

PEMANFAATAN TANIN KALIANDRA (*Calliandra calothyrsus*) SEBAGAI AGEN PELINDUNG BEBERAPA SUMBER PROTEIN PAKAN (*In Vitro*)

Wiryawan, K.G.¹⁾, E. Wina²⁾, dan R. Ernawati¹⁾

¹⁾ Fakultas Peternakan IPB

²⁾ Balai Penelitian Ternak Ciawi, Bogor

ABSTRAK

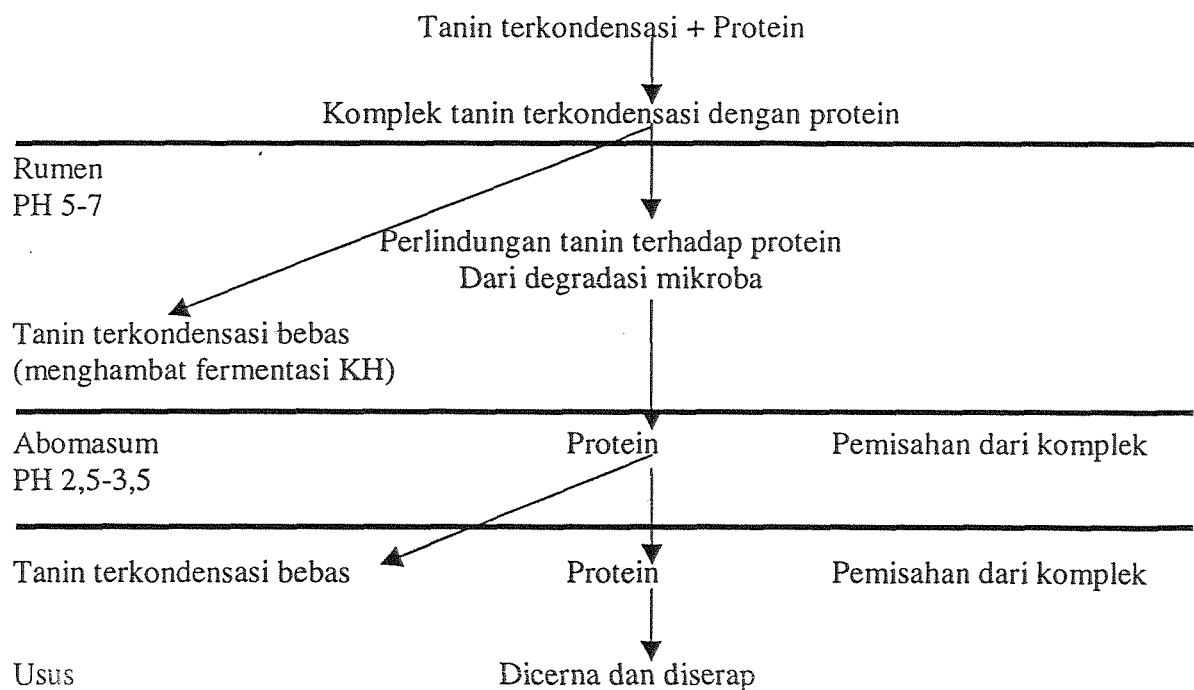
Kaliandra merupakan tanaman leguminosa yang tahan terhadap kekeringan dan mengandung protein sekitar 22% sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Disamping itu kaliandra mengandung tanin sekitar 8% yang diperkirakan dapat melindungi protein dari pemecahan oleh mikroba rumen. Dalam penelitian yang dilakukan secara *in vitro* ini tanin dengan kadar 0%, 2%, 6%, 8% dan 10% diuji dengan beberapa protein pakan (kasein, isolat protein kedelai dan konsentrat protein daun gamal) untuk mengetahui kemampuan pengikatan oleh tanin dan manfaat tanin sebagai pelindung protein pakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan sumber protein dan peningkatan kadar tanin sangat nyata ($P < 0,01$) berpengaruh terhadap pencernaan bahan kering dan terlihat adanya interaksi antara tanin dengan sumber protein. Bila dilihat dari penurunan pencernaan bahan keringnya kadar tanin yang efektif untuk melindungi kasein dari degradasi mikroba rumen adalah sebesar 6% dan konsentrat protein daun gamal sebesar 8% sedangkan isolat protein kedelai hampir tidak dipengaruhi oleh tanin. Perbedaan sumber protein berpengaruh terhadap konsentrasi amonia pada pengamatan 48 jam. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tanin terkondensasi kaliandra dapat mengikat protein dan dapat digunakan sebagai pelindung protein dari degradasi mikroba rumen. Namun perlu diperhatikan sumber protein yang akan dilindungi karena pengikatan tanin spesifik untuk setiap jenis protein.

PENDAHULUAN

Tanin adalah senyawa polifenol alami dan merupakan grup yang penting dalam unsur-unsur sekunder tanaman, bersifat larut dalam air dengan berat molekul 500-3000 serta mampu mengikat alkaloid, gelatin dan protein (Leinmuller *et al.*, 1991). Kandungan tanin dalam tanaman kaliandra sekitar 10% menyebabkan pencernaan Kaliandra menjadi rendah yaitu 35-42% (Jayadi, 1991) meskipun protein kaliandra cukup tinggi (22% BK). Menurut Hagerman (1989), kemampuan tanin untuk membentuk kompleks dengan protein lebih besar dibandingkan dengan karbohidrat maupun polimer lainnya. Komplek tanin dan protein yang terbentuk oleh ikatan kovalen merupakan ikatan yang paling stabil dibandingkan dengan ikatan hidrogen, ikatan ionik atau ikatan hidrofobik. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi interaksi tanin protein antara lain karakteristik tanin (bobot molekul, struktur dan heterogenitasnya), karakteristik protein (komposisi asam amino, titik isoelektrik) dan kondisi pereaksi (pH, temperatur, komposisi pelarut, waktu).

Kandungan tanin dalam pakan ternak mempunyai pengaruh yang menguntungkan dan merugikan. Secara *in vivo* pakan ternak yang banyak mengandung tanin menurunkan penambahan bobot badan, kerceraan dan efisiensi pakan (Butler dan Rogler, 1992) dan tanin dapat melukai saluran pencernaan sehingga mengganggu fungsi saluran pencernaan (Princes dan Butler, 1980). Disamping itu tanin dapat menghambat aktivitas enzim pencernaan termasuk protease, lipase dan glikosidase (Hagerman, 1992). Namun keuntungan tanin dalam pakan antara lain mencegah kembung pada ternak sapi dan domba, selain itu tanin terkondensasi melindungi protein dari degradasi mikroba rumen (protein bypass) sehingga dapat langsung diserap oleh usus halus. Biasanya tanin dalam pakan ternak berasal dari tanaman leguminosa dan beberapa diantaranya mengandung tanin dalam bentuk terkondensasi yaitu bentuk yang tidak mudah terhidrolisis baik dalam keadaan asam maupun basa (Hagerman, 1992).

Komplek tanin protein yang terbentuk oleh ikatan hidrogen, stabil pada pH sekitar 4-7 namun selain pH tersebut kompleks ini akan terpisah. Protein diikat oleh tanin dalam rumen, lalu setelah keluar dari rumen ikatan ini akan pecah di abomasum (pH 2,5-3,5) dan duodenum (pH 8-9) sehingga protein tersebut dapat dicerna dan diserap (Ilustrasi 1).



Ilustrasi 1. Perlindungan Tanin Terkondensasi terhadap Protein pada Ternak Ruminansia (D'Mello, 1992)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengikatan tanin terkondensasi terhadap beberapa protein pakan seperti kasein, protein kedelai dan protein daun gamal serta untuk mengetahui manfaat tanin terkondensasi sebagai pelindung protein pakan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak tanin kaliandra, kasein, isolat protein kedelai, konsentrat protein daun gamal dan cairan rumen kambing kacang. Alat-alat yang digunakan antara lain waterbath, sentrifuse, pompa vacum, cawan conway dan tabung polypropylene.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok pola faktorial 3 x 6 dengan 3 ulangan (kelompok). Analisis ragam dan uji kontras polinomial orthogonal dilakukan untuk mengetahui pengaruh kadar tanin terhadap fermentasi protein.

Prosedur Percobaan

1. Kasein-Tanin

- Kasein 0,5 gram + 0 mg tanin (0%)
- Kasein 0,5 gram + 10 mg tanin (2%)
- Kasein 0,5 gram + 20 mg tanin (4%)
- Kasein 0,5 gram + 30 mg tanin (6%)
- Kasein 0,5 gram + 40 mg tanin (8%)
- Kasein 0,5 gram + 50 mg tanin (10%)

2. Isolat Protein Kedelai-Tanin

- Isolat Protein Kedelai 0,5 g + 0 mg tanin (0%)
- Isolat Protein Kedelai 0,5 g + 10 mg tanin (2%)
- Isolat Protein Kedelai 0,5 g + 20 mg tanin (4%)
- Isolat Protein Kedelai 0,5 g + 30 mg tanin (6%)
- Isolat Protein Kedelai 0,5 g + 40 mg tanin (8%)
- Isolat Protein Kedelai 0,5 g + 50 mg tanin (10%)

3. Protein Daun Gamal-Tanin

- Protein Daun Gamal 0,5 g + 0 mg tanin (0%)
- Protein Daun Gamal 0,5 g + 10 mg tanin (2%)

Protein Daun Gamal 0,5 g + 20 mg tanin (4%)

Protein Daun Gamal 0,5 g + 30 mg tanin (6%)

Protein Daun Gamal 0,5 g + 40 mg tanin (8%)

Protein Daun Gamal 0,5 g + 50 mg tanin (10%)

Metode *In Vitro*

Fermentor yang berupa tabung polypropylene berkapasitas 50 ml diisi dengan 0,5 g sampel, 24 ml larutan Buffer McDougall dengan pH 6,9 dan suhu 39°C serta 6 ml cairan rumen. Fermentor tersebut dialiri gas CO₂ untuk membentuk kondisi anaerob dan diinkubasi selama 0 jam, 3 jam dan 48 jam. Untuk menghentikan proses fermentasi ditambahkan HgCl₂ sebanyak 2-3 tetes.

Ekstraksi Tanin

Daun segar kaliandra 0,5 g yang ditimbang berdasarkan berat kering digerus bersama es kering hingga halus dan ditambahkan 20 ml larutan aseton 70% yang mengandung 0,1% asam askorbik. Kemudian dimasukkan dalam tabung dan dipusingkan selama 10 menit dengan kecepatan 7000 rpm pada suhu 4°C. Larutan supernatan diambil dan endapan diekstrak kembali dengan larutan aseton 70% sebanyak 2 kali dan dipusingkan untuk diambil supernatannya. Supernatan yang ada diproses dengan rotavapor untuk menguapkan aseton. Hasil rotavapor diekstrak dengan dietileter sebanyak 3 kali dengan perbandingan 1:1 dengan menggunakan kolom separator untuk memisahkan klorofil dari fraksi air. Kemudian fraksi air dibekukan dengan pengeringan beku agar diperoleh tanin yang selanjutnya digerus halus dan diproses kembali dengan pengeringan beku.

Ekstraksi Protein Daun Gamal

Ekstraksi konsentrat protein daun gamal menggunakan metode pengendapan dengan penambahan asam. Pengendapan dengan asam dilakukan pada titik isoelektrik (pI). Sari daun ditambahkan asam (HCl 0,1M) sampai titik isoelektriknya tercapai (pada pH tertentu) dengan bantuan pH meter.

Sekitar 100-500 g daun gamal ditambah aquades sebanyak tiga bagian lalu digiling dan diperas menghasilkan jus dan residu. Jus yang dihasilkan tersebut ditambah HCl 0,1M sampai pH 5,8 dan dipusingkan selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Endapan yang ada dikumpulkan kemudian dikeringkan menggunakan pengeringan beku.

Analisis Konsentrasi Amonia

Konsentrasi N-amonia dalam cairan rumen diukur dengan metode mikrodifusi conway. Supernatan sampel yang merupakan hasil pemusingan 3000 rpm selama 15 menit sebanyak 1 ml diletakkan dalam satu sisi sekat conway dan pada posisi sekat lainnya diletakkan 1 ml larutan NaOH jenuh. Posisi cawan conway dimiringkan agar kedua larutan tersebut tidak bercampur sebelum cawan ditutup rapat. Pada bagian tengah diletakkan 1 ml asam borat berindikator. Pada tepi cawan dan penutupnya diolesi vaselin agar tertutup rapat. Kemudian cawan diletakkan mendatar sehingga larutan NaOH bercampur dengan supernatan dan dalam reaksi tersebut dilepaskan gas amonia. Amonia yang dibebaskan akan segera ditangkap oleh asam borat. Proses ini akan berlangsung sempurna setelah 24 jam, dan kemudian asam borat dititrasi dengan H_2SO_4 0,005M sampai terjadi perubahan warna dari biru ke merah (warna asam borat semula). Kadar amonia dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{N-amonia (mM)} = (\text{ml } H_2SO_4 \times N \text{ } H_2SO_4 \times 1000) \text{ mM}$$

Kecernaan Bahan Kering

Sampel untuk menganalisis kecernaan bahan kering ini diambil dari akhir percobaan *in vitro* pada fase anaerob. Media dari fermentor disaring dengan kertas saring Whatman menggunakan pompa vakum. Residu dikering ovenkan pada temperatur $105^\circ C$ selama 24 jam kemudian ditimbang untuk mendapatkan bahan kering.

Penggunaan cairan rumen akan mempengaruhi nilai kecernaan yang sebenarnya, maka dilakukan analisis terhadap fermentasi cairan rumen tanpa sumber pakan (blanko). Selain itu kandungan bahan kering dari pakan yang diuji kecernaannya harus dianalisis terlebih dahulu. Nilai kecernaan dapat dihitung dari rumus :

$$\%KCBK = \frac{BK \text{ Pakan} - (BK \text{ Residu} - BK \text{ Blanko})}{BK \text{ Pakan}} \times 100\%$$

Keterangan :

KCBK = Kecernaan Bahan Kering (%)

BK = Bahan Kering (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kecernaan Bahan Kering

Dalam penelitian ini terlihat bahwa kecernaan bahan kering kasein, isolat protein kedelai dan konsentrat protein daun gamal mengalami penurunan sejalan dengan peningkatan konsentrasi tanin ($P < 0,05$) walaupun pada peningkatan kadar tanin 2%, 4% dan 6% menunjukkan pengaruh yang sama terhadap kecernaan bahan kering, demikian juga pada peningkatan kadar tanin 8% dan 10% (Tabel 1).

Tabel 1. Rataan Kecernaan Bahan Kering (%)^b

Kadar Tanin (%)	Sumber Protein			Rata-rata
	Kasein	Isolat Protein Kedelai	Konsentrat Protein Daun Gamal	
0	93,27	53,79	27,70	58,25 ^a
2	88,20	51,14	25,53	54,96 ^b
4	84,47	46,58	26,98	52,68 ^b
6	80,67	55,19	22,43	52,76 ^b
8	80,27	45,99	18,89	48,38 ^c
10	79,33	43,21	18,60	47,05 ^c
Rata-rata	84,37 ^a	49,32 ^b	23,36 ^c	

^b Rata-rata dari tiga ulangan.

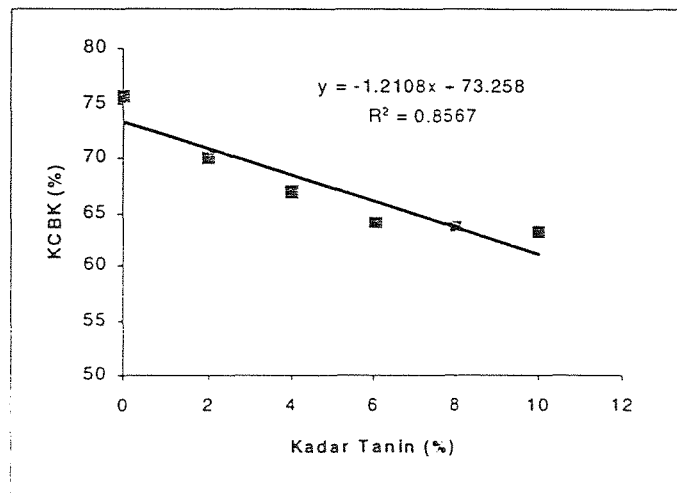
Dalam satu baris (atau lajur), rata-rata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Hal ini menunjukkan bahwa tanin dapat menghambat perombakan ketiga macam protein tersebut dari degradasi mikroba rumen. Disamping itu perbedaan nilai kecernaan bahan kering dipengaruhi juga oleh sumber proteinnya. Setiap sumber protein memiliki nilai kelarutan yang berbeda-beda. Kasein memiliki nilai kelarutan yang paling tinggi sehingga nilai kecernaan bahan keringnya paling besar dibandingkan dengan isolat protein kedelai dan konsentrat protein daun gamal. Selain itu setiap sumber protein mempunyai ketahanan degradasi terhadap mikroba rumen yang berbeda-beda (Sutardi, 1979).

Pengaruh Tanin terhadap Kasein

Kasein merupakan sumber protein berkualitas tinggi sehingga perlu dilindungi dari degradasi oleh mikroba rumen agar ketersediaan asam amino untuk ternak dapat terpenuhi. Penggunaan kasein dalam penelitian ini sebagai pembanding bagi kedua sumber protein

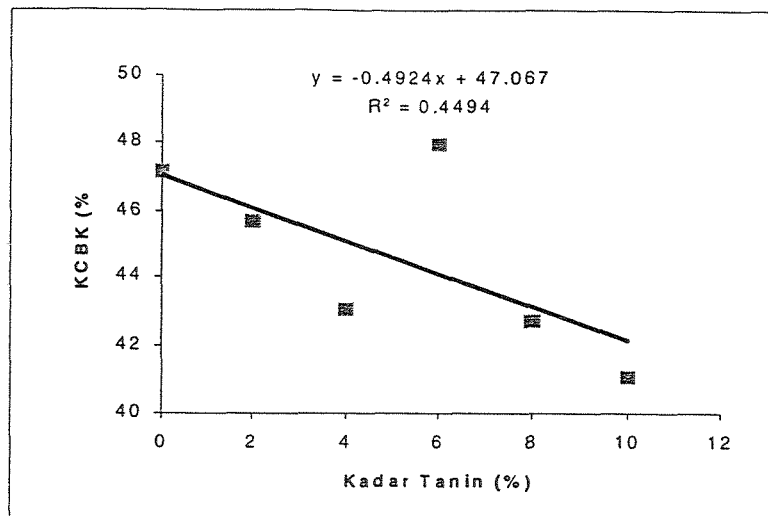
lainnya. Tanin berpengaruh pencernaan bahan kering yang secara linear nyata ($p < 0,01$) menurunkan pencernaan bahan keringnya seperti yang terlihat pada Grafik 1 ($Y = -1,2108X + 73,258$ dan $R^2 = 0,8567$). Hasil ini didukung oleh pendapat Yu et al. (1996) yang menyatakan bahwa penambahan tanin terkondensasi pada paka yng berkasein nyata menurunkan pencernaan bahan kering. Apabila dilihat dari delta penurunan pencernaan bahan kering, kadar tanin 6% paling efektif untuk melindungi kasein. Dari kadar tanin yang efektif ini diperoleh perbandingan antara tanin dan protein kasein sebesar 1:2.



Grafik 1. Hubungan Kadar Tanin dengan KCBK Kasein (Nilai Transformasi)

Pengaruh Tanin terhadap Isolat Protein Kedelai

Tanin juga berpengaruh terhadap penurunan pencernaan bahan kering isolat protein daun kedelai meskipun penurunannya lebih kecil bila dibandingkan dengan pengaruh tanin terhadap kasein dan konsentrat protein daun gamal. Hal ini ditunjukkan dengan nilai gradien persamaan regresi linearnya (Grafik 2) yang lebih kecil dibandingkan dengan gradien persamaan regresi linear dari kasein dan konsentrat protein daun gamal.

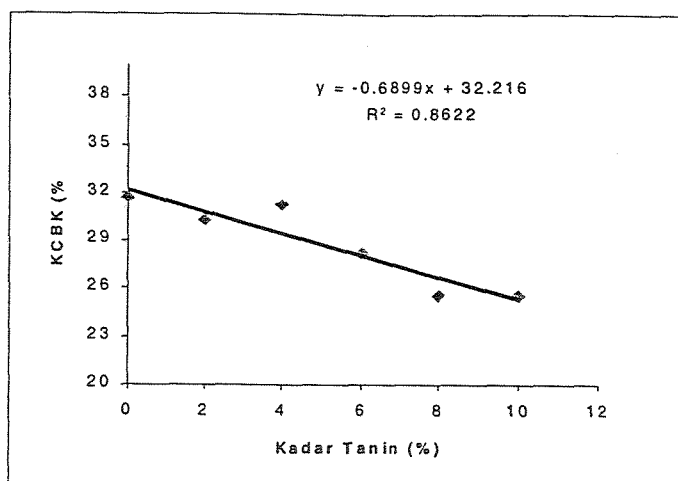


Grafik 2. Hubungan Kadar Tanin dengan KCBK Isolat Protein Kedelai (Nilai Transformasi)

Rendahnya pencernaan bahan kering isolat protein kedelai dibandingkan dengan kasein disebabkan oleh adanya proses pemanasan dalam pengolahannya sehingga protein mengalami denaturasi atau terjadi perubahan struktur alaminya (pemanasan mengakibatkan protein membuka struktur aslinya) yang mengakibatkan terjadi perubahan kimiawi dan kelarutan proteinnya (Mc Donald *et al.*, 1982). Selain itu perubahan struktur ini mempengaruhi pembentukan kompleks tanin protein, karena interaksi tanin dengan protein dipengaruhi oleh struktur proteinnya (Hagerman, 1992).

Pengaruh Tanin terhadap Konsentrat Protein Daun Gamal

Secara statistik pengaruh tanin tidak nyata terhadap pencernaan bahan kering konsentrat protein daun gamal tetapi cenderung menurunkan pencernaan bahan keringnya. Hal ini dikarenakan protein sudah mengalami denaturasi oleh asam dalam proses pengolahannya sehingga terjadi perubahan struktur protein (Grafik 3).



Grafik 3. Hubungan Kadar Tanin dengan KCBK Protein Gamal (Nilai Transformasi)

Meskipun demikian, bila dilihat dari delta penurunan pencernaan bahan kering maka kadar tanin 8% cenderung paling efektif dalam melindungi konsentrat protein daun gamal dari degradasi mikroba rumen. Dari kadar tanin yang efektif ini diperoleh perbandingan tanin dengan protein daun gamal sebesar 2:1. Nilai perbandingan ini lebih besar dari jumlah tanin untuk melindungi kasein. Hal ini disebabkan karena konsentrat protein daun gamal mengandung zat makanan selain protein yaitu lemak sebesar 20-30%, karbohidrat (pati) sebesar 5-10% serta 1% mineral dan vitamin (Pirie, 1987).

Berdasarkan pembahasan di atas maka dapat disimpulkan bahwa perbedaan sumber protein dan metoda pengolahan protein akan mengakibatkan perbedaan pengikatan oleh tanin. Hal ini didukung oleh Yu *et al.* (1996) yang menyatakan bahwa tanin terkondensasi mempunyai daya afinitas yang berbeda terhadap sumber protein yang berbeda struktur asam aminonya. Sedangkan Asquith dan Butler (1986) dalam Yu *et al.* (1996) dalam sebuah percobaan *in vitro* mencatat bahwa interaksi tanin terkondensasi-protein spesifik untuk tanin dan protein yang berbeda.

Konsentrasi Amonia

Di dalam rumen protein pakan dirombak menjadi peptida dan asam amino yang selanjutnya akan dirombak oleh mikroba rumen menjadi amonia. Oleh karena itu konsentrasi amonia dalam rumen dapat dijadikan salah satu parameter untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap degradasi protein dalam suatu percobaan.

Tabel 2. Rataan Konsentrasi Amonia pada Pengamatan 0 jam (mM)^b

Tanin (%)	Sumber Protein			Rata-rata
	Kasein	Isolat Protein Kedelai	Konsentrat Protein Daun Gamal	
0	18,93	16,09	16,16	17,06 ^a
2	21,53	15,83	16,23	17,86 ^a
4	19,70	16,45	16,16	17,44 ^a
6	23,05	15,34	15,50	17,96 ^a
8	20,22	17,30	16,90	18,14 ^a
10	23,01	16,10	15,99	18,37 ^a
Rata-rata	21,07 ^a	16,19 ^b	16,15 ^b	

^b Rata-rata dari tiga ulangan.

Dalam satu baris (atau lajur), rataan yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Tabel 3. Rataan Konsentrasi Amonia pada Pengamatan 3 jam (mM)^b

Tanin (%)	Sumber Protein			Rata-rata
	Kasein	Isolat Protein Kedelai	Konsentrat Protein Daun Gamal	
0	28,53	22,94	18,29	23,25 ^a
2	28,20	21,94	17,13	22,42 ^a
4	25,10	21,96	19,42	22,16 ^a
6	29,86	21,95	19,97	23,93 ^a
8	28,87	22,01	16,48	22,45 ^a
10	27,57	21,56	17,63	22,25 ^a
Rata-rata	28,02 ^a	22,06 ^b	18,15 ^c	

^b Rata-rata dari tiga ulangan.

Dalam satu baris (atau lajur), rataan yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Tabel 4. Rataan Konsentrasi Amonia pada Pengamatan 48 jam (mM)^b

Tanin (%)	Sumber Protein			Rata-rata
	Kasein	Isolat Protein Kedelai	Konsentrat Protein Daun Gamal	
0	135,23	109,13	41,41	95,26 ^a
2	127,99	104,76	40,52	91,09 ^b
4	120,88	100,25	39,77	86,97 ^{bc}
6	126,14	103,87	35,94	88,65 ^{bc}
8	118,23	94,98	36,57	83,26 ^c
10	115,77	98,22	32,75	82,25 ^c
Rata-rata	124,04 ^a	101,87 ^b	37,83 ^c	

^b Rata-rata dari tiga ulangan.

Dalam satu baris (atau lajur), rataan yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Secara umum konsentrasi amonia baik pada pengamatan 0, 3 dan 48 jam sangat tinggi dan semakin meningkat dengan bertambahnya waktu. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa perbedaan sumber protein mempengaruhi konsentrasi amonia baik pada pengamatan 0, 3 dan 48 jam. Sedangkan kadar tanin tidak mempengaruhi konsentrasi amonia pada pengamatan 0 dan 3 jam tetapi baru terlihat pada pengamatan 48 jam. Hasil ini mendukung hasil dari pencernaan bahan kering yaitu dengan peningkatan kadar tanin akan menurunkan pencernaan bahan kering.

Penurunan konsentrasi amonia dan pencernaan bahan kering ini disebabkan karena protein diikat oleh tanin. Selain itu penurunan ini terjadi karena mikroba dan enzim diikat juga oleh tanin sehingga aktivitasnya terhambat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Perbedaan sumber protein dan penggunaan kadar tanin nyata berpengaruh terhadap pencernaan bahan kering dan konsentrasi amonia pengamatan 48 jam.
2. Dilihat dari penurunan pencernaan bahan kering, kadar tanin yang paling efektif untuk melindungi kasein dari degradasi mikroba rumen adalah sebesar 6 % sedangkan untuk konsentrat protein daun gamal sebesar 8 %. Perlindungan tanin terhadap isolat protein kedelai lebih kecil dibandingkan kasein dan konsentrat protein gamal.
3. Kaliandra sebagai tanaman leguminosa yang mengandung tanin dapat digunakan untuk melindungi protein pakan dari degradasi mikroba rumen. Namun perlu diperhatikan sumber protein yang akan dicampurkan karena interaksi tanin dengan protein spesifik untuk setiap jenis protein.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada the Australian Center for International Agricultural Research (ACIAR) yang telah membiayai penelitian ini melalui Project PN 9318. Terima kasih juga disampaikan kepada Adriani, S.Si yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Butler, L.G. and J.C. Rogler. 1992. Biochemical mechanism of antinutritional effects of tannins. Phenolic compounds in food and their effects on health I. American Chemical Society. Washington DC.
- Hagerman, A.E. 1989. Chemistry of Tannin-Protein Complexation. Chemistry and Significance of Condensed Tannins. Plenum Press. New York.
- Hagerman, A.E. 1992. Tannin-protein interaction. Phenolic compounds in food and their effects on health I. American Chemical Society. Washington DC.
- Jayadi, S. 1991. Tanaman Makanan Ternak Tropika. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Leinmuller, E., S. Herbert and K.H. Menke. 1991. Tannin in ruminant feedstuffs. In: Animal Research and Development. Institute Scientific Co-operation. Tubingen, Germany.
- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh. 1982. Animal Nutrition. Longman Group Ltd. U.K.
- Pirie, N.W. 1987. Leaf Protein and Its by Products in Human and Animal Nutrition. Cambridge University Press. Cambridge.
- Sutardi, T. 1979. Ketahanan protein bahan makanan terhadap degradasi mikroba rumen dan manfaatnya bagi produktivitas ternak. Prosiding Seminar Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Lembaga Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Yu, F., P.J. Moughan and T.N. Barru. 1996. The effect of condensed tannin cottonseed in digestibility of casein and cottonseed meal amino acid. British Journal of Nutrition, 75: 683-693.