

# Pengaruh Penambahan Daun *Morinda citrifolia* sebagai Sumber Saponin terhadap Karakteristik Fermentasi, Defaunasi Protozoa, Produksi Gas dan Metana Cairan Rumen secara *In Vitro*

HENDRA HERDIAN<sup>1</sup>, L. ISTIQOMAH<sup>1</sup>, A. FEBRISANTOSA<sup>1</sup> dan D. SETIABUDI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UPT Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia LIPI

<sup>2</sup>Fakultas Biologi Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta

(Diterima dewan redaksi 21 April 2011)

## ABSTRACT

HERDIAN, H., L. ISTIQOMAH, A. FEBRISANTOSA and D. SETIABUDI. 2011. Effect of *Morinda citrifolia* leaf as saponin sources on fermentation characteristic, protozoa defaunated, gas and methane production of ruminal fluid *in vitro*. *JITV* 16(2): 98-103.

Many studies have reported that the *Morinda citrifolia* (pace plant) was a useful material for human health. However the exploration of this plant on rumen fermentation is still needed. Therefore, a research was done to study the effect of *M. citrifolia* leaf on fermentation characteristics of rumen fluid consisted of protozoa defaunated process, VFA composition, NH<sub>3</sub> content, rumen microbial protein content, gas and methane production using *in vitro* techniques. Rumen fluid obtained from two fistulated Ongole crossbreed cattle fed with forage and concentrate feed ration (70 : 30). The fluid was incubated at 39°C for 48 hours. The treatment on the rumen fluid consisted of control treatment: 100% (200 mg DM) kolonjono forage substrate (*Penisetum purpureum*) and *M. citrifolia* treatments: kolonjono forage plus *M. citrifolia* (equivalent saponin) 3; 6; 9; and 12 mg DM, respectively. The treatment of *M. citrifolia* leaf addition showed declined patterns in the number of protozoa population ( $P < 0.05$ ) compared to control. There was no effect of *M. citrifolia* treatment on VFA composition and NH<sub>3</sub> content ( $P > 0.05$ ). Microbial protein content in rumen fluid increased ( $P < 0.05$ ) by *M. citrifolia* treatments compared to control. Effect of *M. citrifolia* treatments on the gas production was not significantly different ( $P > 0.05$ ) compared to control, while *M. citrifolia* treatments reduced the methane gas production of ( $P < 0.05$ ) compared to control. It was concluded that *M. citrifolia* leaf has potential as a limiting agent of protozoa population and methane gas production in rumen.

**Key Words:** *M. citrifolia*, Defaunated, Saponin, In Vitro

## ABSTRAK

HERDIAN, H., L. ISTIQOMAH, A. FEBRISANTOSA dan D. SETIABUDI. 2011. Pengaruh penambahan daun *Morinda citrifolia* sebagai sumber saponin terhadap karakteristik fermentasi, defaunasi protozoa, produksi gas dan metana cairan rumen secara *in vitro*. *JITV* 16(2): 98-103.

Penggunaan tanaman pace *Morinda citrifolia* untuk keperluan kesehatan manusia sudah banyak dilaporkan, sedangkan penggunaannya sebagai bahan pakan ternak ruminansia khususnya sebagai agen manipulator kondisi fermentasi rumen belum banyak dilaporkan. Pada penelitian ini dilakukan pengaruh penambahan daun pace *Morinda citrifolia* terhadap karakteristik fermentasi cairan rumen yang mencakup proses defaunasi protozoa, komposisi VFA, kandungan NH<sub>3</sub>, kandungan protein mikroba rumen, produksi gas dan metana secara *in vitro*. Cairan rumen diperoleh dari dua sapi Peranakan Ongole berfistula yang diberi pakan dengan ransum pakan hijauan dan konsentrat (70:30). Cairan diinkubasi pada suhu 39°C selama 48 jam. Perlakuan yang diberikan kepada cairan rumen terdiri dari kontrol berupa pemberian substrat hijauan kolonjono (*Penisetum purpureum*) sebesar 100% (200 mg BK) dan perlakuan penambahan daun *M. citrifolia* (ekuivalen saponin) berturut turut: 3; 6; 9 dan 12 mg BK. Perlakuan penambahan daun pace menunjukkan penurunan jumlah populasi protozoa ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol. Tidak ada efek perlakuan *M. citrifolia* pada komposisi VFA dan kandungan NH<sub>3</sub> ( $P > 0,05$ ). Kandungan protein mikroba dalam cairan rumen meningkat ( $P < 0,05$ ) dengan penambahan *M. citrifolia* dibandingkan dengan kontrol. Penambahan *M. citrifolia* tidak berpengaruh terhadap produksi gas ( $P > 0,05$ ), namun penambahan *M. citrifolia* menurunkan produksi gas metana ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol. Disimpulkan bahwa daun pace *M. citrifolia* memiliki potensi sebagai agen pembatas populasi protozoa dan produksi metana dalam rumen.

**Kata Kunci:** *M. citrifolia*, Defaunasi, Saponin, In Vitro

## PENDAHULUAN

Manipulasi kondisi fermentasi rumen untuk memperbaiki performa ternak khususnya untuk keperluan peningkatan efisiensi produksi sudah

diketahui dan dilakukan cukup lama. Perkembangan lebih lanjut menunjukkan bahwa selain untuk peningkatan produksi pada ternak ruminansia, proses ini juga berkaitan dengan perbaikan kondisi lingkungan melalui proses pengurangan emisi gas metana enterik

yang berpengaruh terhadap pemanasan global. Akhir-akhir ini manipulasi kondisi fermentasi rumen berbasis bahan antibiotika mulai ditinggalkan seiring adanya kesadaran akan bahaya residu yang ditinggalkan oleh bahan tersebut ke dalam produk ternak yang dihasilkannya. Uni Eropa telah melarang penggunaan antibiotik sebagai *growth promotor* sejak tahun 2003 dan berlaku efektif mulai tahun 2006. Alternatif yang banyak dikembangkan untuk mengatasi hal tersebut adalah melalui penggunaan bahan organik berasal dari tumbuhan yang memiliki fungsi medis terutama untuk ternak, teknik ini dikenal sebagai fitoterapi (HOFFMANN *et al.*, 2008). Beberapa tanaman sumber saponin seperti teh (HU *et al.*, 2005), akasia (SANTOSO dan HARIADI, 2007), buah-buahan tropik (HESS *et al.*, 2003), rumput kebar (SANTOSO *et al.*, 2007) telah terbukti memiliki kemampuan memanipulasi kondisi fermentasi rumen seperti menurunkan populasi protozoa, meningkatkan protein mikroba, dan menurunkan produksi metana.

Tanaman pace (*Morinda citrifolia*) sudah dikenal lama memiliki khasiat terapeutik untuk manusia seperti anti mikroba, anti fungal, anti protozoa, anti diabetes, dan anti oksidan (ADNYANA *et al.*, 2004; GAUTAM *et al.*, 2007; MESIA *et al.*, 2008; JAINKITTIVONG *et al.*, 2009). Pada penelitian ini dikaji pengaruh penambahan daun *M. citrifolia* terhadap karakteristik fermentasi rumen yaitu populasi protozoa, komposisi VFA, kandungan protein mikroba, kandungan NH<sub>3</sub>, produksi gas dan metana.

## MATERI DAN METODE

### Bahan substrat dan contoh bahan perlakuan

Rumput kolonjono (*P. purpureum*) sebagai substrat dan daun *M. citrifolia* sebagai contoh bahan perlakuan yang dipergunakan diperoleh dari lahan UPT BPPTK LIPI Yogyakarta. Contoh bahan dipotong-potong, dikeringkan di dalam oven pada suhu 55°C selama 72 jam, setelah itu dihancurkan menggunakan blender dan disaring melewati saringan 1 mm. Contoh bahan kemudian dianalisis untuk mengetahui kandungan nutrisinya. Kandungan protein kasar, lemak, serat kasar, BETN, dan abu dianalisis menggunakan metode AOAC (1990), saponin kasar dan total phenol dianalisis menggunakan prosedur STAHL (1985) dan metode folin-ciocalteu dari MAKAR *et al.* (1993).

### Ternak donor

Cairan rumen merupakan cairan rumen komposit yang diperoleh dari dua ekor sapi Peranakan Ongole berfistula yang diberi ransum (perbandingan hijauan dan konsentrat = 70:x30) dengan kandungan protein kasar sebesar 11,32% dan TDN 67%. Komposisi

konsentrat terdiri dari: polar, bekatul, molasses, urea, garam dan mineral. Hijauan yang diberikan yaitu rumput kolonjono. Ransum diberikan sebanyak dua kali dalam satu hari dengan jumlah total pemberian dibatasi sebesar 3% dari bobot hidup. Cairan rumen dikumpulkan sebelum sapi diberi makan dan cairan tersebut diambil menggunakan aspirator. Disaring menggunakan tiga lapis kain blacu. Cairan dimasukkan ke dalam termos yang telah diberi air hangat sebelumnya dengan suhu 39°C, ditutup untuk menjaga kondisi anaerobik, kemudian dibawa ke laboratorium untuk disiapkan sebagai bahan penelitian.

### Perlakuan dan rancangan percobaan

Desain eksperimen penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap 5 perlakuan dan 3 ulangan dengan uraian perlakuan sebagai berikut:

1. 200 mg *P. purpureum*
2. 200 mg *P. purpureum* + *M. citrifolia* A
3. 200 mg *P. purpureum* + *M. citrifolia* B
4. 200 mg *P. purpureum* + *M. citrifolia* C
5. 200 mg *P. purpureum* + *M. citrifolia* D

A = setara saponin 3 mg BK

B = setara saponin 6 mg BK

C = setara saponin 9 mg BK

D = setara saponin 12 mg BK

Pengaruh perlakuan dianalisis menggunakan uji keragaman (ANOVA) dan perbedaan antar perlakuan dianalisis menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (GOMEZ dan GOMEZ, 1984).

### Pengukuran populasi protozoa

Perhitungan protozoa menggunakan MFS (*Methylgreen Formalin Salin*) solution dengan komposisi formaldehid (35%) 20 ml; aquades 180 ml; methylgreen 0,12 g; NaCl 1,6 g. Sebanyak 1 ml sub sampel cairan rumen ditambahkan 5 ml larutan MFS, setelah itu cairan rumen dihitung jumlah protozoanya menggunakan hemositometer di bawah mikroskop.

### Pengukuran komposisi VFA

Cairan rumen yang ada dalam *syringe* diambil sub sampel untuk analisis komposisi VFA. Pengukuran VFA dilakukan menurut metode SANTOSO *et al.* (2007) menggunakan Gas Chromatography (Shimadzu tipe A-8).

### Pengukuran kandungan NH<sub>3</sub>

Penentuan konsentrasi NH<sub>3</sub> dalam rumen dilakukan menggunakan metode CHANEY dan MARBACH (1961).

### Pengukuran kandungan protein mikroba

Pengukuran mikroba cairan rumen menggunakan prinsip sentrifugasi bertahap modifikasi dari MAKKAR *et al.* (1982). Subsampel cairan rumen disaring menggunakan dua lapis kain blacu. Sebanyak 5 ml cairan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 500 g selama 10 menit untuk memisahkan komponen protein pakan dan mikroba rumen, setelah itu supernatan diambil dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 10.000 g selama 15 menit. Endapan yang diambil kemudian dianalisis kandungan proteinnya menggunakan metode Lowry.

### Produksi gas dan metana

Pengukuran secara *in vitro* sesuai dengan MENKE dan STEINGASS (1988). Fermentasi dilakukan dalam *syringe glass* ukuran 100 ml (model Fortuna, Poulten dan Graft GmbH Germany). Sebanyak 200 mg (BK) substrat rumput kolonjono ditambah kombinasi perlakuan penambahan daun *M. citrifolia* dimasukkan ke dalam *syringe* dan diinkubasi selama satu malam di dalam inkubator pada suhu 39°C. Kemudian bersamaan dengan dialirkannya gas CO<sub>2</sub>, ditambahkan campuran cairan rumen dengan medium campuran sebanyak 30 ml dengan perbandingan (1:2) ke dalam *syringe*. Selain perlakuan di atas ditambahkan juga perlakuan blanko dengan *syringe* yang hanya berisi cairan rumen dan medium campuran tanpa substrat. Semua perlakuan diulang tiga kali. Inkubasi kemudian dilanjutkan selama 48 jam pada suhu 39°C. Pengukuran produksi gas dilakukan pada jam ke-0, 3, 6, 12, 24 dan 48. Pada jam ke-12 dilakukan pelepasan gas dan diambil sampel gas dengan *syringe* plastik sebanyak 5 ml untuk analisis kandungan metana. Setelah 48 jam inkubasi produksi gas diukur dan sampel gas diambil untuk analisis metana sisa gas dilepaskan. Pengukuran gas metana menggunakan Gas Chromatography (Shimadzu GC 14 B).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan nutrisi rumput *P. purpureum* dan daun *M. citrifolia* disajikan pada Tabel 1. Kadar saponin kasar daun *M. citrifolia* yang dipergunakan lebih tinggi dari kadar saponin dari *S. saponaria* 12,0% (HESS *et al.*, 2003), konsentrasi saponin yang cukup tinggi ini berpotensi untuk menurunkan produksi metana pada ternak ruminansia seperti yang dilaporkan MAO *et al.*

(2010). Kadar protein kasar *M. citrifolia* 22,83% bahan organik (BO) sudah melebihi kadar optimum protein yang dibutuhkan untuk aktivitas fermentasi mikroba rumen seperti yang disyaratkan BEEVER dan COTTRILL (1994) sebanyak 18,75% BO. Peningkatan kadar protein dalam pakan ruminansia dapat meningkatkan suplai protein mikroba dan juga asupan pakan (CHAKEREDZA *et al.*, 2002).

**Tabel 1.** Kandungan nutrisi rumput *P. purpureum* dan daun *M. citrifolia*

	<i>P. purpureum</i>	<i>M. citrifolia</i>
	-----% BK -----	
Protein kasar	13,80	21,04
Lemak	4,51	6,37
Serat kasar	31,72	20,02
BETN	38,14	33,87
Abu	11,83	7,85
Total phenol	7,55	11,22
Saponin kasar	8,01	19,82

### Karakteristik fermentasi

Respon taraf penambahan *M. citrifolia* yang berbeda terhadap jumlah protozoa, kandungan VFA, kandungan protein cairan rumen, kandungan NH<sub>3</sub> dapat dilihat pada Tabel 2. Populasi protozoa dalam medium inkubasi menurun secara nyata ( $P < 0,05$ ) sebagai akibat penambahan daun *M. citrifolia*. Nilai yang lebih rendah diperoleh pada tingkat penambahan 6-12 mg daun *M. citrifolia*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian HU *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa efek penambahan ekstrak saponin dari teh (0,2-0,4 mg/ml) menurunkan populasi protozoa cairan rumen. Hal yang sama dilaporkan oleh SANTOSO *et al.* (2007), yang menunjukkan penurunan populasi protozoa cairan rumen kambing akibat penambahan saponin dari *Biophytum petersianum* (13-26 mg/kg BH). Pengaruh penurunan populasi protozoa ini disebabkan terjadinya mekanisme gangguan terhadap protozoa sebagai akibat terjadinya ikatan antara saponin dengan sterol yang terdapat pada permukaan protozoa. Mekanisme ini tidak terjadi pada bakteri karena bakteri tidak memiliki sterol pada membrannya (FRANCIS *et al.*, 2002). Ikatan ini akan mengubah permeabilitas membran sel (PATRA *et al.*, 2006).

**Tabel 2.** Jumlah protozoa, kandungan VFA, kandungan protein cairan rumen dan kandungan NH<sub>3</sub> pada taraf *M. citrifolia* yang berbeda

Variabel	Taraf <i>M. citrifolia</i> (mg)					SE
	0	3	6	9	12	
Jumlah protozoa (10 <sup>3</sup> /ml)	450,00 <sup>a</sup>	405,00 <sup>a</sup>	240,00 <sup>b</sup>	262,50 <sup>b</sup>	210,00 <sup>b</sup>	26,21
VFA (mMol)						
Asetat	12,95	11,56	11,95	14,32	12,97	0,67
Propionat	2,80	1,80	2,20	2,77	2,11	0,24
Butirat	1,97	2,08	2,26	2,11	1,94	0,14
Kandungan protein cairan rumen (mg/ml)	65,89 <sup>b</sup>	68,40 <sup>b</sup>	73,42 <sup>a</sup>	77,18 <sup>a</sup>	76,34 <sup>a</sup>	1,30
Kandungan NH <sub>3</sub> cairan rumen (mg/100 ml)	67,43	68,27	66,60	65,40	65,50	0,51

Superskrip a,b yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ); SE = *standard error*

Penurunan populasi protozoa berpengaruh terhadap utilisasi N diet dan sintesis protein mikroba intra rumen sehingga penurunan populasi protozoa akan meningkatkan ketersediaan N ke saluran pencernaan (JOUANY, 1996). Hal ini tercermin dari nilai kandungan protein mikroba cairan rumen yang meningkat ( $P < 0,05$ ) seiring dengan kenaikan level *M. citrifolia*. Hasil tertinggi kandungan protein mikroba diperoleh dari penambahan *M. citrifolia* pada level 6-12 mg. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian HU *et al.* (2005) yang menunjukkan pengaruh penambahan ekstrak saponin teh pada level 0,2-0,4 mg meningkatkan kandungan protein mikroba cairan rumen faunasi dan defaunasi *in vitro*.

Kandungan NH<sub>3</sub> rumen merupakan pencerminan dari aktivitas degradasi protein pakan dan *endogenous* protein oleh mikrobia rumen melalui mekanisme keseimbangan N dari tubuh ternak. Pada penelitian ini penambahan daun *M. citrifolia* tidak nyata ( $P > 0,05$ ) meningkatkan kandungan NH<sub>3</sub>. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas bakteri proteolitik tidak terpengaruh oleh penambahan *M. citrifolia*. Terdapat bukti bahwa perubahan kandungan NH<sub>3</sub> sangat dipengaruhi oleh perubahan kandungan karbohidrat dari pakan. ÖZTÜRK (2008) melaporkan bahwa peningkatan suplementasi tanaman topinambur (*Helianthus tuberosus* L) sebanyak 0,2-1,0 g/h sebagai sumber inulin (polisakarida: fruktosa β (2,1)) kepada substrat yang mengandung campuran jerami dan konsentrat (5:4g) dapat menurunkan kadar NH<sub>3</sub> cairan rumen ternak domba secara *in vitro*. Penurunan NH<sub>3</sub> ini terjadi karena meningkatnya pertumbuhan mikroba sebagai akibat peningkatan karbohidrat yang pada akhirnya memerlukan ketersediaan NH<sub>3</sub> lebih banyak. Pada penelitian ini jumlah penambahan serat kasar dari *M. citrifolia* sebagai sumber karbohidrat lebih kecil dibandingkan dengan penambahan protein kasarnya

(Tabel 3), sehingga kemungkinan aktivitas pertumbuhan mikroba tidak berbeda nyata. Penelitian lain (SANTOSO dan HARIADI, 2007) menunjukkan bahwa konsentrasi N-NH<sub>3</sub> cairan rumen *in vitro* menunjukkan pola kuadrat ( $P < 0,01$ ) akibat penambahan *Acacia mangium* (level 15-45%) pada *P. purpureum*. HSU *et al.* (1991) menegaskan bahwa defaunasi tidak memberikan efek yang konstan terhadap aktivitas deaminasi mikroba rumen.

Produksi asam asetat, propionat dan butirat sebagian besar tergantung dari fermentasi karbohidrat pakan, meskipun sebagian kecil diperoleh dari protein pakan (VAN HOUTERT, 1993). Pada penelitian ini kandungan dan komposisi VFA tidak dipengaruhi oleh perlakuan penambahan *M. citrifolia* ( $P > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan *M. citrifolia* sebagai agensi sumber saponin tidak berpengaruh nyata terhadap pola fermentasi rumen khususnya degradasi serat kasar. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan HU *et al.* (2005) dan HESS *et al.* (2003).

### Produksi gas dan metana

Produksi gas dan metana selama 48 jam disajikan pada Tabel 4. Meskipun memiliki pola menurun seiring dengan tingkat penambahan level daun *M. citrifolia*, produksi gas secara statistik ternyata tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). Hasil ini berbeda dengan yang dilakukan oleh HU *et al.* (2005) yang melaporkan terjadinya penurunan produksi gas sebagai akibat penambahan ekstrak saponin teh pada substrat *P. purpureum*. Hal ini diperkirakan terjadi karena adanya perbedaan total bahan kering substrat yang dipergunakan. Pada penelitian ini aditif yang ditambahkan masih berupa bagian dari tanaman yang utuh (daun *M. citrifolia*) yang masih memiliki kandungan bahan organik yang cukup tinggi sedangkan

**Tabel 3.** Kandungan total bahan kering (BK), serat kasar (SK) dan protein kasar (PK) substrat perlakuan dan persentase penambahan SK dan PK terhadap masing-masing perlakuan relatif terhadap kontrol

Perlakuan taraf penambahan setara saponin <i>M. citrifolia</i> (mg)	Kandungan substrat (mg)			Persentase penambahan zat relatif terhadap kontrol (%)	
	BK	SK	PK	SK	PK
0	200,00	63,44	27,60	-	-
3	214,26	66,30	30,60	4,50	10,87
6	228,52	69,15	33,60	9,00	21,74
9	242,78	72,00	36,60	13,50	32,61
12	257,03	74,86	39,60	18,00	43,49

**Tabel 4.** Produksi gas dan gas metana pada taraf *M. citrifolia* yang berbeda

Variabel	Taraf <i>M. citrifolia</i> (mg)					SE
	0	3	6	9	12	
Produksi gas (ml/mg)	0,220	0,210	0,200	0,200	0,220	0,0064
Produksi gas metana (ml/mg)	0,022 <sup>a</sup>	0,020 <sup>a</sup>	0,017 <sup>b</sup>	0,016 <sup>b</sup>	0,016 <sup>b</sup>	0,0074

Superskrip a,b yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ), SE = standard error

pada penelitian HU *et al.* (2005) aditif yang ditambahkan sudah dalam bentuk terekstraksi. Peningkatan jumlah bahan substrat akan meningkatkan volume gas secara linier, tetapi tidak dalam hal kecepatan produksinya (RYMERA *et al.*, 2005).

Produksi gas metana selama 48 jam menunjukkan penurunan ( $P < 0,05$ ) sebagai akibat penambahan level *M. citrifolia*. Perbedaan yang nyata terlihat pada perlakuan 6, 9, 12 mg setara saponin *M. citrifolia*. Angka penurunan produksi metana relatif terhadap kontrol berturut-turut adalah 22,4; 26,6 dan 27,3%. Angka penurunan ini lebih tinggi dari hasil penurunan metana akibat pemberian saponin dari ekstrak teh yang berkisar antara 12,7 dan 14,0% dengan level pemberian ekstrak 0,2 dan 0,4 mg/ml (HU *et al.*, 2005). Hal ini diperkirakan sesuai dengan pengaruh dari penurunan jumlah protozoa seperti dijelaskan pada Tabel 2. Bakteri metanogen memiliki hubungan simbiosis dengan protozoa rumen (VOGELS *et al.*, 1980; KISIDAYOVA *et al.*, 2000), sehingga pengurangan jumlah protozoa akan menurunkan aktivitas metanogenik. Hasil yang sama dilaporkan oleh GOEL *et al.* (2008), yang memperlihatkan bahwa penurunan populasi protozoa sebagai akibat penambahan biji serta ekstrak dari tanaman *Sesbania sesban* dan *Trigonella foenum-graecum* juga disertai dengan penurunan produksi metana.

## KESIMPULAN

Daun *Morinda citrifolia* sebagai sumber saponin memiliki kemampuan mengurangi populasi protozoa, menurunkan produksi gas metana, dan meningkatkan kandungan protein mikroba rumen. Penambahan daun *M. citrifolia* tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi gas, kandungan VFA, kandungan  $\text{NH}_3$ . Taraf penambahan *M. citrifolia* sebesar 6 mg/200 mg BK merupakan taraf optimum yang mampu memanipulasi kondisi fermentasi rumen seperti penurunan populasi protozoa dan produksi gas metana serta peningkatan protein mikroba.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA UPT BPPTK LIPI melalui program penelitian Tematik 2010.

## DAFTAR PUSTAKA

- ADNYANA, I-K., E. YULINAH, A.A. SOEMARDJI, E. KUMLOSARI, M.I. IWO, J.I. SIGIT dan SUWENDRA. 2004. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Acta Pharm. Indonesia*. 29: 2004-2043.

- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS) 1990. Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists. 16<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington. VA. USA.
- BEEVER, D.E. and B.R. COTTRILL. 1994. Protein systems for feeding ruminant livestock: A. European assessment. *J. Dairy Sci.* 77: 2031-2043.
- CHAKEREDZA, S.U., T.E.R. MEULEUN and L.R. NDLOVU. 2002. Effect of cowpea hay, groundnut hay, cotton seed meal, and maize meal supplementation to maize stover on intake, digestibility, microbial protein supply and acetate kinetics in weaner lambs. *Trop. Anim. Health. Prod.* 34: 49-64.
- CHANEY, A.L. and E.P. MARBACH. 1961. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8: 130-132.
- FRANCIS, G., Z. KEREM, H.P.S. MAKKAR and K. BECKER. 2002. The biological action of saponins in animal systems: A review. *Bt. J. Nutr.* 88: 587-605.
- GAUTAM, R., A. SAKLANI and S.M. JACHAK. 2007. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. *J. Ethnopharmacol.* 110: 200-234.
- GOEL, G., H.P.S. MAKKAR and K. BECKER. 2008. Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage and concentrate-based feed to methane. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147: 72-89.
- GOMEZ, K.A. and A.A. GOMEZ. 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research. 2<sup>nd</sup> ed. An International Rice Research Institute Book. John Wiley and Sons Inc. New York. Toronto.
- HESS, H.D., M. KREUZER, T.E. D'IAZ, C.E. LASCANO, J.E. CARULLA, C.R. SOLIVA and A. MACHMULLER. 2003. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109: 79-94.
- HOFFMANN, E.M., N. SELJE-ASSMANN and K. BECKER. 2008. Dose studies on anti-proteolytic effects of a methanol extract from *Knautia arvensis* on *in vitro* ruminal fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145: 285-301.
- HSU, J.T., G.C. FAHEY Jr., N.R. MERCHEN and R.I. MACKIE. 1991. Effects of defaunation and various nitrogen supplementation regimens on microbial number numbers and activity in the rumen of sheep. *J. Anim. Sci.* 69: 1279-1289.
- HU, W.L., W. YUE-MING, L. JIAN-XIN, G. YAN-QIU and Y. JUN-AN. 2005. Tea saponins affect *in vitro* fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Zhejiang Univ. SCI.* 6B: 787-792.
- JAINKITTIVONG, A. T. BUTSARAKAMRUHA and R.P. LANGLAIS. 2009. Antifungal activity of *Morinda citrifolia* fruit extract against *Candida albicans*. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.* 108: 394-398.
- JOUANY, J.P. 1996. Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants. *J. Nutr.* 126: 1335-1346.
- KISIDAYOVA, S., Z. VARADYOVA, I. ZELENAK and P. SIROKA. 2000. Methanogenesis in rumen ciliate cultures of *Entodinium caudatum* and *Epidinium ecaudatum* after long-term cultivation in chemically defined medium. *Folia Microbiol.* 45: 269-274.
- MAKKAR, H.P.S., M. BLUEMEL, N.K. BOROWY and K. BECKER. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* 61: 161-165.
- MAKKAR, H.P.S., O.P. SHARMA, R.K. DAWRA and S.S. NEGI. 1982. Simple determination of microbial protein in rumen liquor. *J. Dairy Sci.* 65: 2170-2173
- MAO, H.L., J.K. WANG, Y.Y. ZHOU and J.X. LIU. 2010. Effects of addition of tea saponin and soybean oil on methane production, fermentation, and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livest. Sci.* 129: 56-62.
- MENKE, K.H. and H. STEINGASS. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- MESIA, G.K., G.L. TONA, T.H. NANGKA, R.K. CIMANGA, S. APERS, P. COS, L. MAES, L. PIETERS and A.J. VLIETINCK. 2008. Antiprotozoal and cytotoxic screening of 45 plant extracts from Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 115: 409-415.
- OZTURK, H. 2008. Effects of inulin on rumen metabolism *in vitro*. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 55: 79-82.
- PATRA, A.K., D.N. KAMRA and N. AGARWAL. 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128: 276-291.
- RYMERA, C., J.A. HUNTINGTON, B.A. WILLIAMS, and D.I. GIVENS. 2005. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 9-30.
- SANTOSO, B. dan B.TJ. HARIADI. 2007. Pengaruh suplementasi *Acacia mangium* Wild pada *Pennisetum purpureum* terhadap karakteristik fermentasi dan produksi gas metana *in vitro*. *Med. Petern.* 30: 106-113.
- SANTOSO, B., A. KILMASKOSSU and P. SAMBODO. 2007. Effects of saponin from *Biophytum petersianum* Klotzsch on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen utilization in goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137: 58-68.
- STAHL, E. 1985. Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi. Penerjemah: PADMAWINATA, K. dan I. SUDIRO. Penerbit ITB, Bandung.
- VAN HOUTERT, M.F.J. 1993. The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants feed roughages: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 43: 189-225.
- VOGELS, G.D., W.F. HOPPE and C.K. STUMM. 1980. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Appl. Environ. Microbiol.* 40: 608-612.