi yang variatif. Rasio asam asetat/asam propionat pada perlakuan Aksapon SR dan serbuk lerak lebih rendah dibandingkan kontrol ( $P < 0,01$ ), hal ini sesuai dengan persentase yang diperlihatkan oleh kandungan masing-masing asam asetat dan asam propionat dalam VFA total. Dibandingkan kontrol (K), persentase asam butirrat normal juga lebih rendah ( $P < 0,05$ ) pada perlakuan-perlakuan Aksapon SR dan serbuk lerak, dan kandungan asam butirrat ini pada perlakuan ion  $Fe^{3+}$  lebih rendah lagi ( $P < 0,01$ ) dibandingkan kontrol. Dibandingkan kontrol, kandungan komponen asam-asam lemak volatil bercabang diperlihatkan lebih tinggi pada perlakuan Aksapon SR ( $P < 0,05$ ), sebaliknya lebih rendah pada perlakuan ion feri.

### PEMBAHASAN

Penggunaan Aksapon SR dan serbuk lerak sebagai inhibitor dalam penelitian ini didasarkan pada prinsip yang dinyatakan oleh JOUANY (1991) bahwa terdapat hubungan langsung antara populasi protozoa dan produksi gas metana dalam sistem pencernaan rumen, dan bahwa defaunasi dapat menghambat metanogenesis hingga 45%. Penurunan produksi gas metana akibat

perlakuan Aksapon SR dalam penelitian ini cukup tinggi (Tabel 1), yakni sebesar 31% (Gambar 1). Pengaruh Aksapon SR terhadap produksi gas metana yang jauh lebih tinggi daripada serbuk lerak walaupun dosis perlakuan serbuk lerak telah diperhitungkan memberikan kandungan saponin yang hampir sama dengan Aksapon SR. Hal ini disebabkan karena saponin dalam serbuk lerak relatif berada dalam keadaan tidak bebas karena masih terikat secara fisik dengan senyawa-senyawa lain di dalam sistem sel zat serbuk lerak. Penurunan populasi protozoa dan peningkatan populasi bakteri pada perlakuan Aksapon SR konsisten dengan penelitian sebelumnya (THALIB *et al.*, 1994b; 1996; 1998; 2001).

KURIHARA *et al.* (1978) melaporkan bahwa eliminasi protozoa rumen menyebabkan peningkatan jumlah bakteri amilolitik dan sementara itu COLEMAN dan STANDFORD (1979) mengemukakan bahwa populasi protozoa berukuran besar merupakan predator bakteri selulolitik. Dengan demikian pada rumen yang terdefaunasi terjadi peluang peningkatan aktivitas sekawanan bakteri amilolitik-metanogen dalam sistem pencernaan rumen yang menurut laporan KIRCHGESSNER *et al.* (1995) bahwa konsorsium bakteri amilolitik-metanogen menghasilkan lebih banyak asam propionat dan lebih sedikit gas metana. Disamping itu menurut SMOLENSKI dan ROBINSON (1988) sejumlah bakteri metanogen hidup dalam rumen dengan cara menempel di permukaan dinding sel protozoa, yang dalam hal ini tentu dapat menyebabkan populasi metanogen akan menurun dalam rumen yang terdefaunasi karena kehilangan sebagian habitatnya. Jadi dengan demikian penurunan produksi gas metan pada perlakuan Aksapon SR dan serbuk lerak dapat dinyatakan berkaitan dengan terjadinya penurunan populasi protozoa.

**Tabel 3.** Rataan nilai kandungan VFA total,  $C_2/C_3$ , dan komposisi VFA, hasil fermentasi substrat rumput Raja selama 48 jam inkubasi

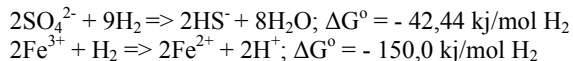
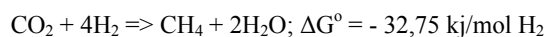
Perlakuan inokulum	VFA total (mg/100 ml)	C <sub>2</sub> /C <sub>3</sub>	Komposisi VFA (%)				
			C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	n-C <sub>5</sub>	i-C
Kontrol (K)	361,75b	2,20ab	60,42a	27,41b	8,94a	1,03	2,20b
K + Aks.SR	352,73b	1,37d**	51,93b*	37,83a*	7,66bc*	ND	2,58a*
K + S. lerak	276,76cd*	1,33d**	50,94b*	38,40a*	7,18c*	1,05	2,42ab
K + $Fe^{3+}$	210,63de*	2,49a	66,69a	26,78b	4,63d**	ND	1,89c*
K + $SO_4^{2-}$	324,42bc	2,14bc	60,78a	28,37b	8,64ab	ND	2,20b
K + PULCFA	492,17a*	2,01bc	58,32ab	29,07b	9,43a	1,06	2,12bc

1. Nilai rata-rata dengan huruf yang berbeda dalam satu kolom untuk pengamatan yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan. Terhadap kontrol: (\*\*) berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) dan (\*) berbeda nyata ( $P < 0,05$ )
2. C<sub>2</sub> = asam asetat; C<sub>3</sub> = asam propionat; C<sub>4</sub> = asam butirrat; C<sub>5</sub> = asam valerat; i-C = (iso- C<sub>4</sub>+ isoC<sub>5</sub>)
3. ND = tidak terdeteksi

Berbeda dengan penelitian sebelumnya (THALIB *et al.*, 1996) bahwa Aksapon SR tidak berpengaruh terhadap pencernaan bahan kering substrat (Tabel 2). Hal ini diduga karena perbedaan komposisi mikroba rumen dari domba yang digunakan sebagai inokulum, bahwa domba yang digunakan dalam penelitian ini memperoleh rumput Raja secara *ad lib* dan konsentrat GT 03 (protein 16%) 200 g/ekor/hari, sedangkan domba dalam penelitian sebelumnya (THALIB *et al.*, 1996) memperoleh campuran rumput Gajah dan rumput lapangan (50 : 50) secara *ad lib* dan konsentrat GT 03 (protein 16%) 50 g/ekor/hari. Perbedaan komposisi pakan yang diberikan dengan penelitian sebelumnya mungkin juga menjadi penyebab produksi N-NH<sub>3</sub> yang lebih tinggi pada perlakuan Aksapon SR (Tabel 2). Namun demikian BIRD *et al.* (1979) yang dikutip dalam BIRD and LENG (1984) melaporkan bahwa kandungan NH<sub>3</sub> dalam cairan rumen domba yang didefaunasi jauh lebih rendah daripada dalam rumen domba yang tidak terdefaunasi.

Konsisten dengan penelitian sebelumnya (THALIB *et al.*, 1996) bahwa Aksapon SR dalam penelitian ini tidak berpengaruh terhadap produksi VFA total, namun berbeda dengan USHIDA dan KOJIMA (1991) dimana mereka mendapatkan kandungan VFA lebih tinggi bila terdapat populasi protozoa dibandingkan dengan rumen didefaunasi secara total. Teknik defaunasi tidak sama dimana defaunasi yang dilakukan dalam penelitian ini dan dalam penelitian-penelitian sebelumnya (THALIB *et al.*, 1994b; 1996; 1998; 2001) adalah defaunasi parsial sehingga peranan protozoa tidak dieliminasi secara total. Pengaruh perlakuan Aksapon SR dan serbuk lerak terhadap komposisi asam-asam lemak volatil terlihat adanya hubungan antara gas metana dan komposisi VFA (Tabel 1 dan Tabel 3), dan hubungan ini sesuai dengan studi SAUVANT *et al.* (1995). Dikatakan (SAUVANT *et al.*, 1995) bahwa transformasi karbon menjadi gas metana melalui fermentasi asam propionat rendah sebaliknya tinggi bila terjadi melalui jalur fermentasi asam asetat dan butirat. Produksi komponen asam lemak volatil bercabang yang lebih tinggi pada perlakuan Aksapon SR (Tabel 3) memberikan keuntungan bagi bakteri guna memenuhi kebutuhan nutrisi dalam proses pertumbuhan/berkembang biak khususnya bakteri selulolitik, sebagaimana dikemukakan oleh BRYANT (1973) bahwa bakteri selulolitik memerlukan nutrisi asam lemak volatil bercabang untuk biosintesis asam-asam amino.

Penurunan produksi gas metana oleh perlakuan ion feri dan ion sulfat sejalan dengan tingkat energi yang dibebaskan pada proses reduksi gas CO<sub>2</sub> menjadi CH<sub>4</sub>; reduksi ion Fe<sup>3+</sup> menjadi Fe<sup>2+</sup> dan reduksi ion SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> menjadi HS<sup>-</sup> (berdasarkan perhitungan dengan menggunakan data ΔG<sup>o</sup><sub>f</sub> dari SI chemical data (AYLWARD dan FINDLAY, 1972).



Hasil perhitungan ini memperlihatkan bahwa reduksi ion Fe<sup>3+</sup> menjadi Fe<sup>2+</sup> lebih eksergonik daripada reduksi ion SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> menjadi HS<sup>-</sup> dan reduksi ion SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> lebih eksergonik daripada reduksi CO<sub>2</sub> menjadi CH<sub>4</sub>. Dengan demikian reaksi reduksi CO<sub>2</sub> membentuk CH<sub>4</sub> mampu diambil alih oleh reaksi reduksi SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> dan Fe<sup>3+</sup> dengan reduktor H<sub>2</sub>. Penurunan gas metana dalam produksi gas total (Tabel 1) sejalan dengan hasil perhitungan ini. Namun penurunan produksi gas metana oleh perlakuan ion SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> tidak nyata. Hal ini dapat dimengerti karena nilai ΔG<sup>o</sup> reaksi antara reduksi SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> dan CO<sub>2</sub> tidak jauh berbeda. Hubungan perhitungan ini dengan produksi VFA total pada perlakuan-perlakuan ion Fe<sup>3+</sup> dan SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (Tabel 3) mungkin terkait dengan ketersediaan atom C (dari CO<sub>2</sub>) dalam pembentukan asam-asam lemak volatil, namun mekanismenya belum dimengerti.

Asam-asam lemak rantai panjang tidak jenuh berganda (PULCFA) berpotensi untuk bereaksi dengan H<sub>2</sub> melalui proses reaksi adisi. Hal ini sebagaimana terlihat (Tabel 1) bahwa walaupun tidak nyata tapi PULCFA cenderung dapat menurunkan produksi gas metana. Produksi VFA total yang lebih tinggi pada perlakuan PULCFA menguntungkan bagi hewan semang karena asam-asam lemak volatil dapat langsung dimanfaatkan sebagai sumber energi. Penurunan protozoa pada perlakuan PULCFA yang juga diikuti oleh penurunan bakteri sesuai dengan laporan MACZULAC *et al.* (1986) yang dikutip dalam LUBIS *et al.* (1998).

## KESIMPULAN

Disimpulkan dari percobaan ini bahwa Aksapon SR menunjukkan efektivitas yang tertinggi untuk menekan produksi gas metana dalam sistem pencernaan rumen dibandingkan dengan zat-zat lain yang digunakan. Inhibisi metanogenesis oleh Aksapon SR memperlihatkan pola rasio gas metan rendah propionat tinggi. Peran Aksapon SR dan serbuk lerak sebagai inhibitor metanogenesis terkait mekanismenya dengan kandungan komponen saponin yang bersifat defaunator protozoa. Aksapon SR maupun serbuk lerak juga dapat digunakan sebagai pengkaya asam propionat (*propionate enhancer*).

## DAFTAR PUSTAKA

- AYLWARD, G.H. and T.J.V. FINDLAY. 1972. SI Chemical data. John Wiley & Sons Australia PTY. LTD. Sydney.
- BAKER, S.K. 1995. Competition for hydrogen in the rumen. Satellite symposium of IV<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores. Clermont-Ferrand., France, September 16-17, 1995. p. 41.
- BIRD, S.H. and R.A. LENG. 1984. Further studies on the effects of the presence or absence of protozoa in the rumen on live-weight gain and wool growth of sheep. *Brit. J. Nut.* 52: 607-611.
- BRYANT, M.P. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Federation Proc.* 32: 1809-1813.
- BOCCAZZI, P. and J.A. PATTERSON. 1995. Potential for functional replacement of methanogenic bacteria by acetogenic bacteria in the rumen environment. IV<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores.. Clermont-Ferrand, France, September 16-17, 1995 p. 43.
- COLEMAN, G. S. and D. C. STANFORD. 1979. The engulfment and digestion of mixed rumen bacteria and individual bacterial species by single and mixed species of rumen ciliate protozoa grown *in vivo*. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 92: 729-742.
- LUBIS, D., E. WINA dan B.E. RUBIONO. 1998. Laju pertumbuhan domba yang diberi ransum berkadar lemak tinggi. *JITV* 3: 143-148.
- FONTY, G. and B. MORVAN. 1995. Ruminal methanogenesis and its alternatives. Sattelite Symposium of IV<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores. Clermont-Ferrand., France, September 16-17, 1995. pp. 34-40.
- JOHNSON, D.E., A. F. SEIDL and H.W. PHETTEPLACE. 2001. Methane, nitrous oxide and carbon dioxide emissions from U.S. beef production systems. *In: Energy Metabolism in Animals. A. CHWALIBOG and K. JACOBSON (Eds.)*. Proc. of The 15<sup>th</sup> Symposium on Energy Metabolism in Animals. EAAAP Publ., no. 103, Denmark. pp. 161-164.
- JOUANY, J.P. 1991. Defaunation of the rumen. *In: Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. J. P. JOUANY (Ed.)*. INRA. pp. 239-261.
- KIRCHGESSNER, M., W. WINDISCH and H.L. MULLER. 1995. Nutritional factors for the quantification of methane production. *In: Ruminant Physiology, Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. W.V. ENGELHARDT, S. LEONHARDT-MAREK, G. BREVES and D. GIESEKE (Eds.)*. Proc. 8<sup>th</sup> International Symposium Ruminant Physiology. Ferdinande Enke Verlag. Stuttgart. pp. 333-348.
- KUNG JR, L., K.A. SMITH, A.M. SMAGALA, K.M. ENDRES, C. A. BESSETT, N.K. RANJIT and J. YAISSE. 2003. Effects of 9, 10 anthraquinone on ruminal fermentation, total-tract digestion, and blood metabolite concentrations in sheep. *J. Anim. Sci.* 81: 323-328.
- KURIHARA, Y., T. TAKECHI and F. SHIBATA. 1978. Relationship between bacteria and ciliate protozoa in the rumen of sheep fed on purified diet. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 90: 373-381.
- OBASHI, Y., K. USHIDA, K. MIYASAKI and K. KOJIMA. 1995. Effect of initial sulfate level on electron partition between methanogenesis and sulfate reduction in the rumen. Satellite Symposium of IV<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores. Clermont-Ferrand., France, September 16-17, 1995. p. 42.
- OGIMOTO, K. and S. IMAI. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. *Jap. Sci. Soc. Press*, Tokyo.
- PINARES-PATINO, C., M.J. ULYAT, C.W. HOLMES, T.N. BARRY and K.R. LASSEY. 2001. Some rumen digestion characteristics and methane emission in sheep. *In: Energy Metabolism in Animals. A.CHWALIBOG and K. JACOBSON (Eds.)*. Proc. of The 15<sup>th</sup> Symposium on Energy Metabolism in Animals. EAAAP Publ. no. 103, Denmark. p. 117-120.
- SAUVANT, D., J. DIJKSTRA and D. MERTENS. 1995. Optimization of ruminal digestion: a modeling approach. *In: Recent Developments in The Nutrition of Herbivores. M. JOURNET, E. GRENET, M-H, FARCE, M. THERIEZ and C. DEMARQUILLY (Eds.)*. Proc. of the IV<sup>th</sup> International Symposium on the Nutrition of Herbivores, Clermont-Ferrand, France, September 11-15, 1995. pp. 143-165.
- SMOLENSKI, W.J. and J.A. ROBINSON. 1988. *In situ* rumen hydrogen concentrations in steers fed eight times daily, measured using a mercury reduction detector. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53: 95-100
- STEEL, R.G.D and J.H. TORRIE. 1980. Principles and Procedures of Statistic. A Biometrical Approach. McGraw Hill Int. Book Co., Singapore.
- STEWART, C.S. 1999. Microbial interactions in the rumen and their potential impact on the survival of *Escherichia coli* 0157. *In: The Rumen Microbial Ecosystem C.R. BELL, M. BRYLINKSKY and P. JOHNSON-GREEN (Eds.)*. Proc. of The 8<sup>th</sup> International Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. Ilalifax, Canada.
- SUPARWI. 2000. Pengaruh minyak kelapa dan kembang sepatu (*Hibiscus rosasinensis*) terhadap pencernaan ransum dan jumlah protozoa. *J. Prod. Ternak* 2(2): 53-59.
- THALIB, A., B. HARYANTO, H. HAMID, D. SUHERMAN dan MULYANI. 2001. Pengaruh kombinasi defaunator dan probiotik terhadap ekosistem rumen dan performans ternak domba. *JITV* 6: 83-88.
- THALIB, A., B. HARYANTO, S. KOMPIANG, I.W. MATHIUS dan A. AINI. 2000. Pengaruh mikromineral dan fenilpropionat terhadap performans bakteri selulolitik cocci dan batang dalam mencerna serta hijauan pakan. *JITV* 5: 92-99.
- THALIB, A., D. DEVI, Y. WIDIAWATI dan Z.A. MAS'UD. 1998. Efek kombinasi defaunator dengan faktor pertumbuhan

- mikroba terhadap pencernaan ruminal jerami padi. *JITV* 3: 171-175.
- THALIB, A., D. SUHERMAN, H. HAMID, M. WINUGROHO dan M. SABRANI. 1994a. Buah lerak (*Sapindus rarak* DC) dan prospek pemanfaatannya pada ruminan. Pros. Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian. Sub-Balitnak Klepu. Semarang, 8-9 Februari 1994. hlm. 645-655.
- THALIB, A., M. WINUGROHO, M. SABRANI, Y. WIDIAWATI dan D. SUHERMAN. 1994b. Penggunaan ekstrak methanol buah lerak (*Sapindus rarak* DC.) untuk menekan pertumbuhan protozoa dalam rumen. *Ilmu dan Peternakan* 7(2): 17-21.
- THALIB, A., Y. WIDIAWATI, H. HAMID, D. SUHERMAN and M. SABRANI. 1996. The effects of saponin from *Sapindus rarak* fruit on rumen microbes and performance of sheep. *JITV* 2: 17-21.
- TJANDRAATMADJA, M. 1981. Anaerobic Digestion of Fibrous Materials. A Thesis of Master of Agricultural Science. University of Melbourne, Australia.
- THEODOROU, M.K and A.E. BROOKS. 1990. Evaluation of a New Laboratory Procedure for Estimating the Fermentation Kinetic of Tropical Feeds. Annual Report AFRC Institute, Hurley, Maidenhead, UK.
- USHIDA, K. and Y. KOJIMA. 1991. Effect of defaunation and refaunation of rumen on cellulolytic activity *in vitro* with or without ammonia supplementation. *Can. J. Anim. Sci.* 71: 913-917.