



3

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS PETERNAKAN
DEPARTEMEN ILMU NUTRISI DAN TEKNOLOGI PAKAN
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680 Telp/Fax. (0251) 8626213, 8628149
E-mail : intp@ipb.ac.id

SURAT KETERANGAN

No. 329 /13.4.2/KP/2008

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dr.Ir.. Idat Galih Permana, M.Sc
NIP : 131956694
Jabatan : Ketua Departemen INTP, Fakultas Peternakan IPB

Menerangkan dengan sebenar-benarnya bahwa makalah ilmiah yang tidak dipublikasikan “ **Judul Deaktivasi Tanin Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) Menggunakan Mineral Fe dan Cu (*In Vitro*)** “ dari staf Departemen Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB yang namanya tersebut dibawah ini :

Nama : Dr.Ir. Komang G. Wiryawan
NIP : 131671601

Telah di dokumentasikan di perpustakaan Departemen INTP, Fakultas Peternakan IPB.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan oleh yang bersangkutan dalam rangka memenuhi persyaratan kenaikan pangkat/jabatan.

Bogor, 9 September 2008
Ketua Departemen INTP,

Dr.Ir.. Idat Galih Permana, M.Sc
NIP. 131671592

Deaktivasi Tanin Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) Menggunakan Mineral Fe dan Cu (*In Vitro*)

Komang G. Wiryawan dan Christin Marliana

Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan

Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

Abstract

The experiments were conducted to investigate the potency of minerals Fe and Cu in deactivating the negative effect of tannins extracted from calliandra leave. There were major and minor treatments. The major treatment used factorial randomized complete block design (2x2x3). First factor was tannin content; second factor was type of minerals (Fe or Cu); third factor was level of minerals (Fe: 0, 5.6, 11.2 ppm and Cu: 0, 50.8, 101.8 ppm). Minor treatment used randomized complete block design to investigate the effect of sulphate on mineral Fe and Cu supplementation. Casein and cellulose were used as substrates in both experiments. Data were analyzed statistically with ANOVA and contrast orthogonal. Parameters measured were VFA and ammonia concentration, dry matter digestibility of casein and cellulose, free mineral of Fe and Cu. Results show that Fe supplementation at level $\frac{1}{2}$ (5.6 ppm) did not significantly increase casein digestibility in the presence of tannins. However, Fe supplementation synergically with tannins decreased cellulose digestibility ($P < 0.01$). Fe supplementation on casein substrate did not increase NH_3 concentration in the presence of tannins, but increased total VFA concentration. Cu supplementation at level $\frac{1}{2}$ (50.8 ppm) and 1 (101.6 ppm) was toxic to rumen microbes, so there was no cellulose degradation, NH_3 production, and very low total VFA concentration. Cu supplementation did not affect casein dry matter digestibility. After 48 hours of incubation, there was a complex of tannins and minerals as indicated by reduction of free minerals in the solution ($P < 0.05$). It is concluded that supplementation of Fe at level 5.6 ppm is recommended because it significantly reduced the negative effect of tannins by increasing total VFA and dry matter digestibility on casein substrate. Cu supplementation at level 50.8 ppm or 101.6 ppm was toxic to rumen microbes.

Key words: tannins, deactivation, Fe, Cu, sulphate, casein, cellulose

PENDAHULUAN

Pakan ternak di daerah tropis secara umum terdiri dari limbah pertanian dan rumput-rumputan dengan kadar serat kasar yang tinggi dan kadar protein yang rendah. Selain itu persediaan hijauan makanan ternak di musim kemarau kurang mencukupi kebutuhan ternak. Hal ini mengakibatkan penurunan penampilan ternak. Tanaman leguminosa pohon memiliki kandungan nutrisi yang tinggi dan dapat digunakan sebagai pakan hijauan sepanjang tahun serta dapat tumbuh di daerah kritis hara. Namun sebagian besar leguminosa pohon mengandung senyawa antinutrisi yang menyebabkan pemanfaatannya masih rendah, seperti tanin pada kaliandra.

Dampak antinutrisi tanin antara lain menjadikan palatabilitas dan konsumsi pakan menurun. Tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan protein, karbohidrat (selulosa, hemiselulosa dan pektin), mineral, vitamin dan enzim mikroba rumen sehingga menyebabkan pencernaan zat-zat makanan menurun. Selain itu kompleks tanin dengan zat-zat makanan yang tak tercerna ini akan keluar bersama feses.

Bahan kimia yang selama ini diketahui paling baik untuk menurunkan pengaruh tanin adalah polietilen glikol (PEG), namun penggunaannya kurang menguntungkan secara ekonomis. Mineral secara kimia diketahui dapat berikatan dengan tanin. Penelitian mengenai pengaruh konsentrasi mineral terhadap interaksi tanin-mineral telah dilakukan dalam skala laboratorium secara kimia. Mineral Fe dan Cu diketahui sebagai mineral yang paling reaktif bereaksi dengan tanin dibandingkan mineral Mn, Co, Ca, Zn, dan Mg. Namun belum dilakukan penelitian lebih lanjut, khususnya mengenai kemampuan mineral menurunkan pengaruh tanin terhadap pencernaan pada ternak ruminansia. Di samping penambahan mineral diharapkan mampu mengurangi pengaruh tanin, mineral juga dapat bermanfaat bagi proses metabolisme di dalam tubuh ternak.

Sehubungan dengan hal tersebut maka tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh mineral Fe dan Cu terhadap pencernaan bahan kering, konsentrasi NH_3 , dan konsentrasi total VFA pada substrat kasein dan selulosa yang ditambahkan tanin secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan rumen yang berasal dari kambing kacang yang diberi pakan rumput gajah, potongan kertas saring Whatman No. 41 berukuran 0,5 cm x 0,5 cm dan kasein (berupa tepung) digunakan sebagai substrat serta $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, H_2SO_4 dan ekstrak tanin kaliandra sebagai bahan suplementasi yang diberikan dalam bentuk larutan.

Perlakuan Percobaan

Perlakuan percobaan dibagi menjadi dua yaitu perlakuan utama dan perlakuan tambahan. Perlakuan utama dibedakan menjadi perlakuan dengan jenis mineral dalam berbagai taraf yang memiliki kondisi menggunakan substrat kasein atau selulosa dan dengan penambahan tanin atau tanpa penambahan tanin.

Penambahan mineral pada perlakuan utama tidak dalam bentuk unsur tunggal tetapi dalam bentuk molekul, yaitu $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Dengan demikian perlu dilakukan perlakuan tambahan untuk menguji pengaruh sulfat yang terdapat dalam molekul mineral Fe atau Cu dengan penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf konsentrasi. Susunan perlakuan percobaan disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Perlakuan Utama dengan Substrat Kasein atau Selulosa

Substrat	Tanin	Jenis Mineral	Taraf
Kasein/Selulosa	Tanpa tanin	Fe	0, ½, 1
		Cu	0, ½, 1
Kasein/Selulosa	Tanin	Fe	0, ½, 1
		Cu	0, ½, 1

Keterangan : Taraf 0 (tanpa penambahan mineral), taraf ½ (pada Fe : 5,6 ppm dan pada Cu : 50,8 ppm), dan taraf 1 (pada Fe: 11,2 ppm dan pada Cu : 101,6 ppm)

Tabel 2. Perlakuan tambahan dengan Substrat Kasein atau Selulosa

Penambahan H₂SO₄

0 = Kontrol, tanpa penambahan H₂SO₄

a = SO₄ pada penambahan H₂SO₄ setara dengan SO₄ pada FeSO₄, 7H₂O taraf ½

b = SO₄ pada penambahan H₂SO₄ setara dengan SO₄ pada FeSO₄, 7H₂O taraf 1

c = SO₄ pada penambahan H₂SO₄ setara dengan SO₄ pada CuSO₄, 5H₂O taraf ½

d = SO₄ pada penambahan H₂SO₄ setara dengan SO₄ pada CuSO₄, 5H₂O taraf 1

Sumber substrat adalah kasein dan selulosa (kertas saring Whatman No. 41). Tanin yang ditambahkan sebanyak 24 mg (8% dari substrat). Fe yang ditambahkan pada level 1 adalah sebanyak 11,2 ppm. Jumlah ini berdasarkan hasil perhitungan dari setiap 1 ml larutan FeSO₄, 7H₂O 0,25 mM diperlukan untuk 1 mg tanin. Sedangkan Fe yang ditambahkan pada taraf ½ sebanyak 5,6 ppm, setengah dari taraf 1, Cu yang ditambahkan pada taraf 1 adalah sebanyak 101,6 ppm. Jumlah ini berdasarkan hasil perhitungan dari setiap 1 ml larutan CuSO₄, 5H₂O 2 mM diperlukan untuk 1 mg tanin. Sedangkan Cu yang ditambahkan pada taraf ½ sebanyak 50,8 ppm, setengah dari taraf 1. Konversi ke dalam satuan ppm dilakukan dengan memperhitungkan larutan fermentor pada setiap tabung perlakuan adalah 30 ml. Taraf penambahan H₂SO₄ sesuai konsentrasi SO₄ yang terdapat pada masing-masing jenis dan taraf mineral sehingga dibedakan menjadi 4 macam (a,b,c,d). Jumlah didapatkan dari hasil perbandingan berat molekul SO₄ terhadap berat molekul senyawa FeSO₄, 7H₂O atau CuSO₄, 5H₂O dikalikan jumlah FeSO₄, 7H₂O atau CuSO₄, 5H₂O yang ditambahkan. Selanjutnya dilakukan konversi dalam bentuk H₂SO₄ dengan tetap memperhitungkan tabung fermentor berisi 30 ml larutan fermentor.

Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAK Faktorial). Penelitian dibagi menjadi dua macam substrat, yaitu kasein dan kertas saring Whatman No. 41 sebagai selulosa, masing-masing mendapat perlakuan dengan menggunakan RAK faktorial 2 x 2 x 3 (suplementasi tanin x jenis mineral x taraf mineral). Pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati dianalisis dengan sidik ragam dan dilakukan pengujian lebih lanjut antar perlakuan menggunakan RAK tunggal yang dianalisis dengan sidik ragam dan uji kontras ortogonal (Steel and Torrie, 1993).

Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati pada perlakuan utama adalah : pencernaan bahan kering pada 48 jam, jumlah N-amonia pada 0 jam, 3 jam dan 48 jam, total Volatile Fatty Acid (VFA)

pada 48 jam, jumlah mineral Fe dan Cu yang bebas pada perlakuan penambahan mineral. Peubah yang diamati pada perlakuan tambahan adalah : pencernaan bahan kering, jumlah NH_3 pada 0 jam, 3 jam dan 48 jam, total *Volatile Fatty Acids* (VFA) pada 48 jam.

Metode Percobaan *In vitro* (Tilley and Terry, 1963)

Fermentor yang berupa tabung polypropilen berkapasitas 50 ml diisi dengan 0,3 gram sampel (substrat), bahan suplementasi, 24 ml larutan buffer yang memiliki pH 6,9 dan suhu 39 °C dan 6 ml cairan rumen. Dalam fermentor akan dialiri gas CO_2 untuk membentuk kondisi anaerob dan diinkubasi selama 48 jam dan setelah 48 jam ditambahkan HgCl_2 untuk menghentikan proses fermentasi. Pada percobaan ini dilakukan pula inkubasi 0 dan 3 jam masing-masing dalam tabung fermentor yang berbeda untuk keperluan analisis konsentrasi NH_3 pada 0, 3, dan 48 jam setelah inkubasi. Untuk keperluan analisis pencernaan maka perlu ada blangko yaitu tanpa menggunakan bahan pakan atau substrat lainnya. Selanjutnya hasil *in vitro* dipusingkan sehingga didapatkan supernatan dan residu yang akan digunakan dengan analisis selanjutnya.

Ekstraksi Tanin

Dalam kaliandra segar ditimbang 0,5 gram berdasarkan berat keringnya. Lalu daun digerus bersama es kering menjadi tepung halus dan ditambahkan larutan aseton 70% yang mengandung 0,1% asam askorvik sebanyak 20 ml. Selanjutnya dipusingkan selama 10 menit dengan kecepatan 7000 rpm pada suhu 4 °C. Supernatan diambil dan residu diekstrak kembali dengan larutan aseton 70% sebanyak dua kali untuk diambil bagian supernatan setelah dipusingkan. Aseton dalam supernatan diuapkan dengan rotavapor. Setelah pekat (fraksi air), hasilnya diekstrak dengan dietileter sebanyak tiga kali dengan perbandingan 1:1 menggunakan kolom seperator untuk memisahkan klorofil dengan fraksi air. Fraksi air yang didapat dibekukan dan diproses dengan freeze drying untuk didapatkan tanin lalu dihaluskan dengan mortar menjadi bentuk tepung.

Metode Analisis

Pengukuran kadar total VFA menggunakan metode destilasi uap atau Steam Distillation (General Laboratory Procedure, 1966). Analisis N-NH_3 menggunakan metode mikrodifusi Conway (General Laboratory Procedure, 1966). Analisis pencernaan menggunakan metode Tilley and Terry, 1963. Pengukuran mineral bebas menggunakan Spektrofotometer Absorpsi Atom (AAS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

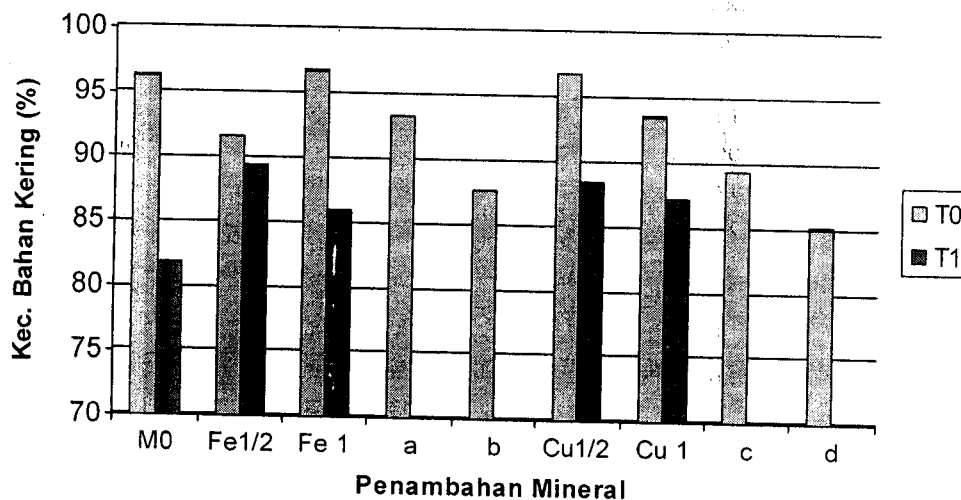
Kecernaan Bahan Kering

Kecernaan Bahan Kering Kasein

Gambar 1 memperlihatkan pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf (0, $\frac{1}{2}$, dan 1) terhadap aktifitas tanin pada kecernaan bahan kering kasein. Sedangkan pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap kecernaan bahan kering kasein yang tidak ditambahkan tanin digunakan sebagai kontrol. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf terhadap kecernaan bahan kering kasein.

Penambahan tanin sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan kecernaan bahan kering kasein (Gambar 1). Hal ini menunjukkan adanya interaksi tanin dengan protein sehingga menurunkan kecernaan bahan kering kasein. Menurut Makkar (1993) tanin membentuk kompleks dengan protein makanan di dalam rumen sehingga mempengaruhi penggunaan protein makanan.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jenis dan taraf mineral pada perlakuan utama secara umum tidak berpengaruh nyata menurunkan kecernaan bahan kering kasein. Hal ini berarti perlakuan penambahan mineral Fe atau Cu pada berbagai taraf (0, $\frac{1}{2}$, dan 1) tidak berbeda nyata terhadap kecernaan bahan kering kasein pada kondisi dengan penambahan tanin atau tanpa penambahan tanin. Secara statistik ditunjukkan pula interaksi tanin-jenis mineral, interaksi tanin-taraf mineral, interaksi jenis mineral-taraf mineral, dan interaksi ketiganya tidak nyata. Dengan demikian penambahan mineral Fe atau Cu belum dapat mengurangi pengaruh negatif tanin terhadap kecernaan bahan kering kasein.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral dan sulfat, Fe $\frac{1}{2}$ = Fe taraf $\frac{1}{2}$ (5,6 ppm), F1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu $\frac{1}{2}$ = Cu taraf $\frac{1}{2}$ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : a = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf $\frac{1}{2}$, b = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf 1, c = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf $\frac{1}{2}$, d = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf 1.

Gambar 1. Rataan Kecernaan Bahan Kering Kasein Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan (48 Jam)

Gambar 1 memperlihatkan bahwa penambahan mineral Fe dan Cu pada taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 meningkatkan kecernaan bahan kering kasein pada kondisi substrat kasein dengan penambahan tanin, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata dengan taraf 0. Hal ini

menunjukkan adanya mineral yang berikatan dengan tanin sehingga memungkinkan meningkatnya pencernaan bahan kering kasein. Makkar *et al.* (1987) melaporkan bahwa tanin dapat membentuk kompleks dengan protein, karbohidrat, vitamin dan mineral.

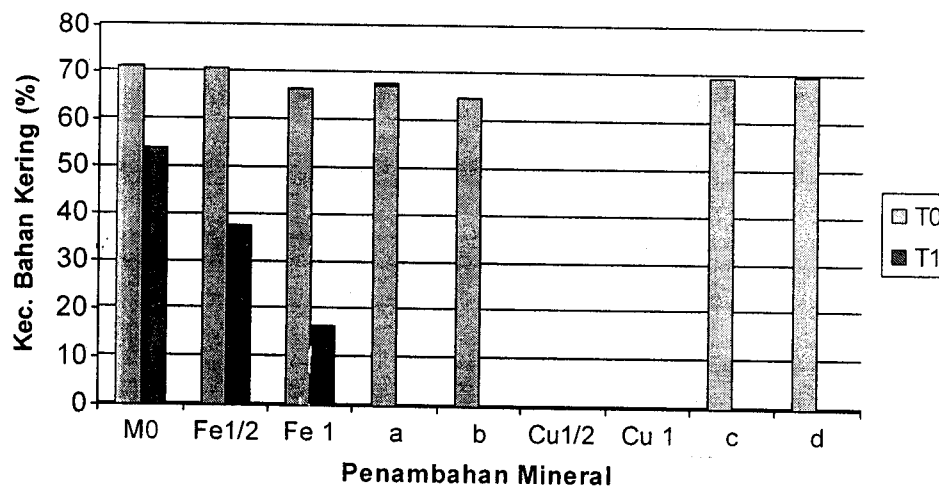
Secara umum rata-rata pencernaan bahan kering kasein pada berbagai perlakuan utama termasuk tinggi (Gambar 1). Tingkat kelarutan kasein yang tinggi menyebabkan partikel kasein yang besar dipecah menjadi partikel kasein yang lebih kecil dalam waktu relatif singkat. Kondisi ini menyebabkan banyak partikel kasein yang lolos dari kertas saring Whatman No. 41 ketika dilakukan penyaringan untuk mendapatkan residu bahan yang tidak tercerna. Dengan demikian pencernaan bahan kering kasein yang tinggi lebih banyak disebabkan oleh tingkat kelarutannya yang tinggi. Taraf hilangnya protein murni yang ditambahkan pada pakan atau diberikan secara langsung ke dalam rumen telah dipelajari. Mc. Donald (1948, 1952 dalam Hungate, 1966) menemukan bahwa kasein dan gelatin hilang secara cepat di dalam rumen. Selain itu pencernaan bahan kering kasein ini dapat menunjukkan pencernaan protein dari substrat kasein, karena dianggap substrat kasein yang merupakan protein murni seluruhnya terdiri dari protein.

Pada perlakuan tambahan dengan substrat kasein (Gambar 1) memperlihatkan bahwa pencernaan bahan kering kasein pada penambahan H_2SO_4 dengan taraf a (setara dengan SO_4 pada perlakuan Fe taraf $\frac{1}{2}$) dan kontrol (tanpa penambahan H_2SO_4) sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dibandingkan perlakuan penambahan H_2SO_4 dengan taraf b, c, dan d kemungkinan disebabkan pengaruh asam. Jumlah asam b, c, dan d lebih tinggi dari a kemungkinan menyebabkan denaturasi protein sehingga menurunkan tingkat kelarutan yang berpengaruh terhadap pencernaan bahan keringnya. Rodwell (1992) mengatakan bahwa denaturasi protein dapat disebabkan oleh pemberian asam atau basa mineral kuat pada atau di atas suhu kamar. Protein terdenaturasi umumnya kurang larut dalam air dan sering mengendap dari larutan.

Kecernaan Bahan Kering Selulosa

Pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap aktifitas tanin pada pencernaan bahan kering selulosa disajikan dalam Gambar 2. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap pencernaan bahan kering selulosa dengan kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol dan pengaruh penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf terhadap pencernaan bahan kering selulosa.

Kondisi penambahan tanin sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan pencernaan bahan kering selulosa (Gambar 2). Hal ini menunjukkan adanya interaksi tanin-karbohidrat sehingga menurunkan pencernaan bahan kering selulosa. Leinmuller *et al.* (1991) melaporkan beberapa referensi mengenai indikasi adanya ikatan tanin dengan karbohidrat terutama selulosa, pati, dan pektin. Selain itu ada kemungkinan tanin mengikat protein mikroba selulolitik sehingga menghambat fermentasi selulosa. Sewet (1997) melaporkan peningkatan jumlah pemberian kaliandra dalam ransum menurunkan populasi dan aktifitas selulolitik dari bakteri rumen yang ditandai dengan penurunan pencernaan NDF dan ADF pakan sumber serat pada percobaan *in vitro*.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral dan sulfat, Fe ½ = Fe taraf ½ (5,6 ppm), F1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu ½ = Cu taraf ½ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : a = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Fe taraf ½, b = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Fe taraf 1, c = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Cu taraf ½, d = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Cu taraf 1.

Gambar 2. Raraan Kecernaan Bahan Kering Selulosa Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan

Jenis mineral mempunyai korelasi negatif dan taraf mineral dan sangat nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi pencernaan bahan kering selulosa. Gambar 2 memperlihatkan penambahan mineral Cu (taraf ½ dan 1) pada kondisi tanpa tanin sudah menyebabkan tidak adanya pencernaan bahan kering selulosa. Penambahan mineral Cu pada taraf mineral ½ dan 1 bersifat toksik sehingga mematikan bakteri selulolitik. Georgievskii (1982) melaporkan penambahan Cu dengan konsentrasi 1:5 (g/ml cairan rumen sudah bersifat toksik terhadap pencernaan selulosa. Penambahan mineral Cu taraf ½ dan 1 pada kondisi penambahan tanin juga bersifat toksik sehingga tidak ada pencernaan bahan kering selulosa. Hal ini mungkin disebabkan ada sebagian mineral Cu yang tidak berikatan dengan tanin dengan jumlah yang melebihi batas toleransi rumen. Dengan demikian terjadi interaksi antara tanin dan jenis mineral yang ditunjukkan oleh sifat toksik dari penambahan mineral Cu menutupi pengaruh tanin.

Lu (1995) mengemukakan bahwa toksisitas berkaitan dengan dosis. Logam merupakan salah satu kelompok toksikan. Pada makhluk hidup, mekanisme terjadinya kondisi toksik oleh logam berkaitan dengan enzim dan organel intraseluler. Logam toksik menghambat enzim melalui interaksi antara logam dengan gugus SH dari enzim dan juga melalui pengusuran kofaktor logam yang penting bagi enzim. Selain itu efek toksik logam merupakan akibat dari reaksi antara logam dengan komponen intraseluler. Dengan demikian kondisi toksik dari penambahan mineral Cu pada taraf ½ dan 1 terjadi karena Cu menghambat aktifitas enzim yang terdapat dalam rumen maupun interaksi Cu dengan intraseluler mikroba rumen yang mematikan mikroba rumen.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan jenis mineral Fe pada kondisi tanpa tanin tidak mempengaruhi pencernaan bahan kering selulosa, walaupun pada

Gambar 2 terlihat adanya sedikit penurunan pencernaan bahan kering selulosa dengan adanya penambahan taraf Fe. Penambahan Fe sampai taraf 1 masih dalam batas toleransi rumen. Menurut Georgievskii *et al.* (1982) melaporkan bahwa konsentrasi toksik terjadi pada 300 (g Fe/ml (300 ppm), sedangkan pada perlakuan penambahan Fe paling banyak hanya 11,2 ppm. Mineral Fe dibutuhkan untuk sintesis berbagai enzim selama pertumbuhan mikroba (Durand dan Kawashima, 1980). Hal ini menunjukkan bahwa secara tidak langsung penambahan Fe dapat meningkatkan pencernaan zat makanan. Substrat dalam perlakuan ini semuanya terdiri dari selulosa dan sumber N terbatas sehingga penambahan Fe tidak mendukung pertumbuhan mikroba rumen tetapi sebaliknya mulai memberikan pengaruh negatif. Mineral Fe dan kondisi penambahan tanin sinergis menurunkan pencernaan bahan kering selulosa ($P < 0,01$). Semakin tinggi taraf mineral Fe semakin menurunkan pencernaan bahan kering selulosa pada kondisi penambahan tanin. Penurunan pencernaan bahan kering selulosa pada pemberian mineral Fe dengan taraf $\frac{1}{2}$ tidak berbeda nyata dengan taraf 0 pada kondisi penambahan tanin. Hal ini mungkin disebabkan oleh jumlah Fe yang ditambahkan pada taraf $\frac{1}{2}$ lebih sedikit dibandingkan taraf 1. Dengan demikian terjadi korelasi negatif antara jenis mineral dan taraf mineral.

Hasil analisis statistik (Gambar 2) menunjukkan bahwa pada substrat selulosa, perlakuan penambahan H_2SO_4 tidak berbeda nyata dengan kontrol. Halverson *et al.* (1968) dalam Church (1979), mengamati bahwa penggunaan maksimal dari penambahan S-sulfat untuk sintesis protein terjadi ketika sulfat yang ditambahkan pada taraf 500 μM (48 $\mu g SO_4/ml$). Pada penelitian ini sulfat yang ditambahkan sebesar : a = 9,591 $\mu g SO_4/ml$, b = 19,102 $\mu g SO_4/ml$, c = 75 $\mu g SO_4/ml$, dan d = 153,6 $\mu g SO_4/ml$. Menurut Georgievskii (1982) batas toksik bagi rumen terhadap konsentrasi penambahan S adalah sebesar 1000 $\mu g S/ml$ (3000 $\mu g SO_4/ml$). Konsentrasi sulfat pada penambahan mineral Fe masih di bawah konsentrasi sulfat yang dapat menyebabkan pertumbuhan optimum bakteri. Sedangkan konsentrasi sulfat pada penambahan mineral Cu sudah melebihi konsentrasi tersebut tetapi masih di bawah batas toksik. Selain itu substrat seluruhnya terdiri dari selulosa sehingga tidak mungkin penambahan mineral S ini menstimulasi pertumbuhan bakteri pencernaan selulosa karena sumber NPN maupun asam amino terbatas. Dengan demikian sulfat yang terdapat dalam molekul mineral Fe atau Cu tidak mempengaruhi pencernaan bahan kering selulosa.

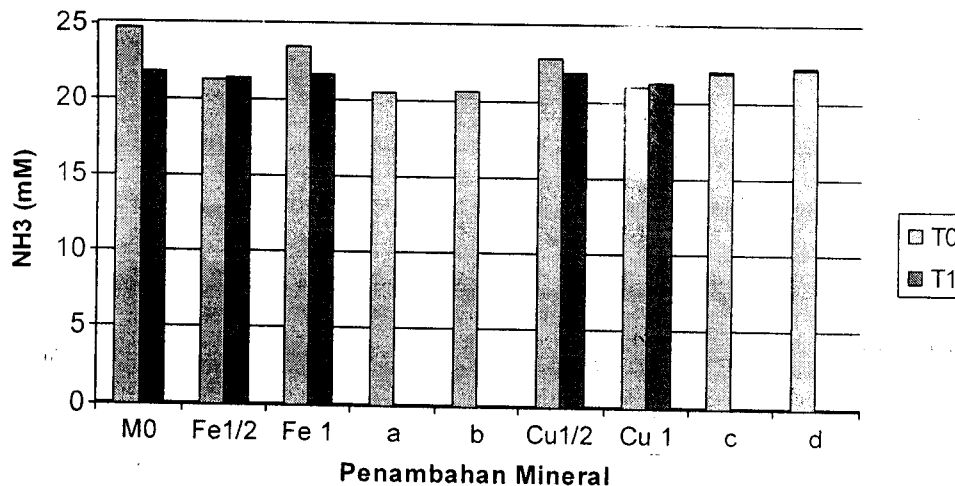
Berdasarkan uraian di atas maka dapat ditunjukkan penggunaan mineral Cu pada taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 bersifat toksik terutama terlihat pada pencernaan bahan kering selulosa. Penggunaan mineral Fe terutama taraf $\frac{1}{2}$ (5,6 ppm) dapat mengurangi pengaruh negatif tanin yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan pencernaan bahan kering kasein yang ditambahkan tanin terutama, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata pada semua taraf. Sedangkan pada substrat selulosa, penambahan mineral Fe sinergis dengan tanin menurunkan pencernaan bahan kering selulosa.

Konsentrasi NH_3

Konsentrasi NH_3 dengan Substrat Kasein Pada 0 Jam Inkubasi

Pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap aktifitas tanin pada konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada 0 jam inkubasi disajikan dalam Gambar 3. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada 0 jam inkubasi dengan kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol dan pengaruh penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf.

Hidrolisis protein menjadi asam amino diikuti oleh deaminasi untuk membebaskan amonia (Arora, 1995), di mana tingkat hidrolisis protein tergantung pada daya larutnya. Hasil statistik (Gambar 3) menunjukkan bahwa pada 0 jam yang menurunkan konsentrasi NH_3 pada perlakuan utama dengan substrat kasein adalah faktor tanin ($P < 0.05$). Hal ini berkaitan dengan sifat kasein yang mudah larut. Oleh karena itu memungkinkan terjadinya perbedaan konsentrasi NH_3 karena ada sebagian kasein yang langsung berkaitan dengan tanin. Apabila dianalisis secara HAK tunggal, maka perlakuan pada 0 jam secara umum tidak berbeda nyata.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral atau sulfat, Fe 1/2 = Fe taraf 1/2 (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu 1/2 = Cu taraf 1/2 (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : a = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf 1/2, b = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf 1, c = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf 1/2, d = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf 1.

Gambar 3. Rataan Konsentrasi NH_3 Kasein Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan (0 Jam).

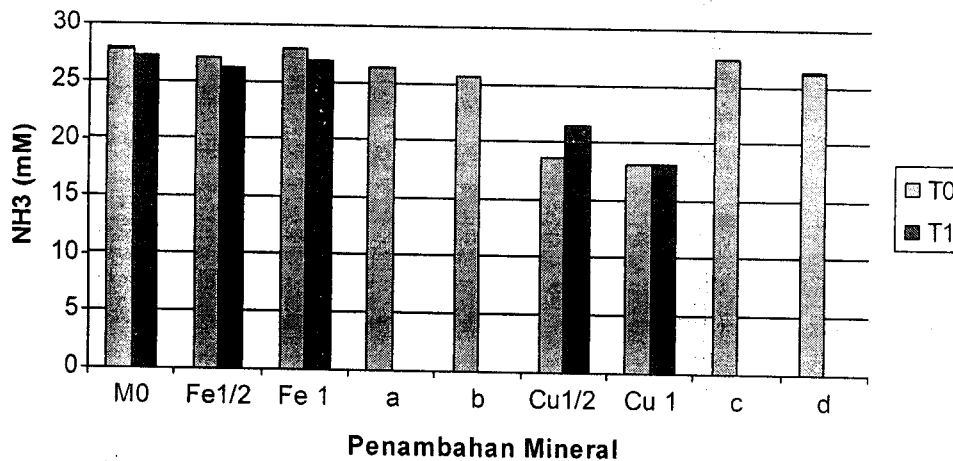
Hasil analisis statistik menunjukkan perlakuan tambahan dengan substrat kasein pada 0 jam mempengaruhi konsentrasi NH_3 , yaitu konsentrasi NH_3 perlakuan 0 dan d nyata lebih tinggi dari perlakuan a, b, dan c. Pada gambar 3 diperlihatkan bahwa secara umum konsentrasi NH_3 pada semua perlakuan hampir sama. Perbedaan yang terjadi karena pengaruh waktu pemberian HgCl_2 untuk menghentikan proses fermentasi dalam waktu 0 jam dan tingkat kelarutan kasein yang tinggi.

Konsentrasi NH_3 dengan Substrat Kasein Pada 3 Jam Inkubasi

Gambar 4 memperlihatkan pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf (0, 1/2, dan 1) terhadap aktifitas tanin pada konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada 3 jam inkubasi. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada 3 jam inkubasi dengan kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol dan pengaruh penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf.

Konsentrasi NH_3 pada perlakuan utama dengan substrat kasein setelah 3 jam inkubasi tidak dipengaruhi oleh kondisi penambahan tanin. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4, antara kondisi yang ditambah tanin maupun tidak ditambah tanin tidak berbeda nyata. Pengaruh tanin yang belum terlihat ini kemungkinan disebabkan oleh

jumlah populasi mikroba rumen sampai 3 jam inkubasi masih sedikit sehingga kebutuhan nutrisinya sedikit. Hal ini terlihat dari peningkatan konsentrasi NH_3 dari 0 jam sampai 3 jam inkubasi tidak terlalu banyak. Kondisi tersebut memungkinkan mikroba rumen hanya menggunakan bagian protein yang tidak terikat tanin.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral atau sulfat, Fe $\frac{1}{2}$ = Fe taraf $\frac{1}{2}$ (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu $\frac{1}{2}$ = Cu taraf $\frac{1}{2}$ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : o (Mo) = tanpa penambahan H_2SO_4 , a = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf $\frac{1}{2}$, b = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf 1, c = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf $\frac{1}{2}$, d = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf 1.

Gambar 4. Rataan Konsentrasi NH_3 Kasein Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan (3 Jam)

Jenis mineral dan taraf mineral berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap konsentrasi NH_3 , terutama pada penambahan mineral Cu taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 menurunkan konsentrasi NH_3 . Pada kondisi tanpa tanin penambahan Cu taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 berbeda nyata dengan taraf 0 (tanpa penambahan mineral Cu). Sedangkan pada kondisi dengan penambahan tanin, penambahan Cu pada taraf $\frac{1}{2}$ berbeda nyata dengan taraf 1. Hal ini menunjukkan adanya korelasi antara jenis mineral dengan taraf mineral ($P < 0,01$). Semakin tinggi penambahan mineral Cu menurunkan konsentrasi NH_3 pada substrat kasein setelah 3 jam inkubasi pada kondisi tanpa tanin maupun dengan adanya tanin. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan mineral Cu pada taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 bersifat toksik bagi kondisi rumen sehingga menghambat pencernaan protein menghasilkan amonia oleh mikroba.

Hasil statistik uji kontras ortogonal menunjukkan bahwa pada penambahan jenis mineral Fe tidak menyebabkan penurunan konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein setelah 3 jam inkubasi, bahkan tidak berbeda nyata antara kondisi dengan penambahan tanin atau tanpa tanin. Hal ini menunjukkan penambahan Fe dengan taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 tidak menyebabkan pengaruh negatif terhadap konsentrasi NH_3 kasein. Namun dalam kondisi ini tidak ada interaksi antara tanin dan jenis mineral Fe karena pengaruh tanin setelah 3 jam inkubasi tidak nyata.

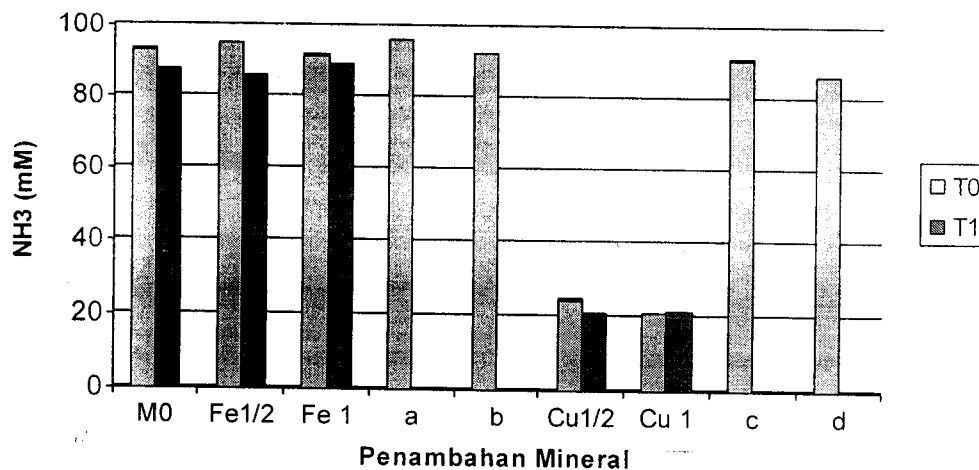
Pada perlakuan tambahan, penambahan sulfat tidak mempengaruhi konsentrasi NH_3 setelah 3 jam inkubasi pada substrat kasein (Gambar 4). Menurut Church (1979) produksi sulfida yang dibutuhkan mikroba rumen untuk sintesis protein mikroba meningkat dengan adanya kasein. Kondisi ini menyebabkan penggunaan S-sulfat berkurang.

Konsentrasi NH_3 dengan Substrat Kasein Pada 48 Jam Inkubasi

Pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap aktifitas tanin pada konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada 48 jam inkubasi disajikan dalam Gambar 5. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada 48 jam inkubasi dengan kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol dan pengaruh penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf.

Konsentrasi NH_3 semakin meningkat setelah 48 jam inkubasi dan merupakan akumulasi NH_3 yang terbentuk selama proses fermentasi. Kondisi penambahan tanin sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan konsentrasi NH_3 pada perlakuan utama dengan substrat kasein setelah 48 jam inkubasi (Gambar 5). Hal ini disebabkan adanya pertumbuhan mikroba rumen, sehingga semakin bertambah waktu inkubasi jumlahnya semakin meningkat. Peningkatan jumlah mikroba rumen sangat besar terlihat dari peningkatan konsentrasi NH_3 dari 3 jam sampai 48 jam inkubasi sangat besar. Peningkatan jumlah mikroba rumen yang besar menyebabkan peningkatan kebutuhan nutrisi mikroba yang besar pula. Dengan demikian mikroba rumen akan menggunakan zat makanan yang ada dalam jumlah yang lebih besar untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya sehingga pada 48 jam inkubasi baru terlihat adanya pengaruh tanin.

Jenis mineral dan taraf mineral sangat nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi konsentrasi NH_3 pada perlakuan utama dengan substrat kasein setelah 48 jam inkubasi (Gambar 5). Konsentrasi NH_3 pada penambahan Cu taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 nyata menurunkan konsentrasi NH_3 pada kondisi penambahan tanin maupun tanpa tanin. Hal ini berarti terdapat korelasi negatif jenis mineral Cu dan taraf mineral Cu tetapi tidak ada interaksi antara tanin dengan jenis dan taraf mineral. Hasi pencernaan bahan kering kasein tidak dipengaruhi mineral Cu sedangkan konsentrasi NH_3 menurun dengan adanya mineral Cu. Hal ini terjadi karena pencernaan bahan kering kasein lebih banyak disebabkan oleh tingkat kelarutannya, sedangkan konsentrasi NH_3 merupakan hasil dari proses pencernaan protein yang membebaskan amonia dan melibatkan mikroba rumen maupun enzim. Penurunan konsentrasi NH_3 akibat penambahan mineral Cu menunjukkan pemberian Cu bersifat toksik bagi kondisi rumen. Hal ini terlihat pada konsentrasi NH_3 dari 0 sampai 48 jam inkubasi hampir sama dan dapat dikatakan tidak terjadi produksi amonia.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral atau sulfat, Fe ½ = Fe taraf ½ (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu ½ = Cu taraf ½ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : a = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Fe taraf ½, b = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Fe taraf 1, c = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Cu taraf ½, d = taraf SO₄ setara dengan SO₄ pada Cu taraf 1.

Gambar 5. Rataan Konsentrasi NH₃ Kasein Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan (48 Jam)

Penambahan mineral Fe pada semua taraf tidak mempengaruhi konsentrasi NH₃ pada kondisi dengan penambahan tanin maupun tanpa tanin (Gambar 5). Hal ini menunjukkan penambahan mineral Fe pada taraf ½ dan 1 belum dapat mengurangi pengaruh negatif tanin terhadap konsentrasi NH₃.

Gambar 5 memperlihatkan semakin tinggi penambahan sulfat memiliki kecenderungan menurunkan konsentrasi NH₃ setelah 48 jam inkubasi, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata. Hasil ini paralel dengan hasil yang ditunjukkan pada pencernaan bahan kering kasein (Gambar 1) bahwa kecenderungan menurun yang terjadi akibat dari pengaruh asam pada perlakuan tambahan bukan karena penambahan sulfat.

Konsentrasi NH₃ dengan Substrat Selulosa

Pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap aktifitas tanin pada konsentrasi NH₃ dengan substrat selulosa pada 0, 3, dan 48 jam inkubasi disajikan dalam Gambar 6. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap konsentrasi NH₃ dengan substrat selulosa pada kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol.

Pada substrat selulosa produksi NH₃ sangat sedikit dan relatif tidak ada peningkatan dari 0 sampai 48 jam inkubasi. Apalagi penambahan mineral Cu sudah bersifat toksik sehingga tidak ada produksi NH₃. Pada perlakuan penambahan mineral Fe menunjukkan adanya pencernaan bahan kering selulosa (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba rumen tidak terganggu meskipun relatif tidak ada peningkatan konsentrasi NH₃ dari 0 sampai 48 jam inkubasi. Kebutuhan NH₃ untuk pertumbuhan mikroba rumen masih dapat dipenuhi oleh sumber N yang terdapat dalam cairan rumen, larutan buffer, maupun N yang dilepaskan kembali pada proses siklus hidup mikroba rumen. Selain itu Gambar 6 memperlihatkan pada perlakuan penambahan mineral Fe pada berbagai taraf memiliki kisaran konsentrasi NH₃ antara 12 mM-18 mM. Menurut Preston dan Leng (1987) kisaran NH₃ normal cairan rumen 2,94 – 14,7 mM.

Apabila dibandingkan dengan substrat kasein, maka produksi NH_3 pada substrat kasein sangat tinggi karena substrat merupakan protein murni.

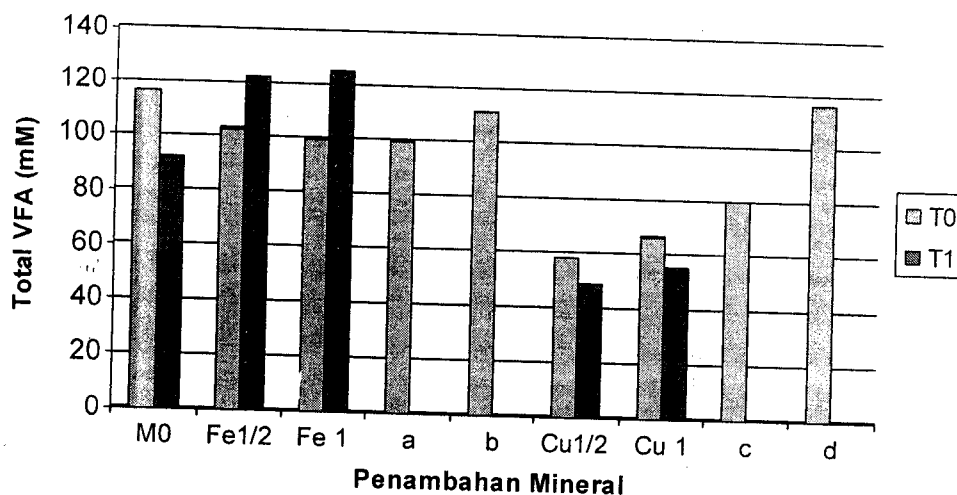
Berdasarkan hasil pembahasan menunjukkan bahwa kondisi penambahan tanin pada 3 jam tidak mempengaruhi konsentrasi NH_3 akibat jumlah mikroba rumen hanya sedikit sehingga kebutuhan nutrisi dapat dipenuhi dengan substrat kasein yang tidak terikat tanin. Baru pada 48 jam fermentasi setelah jumlah mikroba rumen meningkat sangat banyak dan kebutuhan nutrisi juga meningkat, konsentrasi NH_3 dipengaruhi oleh tanin. Penggunaan mineral Cu tidak memungkinkan untuk mengurangi pengaruh negatif tanin terhadap konsentrasi NH_3 karena pada taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 menyebabkan pengaruh negatif terhadap aktifitas proteolitik. Penambahan mineral Fe belum dapat mengurangi pengaruh negatif tanin terhadap konsentrasi NH_3 kasein, tetapi secara umum konsentrasi NH_3 pada penambahan mineral Fe dengan kondisi penambahan tanin termasuk tinggi.

Konsentrasi Total Volatile Fatty Acids (VFA)

Konsentrasi Total VFA Pada Substrat Kasein

Pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap aktifitas tanin pada konsentrasi total VFA dengan substrat kasein pada 48 jam inkubasi disajikan dalam Gambar 7. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap konsentrasi total VFA dengan substrat kasein pada 48 jam inkubasi dengan kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol dan pengaruh penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tanin menurunkan produksi VFA dan sintesis protein mikroba (Kumar dan Singh, 1984; Makkar *et al.*, 1988c, dalam Makkar, 1993). Kondisi penambahan tanin menurunkan konsentrasi total VFA pada substrat kasein (Gambar 7). Pengaruh negatif tanin ini dapat dihilangkan dengan penambahan mineral Fe pada taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 ($P < 0,01$). Hal ini menunjukkan adanya ikatan tanin-mineral Fe sehingga menurunkan pengaruh negatif tanin. Scalbert *et al.* (1996) melaporkan beberapa referensi yang mendukung bahwa molekul tanin dapat membentuk kompleks yang stabil dengan ion metal termasuk Fe.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral atau sulfat, Fe ½ = Fe taraf ½ (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu ½ = Cu taraf ½ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : a = taraf SO4 setara dengan SO4 pada Fe taraf ½, b = taraf SO4 setara dengan SO4 pada Fe taraf 1, c = taraf SO4 setara dengan SO4 pada Cu taraf ½, d = taraf SO4 setara dengan SO4 pada Cu taraf 1.

Gambar 7. Rataan Konsentrasi Total VFA dengan Substrat Kasein Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan (48 Jam)

Jenis mineral sangat nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi konsentrasi total VFA. Jenis mineral Cu menurunkan konsentrasi total VFA dengan substrat kasein atau dapat dikatakan bahwa penambahan Cu sudah bersifat toksik bagi mikroba sehingga tidak terjadi produksi VFA. Taraf mineral sangat nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi konsentrasi total VFA ditunjukkan oleh adanya perbedaan konsentrasi total VFA antara taraf 0 dengan ½ atau 1 pada mineral Fe maupun Cu. Dengan demikian terjadi korelasi antara jenis mineral dengan taraf mineral.

Gambar 7 memperlihatkan bahwa pada perlakuan tambahan dengan substrat kasein, konsentrasi total VFA perlakuan a dan c lebih rendah daripada perlakuan o, b, dan d, walaupun hasil analisis statistik memperlihatkan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata satu sama lain. Hal ini menunjukkan hasil yang kurang teratur tidak seperti pada pencernaan bahan kering kasein dan konsentrasi NH_3 kasein pada 48 jam setelah inkubasi memiliki kecenderungan penurunan dengan meningkatnya taraf H_2SO_4 . Ketidakteraturan ini kemungkinan disebabkan variasi hasil yang besar karena VFA mudah menguap sehingga memerlukan kecepatan waktu dalam analisisnya. Dengan demikian dikaitkan dengan hasil pencernaan bahan kering kasein dan konsentrasi NH_3 , penambahan S-sulfat secara umum tidak mempengaruhi konsentrasi total VFA karena kebutuhan akan sulfida sudah banyak dicukupi dari substrat kasein.

Konsentrasi Total VFA Pada Substrat Selulosa

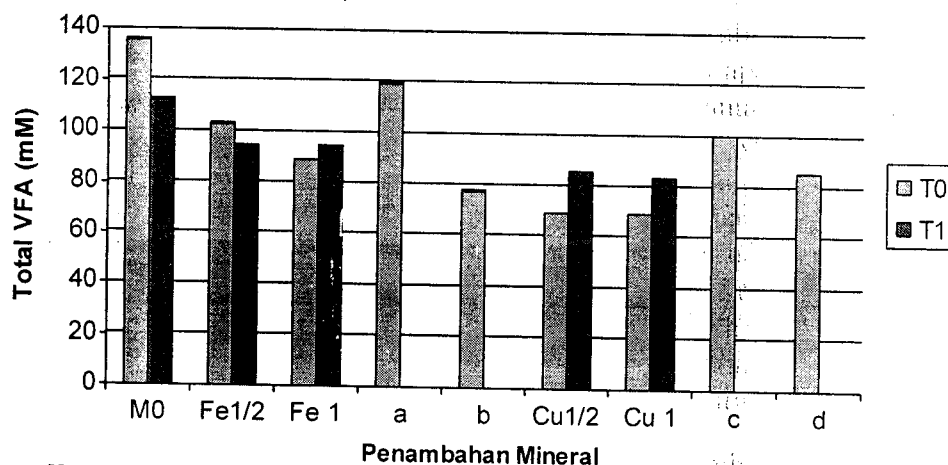
Pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap aktifitas tanin pada konsentrasi total VFA dengan substrat selulosa pada 48 jam inkubasi disajikan dalam Gambar 8. Selain itu diperlihatkan pula pengaruh penambahan mineral Fe dan Cu pada berbagai taraf terhadap konsentrasi total VFA dengan substrat selulosa pada 48 jam inkubasi dengan kondisi tanpa penambahan tanin sebagai kontrol dan pengaruh

penambahan H_2SO_4 pada berbagai taraf.

Hasil analisis statistik uji kontras ortogonal memperlihatkan sebenarnya kondisi penambahan tanin mempengaruhi konsentrasi total VFA pada substrat selulosa. Konsentrasi total VFA pada perlakuan penambahan tanin dengan taraf mineral 0 lebih rendah daripada kontrol (tanpa penambahan tanin dan tanpa penambahan mineral). Analisis sidik ragam secara faktorial memperlihatkan tanin tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi total VFA dengan selulosa diakibatkan tertutupnya pengaruh tanin oleh penambahan mineral.

Secara umum Gambar 8 memperlihatkan penambahan mineral Fe dan Cu menurunkan konsentrasi total VFA pada substrat selulosa apabila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini ditunjukkan dari hasil analisis statistik antara jenis mineral Fe dan Cu tidak berbeda dalam mempengaruhi konsentrasi total VFA, yaitu keduanya menurunkan konsentrasi total VFA. Dengan demikian taraf 0 berbeda nyata dengan taraf $\frac{1}{2}$ atau 1.

Mineral Fe memperlihatkan pengaruh negatif terhadap konsentrasi total VFA dengan substrat selulosa ($P < 0,01$). Hasil ini paralel dengan hasil pencernaan bahan kering selulosa. Pemanfaatan mineral Fe untuk pertumbuhan mikroba rumen tidak didukung karena substrat seluruhnya adalah selulosa sehingga jumlah NPN maupun asam amino terbatas. Selanjutnya menimbulkan pengaruh sinergis antara tanin dan mineral Fe menurunkan pencernaan bahan kering selulosa dan produksi total VFA.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin; perlakuan utama; M0 = kontrol (tanpa penambahan mineral atau sulfat, Fe $\frac{1}{2}$ = Fe taraf $\frac{1}{2}$ (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu $\frac{1}{2}$ = Cu taraf $\frac{1}{2}$ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm), perlakuan tambahan : a = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf $\frac{1}{2}$; b = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Fe taraf 1, c = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf $\frac{1}{2}$, d = taraf SO_4 setara dengan SO_4 pada Cu taraf 1.

Gambar 8. Rataan Konsentrasi Total VFA dengan Substrat Selulosa Pada Perlakuan Utama dan Perlakuan Tambahan (48 Jam)

Secara umum perlakuan tambahan untuk substrat selulosa tidak nyata mempengaruhi konsentrasi total VFA. Hasil ini paralel dengan hasil analisis pencernaan bahan kering selulosa pada perlakuan tambahan (Gambar 2) bahwa penambahan sulfat pada perlakuan tidak mempengaruhi pencernaan bahan kering selulosa.

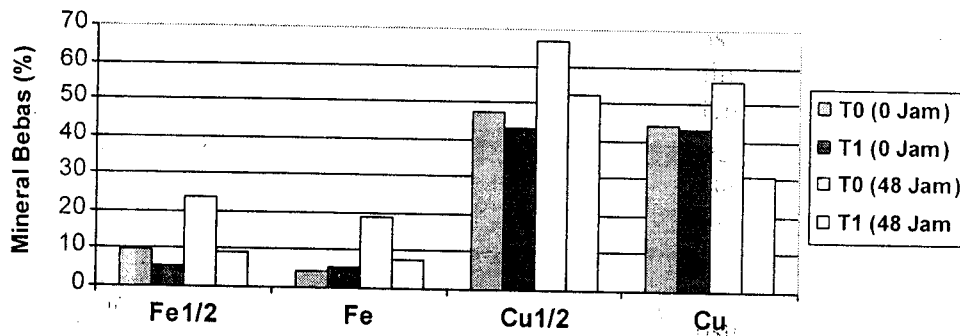
Berdasarkan pembahasan di atas, mineral Fe masih dapat diharapkan untuk mengurangi pengaruh tanin khususnya terhadap substrat protein sedangkan pada substrat selulosa menimbulkan pengaruh negatif bersama tanin. Sedangkan mineral Cu pada taraf $\frac{1}{2}$ dan 1 tidak dapat digunakan untuk mengurangi pengaruh tanin karena bersifat toksik terhadap kondisi rumen.

Mineral Fe dan Cu yang Bebas

Mineral yang bebas merupakan bagian dari total mineral yang ditambahkan dan terdapat dalam supernatan serta diasumsikan tidak terikat dengan tanin, substrat maupun mikroba rumen. Jumlah mineral yang bebas dinyatakan dengan satuan persen (%), yaitu hasil perbandingan antara jumlah mineral bebas dalam satuan ppm terhadap jumlah mineral yang ditambahkan dalam satuan ppm dikalikan 100%.

Persentase Mineral yang Bebas Pada Substrat Kasein

Persentase mineral Fe dan Cu yang bebas pada substrat kasein setelah 0 dan 48 jam inkubasi dengan kondisi dengan penambahan tanin dan tanpa tanin disajikan pada Gambar 9.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin, Fe 1/2 = Fe taraf 1/2 (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu 1/2 = Cu taraf 1/2 (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm)

Gambar 9. Rataan Persentase Mineral yang Bebas Pada Substrat Kasein

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada 0 jam dengan substrat kasein, hanya jenis mineral yang mempengaruhi persentase mineral yang bebas ($P < 0,01$). Dalam Gambar 9 diperlihatkan bahwa pada 0 jam persentase mineral Cu yang bebas jauh lebih banyak daripada mineral Fe yang bebas. Hal ini disebabkan mineral Fe lebih reaktif terhadap protein dibandingkan mineral Cu, sedangkan pengaruh tanin pada 0 jam belum terlihat. Menurut Darmono (1995), hampir semua ion logam selalu berinteraksi dengan kompleks protein secara cepat. Makin tinggi muatan kation dari logam semakin kuat ikatannya dengan protein. Bila muatannya sama maka makin kecil ukuran ion tersebut semakin stabil ikatannya. Urutan itu berdasarkan kestabilan ikatannya adalah $Mn^{2+} > Fe^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+}$. Selain itu secara absolut jumlah mineral Cu yang ditambahkan jauh lebih banyak daripada penambahan mineral Fe.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persentase mineral yang bebas setelah 48 jam inkubasi dengan substrat kasein menurun pada kondisi dengan penambahan tanin ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya ikatan tanin dan mineral. Demikian pula jenis mineral sangat nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi persentase mineral yang bebas, yaitu mineral Cu lebih banyak yang bebas daripada mineral Fe. Hal ini menunjukkan mineral Fe lebih reaktif berikatan dengan, sedangkan banyaknya persentase mineral Cu yang bebas (> 26 ppm) bersifat toksik bagi kondisi rumen.

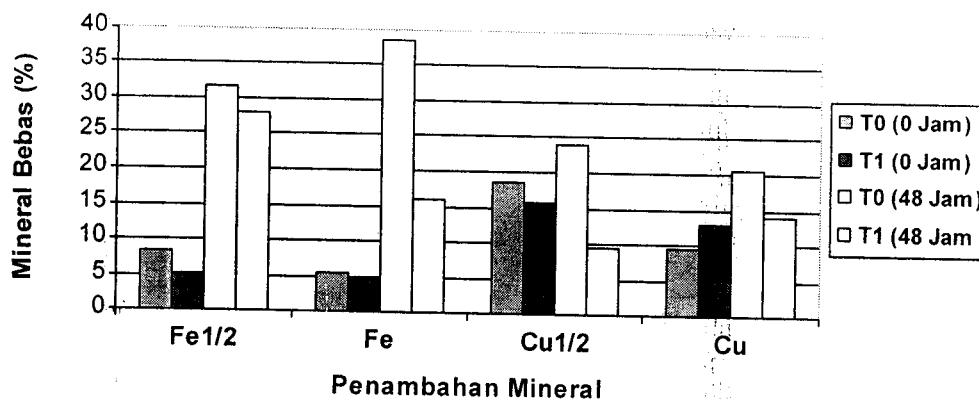
Gambar 9 memperlihatkan persentase mineral yang bebas pada taraf 1/2 pada kedua jenis mineral setelah 48 jam inkubasi lebih besar daripada taraf 1. Setelah dikonversikan ke dalam satuan ppm, maka jumlah mineral yang bebas pada taraf 1 lebih besar daripada taraf 1/2 sesuai dengan jumlah total mineral yang ditambahkan.

Persentase Mineral yang Bebas Pada Substrat Selulosa

Persentase mineral Fe dan Cu yang bebas pada substrat selulosa setelah 0 jam dan 48 jam inkubasi dengan kondisi penambahan tanin dan tanpa tanin disajikan pada Gambar 10.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada 0 jam hanya jenis mineral yang mempengaruhi persentase mineral bebas ($P < 0,01$) pada substrat selulosa, seperti yang terjadi pada substrat kasein. Pada Gambar 9 dan 10 diperlihatkan persentase mineral Cu yang bebas pada 0 jam untuk substrat selulosa lebih sedikit daripada untuk substrat kasein. Hal ini kemungkinan terjadi karena mineral Cu lebih reaktif terhadap selulosa dibandingkan terhadap protein (kasein). Selain itu tingkat kelarutan selulosa jauh lebih rendah daripada kasein sehingga banyak mineral Cu yang mungkin berkaitan pada selulosa. Platt dan Clydesdale (1987) serta Idouraine *et al.* (1996) melaporkan bahwa mineral dapat berikatan dengan serat (*fiber*). Kapasitas ikatan tergantung jenis mineral dan jenis serat.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persentase mineral yang bebas setelah 48 jam inkubasi nyata ($P < 0,05$) dipengaruhi oleh kondisi penambahan tanin. Hal ini menunjukkan adanya ikatan tanin dengan mineral sehingga menurunkan persentase mineral yang bebas. Jenis mineral nyata ($P < 0,05$) mempengaruhi persentase mineral yang bebas, ditunjukkan oleh mineral Fe yang bebas lebih banyak daripada mineral Cu. Apabila dibandingkan dengan substrat kasein maka pada substrat selulosa persentase mineral Cu yang bebas lebih sedikit. Selain mineral Cu berkaitan dengan tanin, lebih banyak mineral Cu yang berkaitan dengan substrat selulosa. Mineral Cu yang ditambahkan juga terlalu tinggi sehingga bersifat toksik dan berlanjut sampai 48 jam inkubasi. Selulosa tetap utuh tidak tercerna dan tingkat kelarutannya yang rendah menyebabkan banyak mineral Cu yang mungkin berkaitan dengan substrat selulosa.



Keterangan : T0 = tanpa tanin, T1 = tanin, Fe ½ = Fe taraf ½ (5,6 ppm), Fe 1 = Fe taraf 1 (11,2 ppm), Cu ½ = Cu taraf ½ (50,8 ppm), Cu 1 = Cu taraf 1 (101,6 ppm)

Gambar 10. Rataan Persentase Mineral yang Bebas Pada Substrat Selulosa

Secara umum Gambar 9 dan 10 memperlihatkan peningkatan persentase mineral Fe atau Cu yang bebas dari 0 sampai 48 jam inkubasi terutama pada kondisi penambahan tanin. Hal ini kemungkinan disebabkan pada 0 jam masih banyak mineral yang berikatan dengan substrat. Selain itu mineral Fe atau Cu yang diperlukan mikroba rumen akan terlepas kembali pada proses siklus hidup mikroba.

Berdasarkan hasil pembahasan di atas, secara umum mineral Fe dan Cu dapat berikatan dengan tanin. Namun jenis mineral mempengaruhi tingkat kereaktifan tanin membentuk kompleks dengan mineral. Mineral Fe lebih reaktif terhadap tanin

dibandingkan dengan mineral Cu yaitu untuk membentuk kompleks dengan sejumlah tanin diperlukan konsentrasi Fe yang lebih sedikit daripada konsentrasi Cu. Pada penambahan mineral Cu, ternyata persentase mineral yang bebas bersifat toksik bagi kondisi rumen.

KESIMPULAN

Penambahan mineral Fe sinergis dengan tanin menurunkan pencernaan bahan kering selulosa ($P < 0,01$). Penambahan mineral Fe dengan taraf $\frac{1}{2}$ (5,6 ppm) untuk mengurangi pengaruh negatif tanin dengan adanya peningkatan pencernaan bahan kering kasein secara statistik tidak berbeda nyata.

Penambahan mineral Fe belum dapat mengurangi pengaruh tanin dalam menurunkan konsentrasi NH_3 . Tetapi secara umum konsentrasi NH_3 dengan substrat kasein pada semua perlakuan termasuk tinggi.

Penambahan mineral Fe pada taraf $\frac{1}{2}$ (5,6 ppm) telah dapat mengurangi pengaruh tanin terhadap konsentrasi total VFA dengan substrat kasein ($P < 0,01$) sedangkan pada substrat selulosa, penambahan mineral Fe sinergis dengan tanin menurunkan konsentrasi total VFA ($P < 0,01$).

Penambahan mineral Cu pada taraf $\frac{1}{2}$ (50,8 ppm) dan 101,6 ppm terlalu tinggi dan bersifat toksik terhadap kondisi rumen sehingga taraf tersebut tidak dapat digunakan untuk mengurangi pengaruh negatif tanin.

Secara umum penambahan sulfat yang terdapat pada kompleks mineral Fe dan Cu tidak mempengaruhi pencernaan bahan kering kasein dan selulosa, konsentrasi NH_3 kasein, serta konsentrasi total VFA kasein dan selulosa.

Persentase mineral yang bebas pada kondisi penambahan tanin menurun ($P < 0,05$) setelah 48 jam inkubasi menunjukkan terjadi ikatan antara mineral dengan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Arora, S.P. 1995. Pencernaan Mikroba Pada Ruminansia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Church, D.C. 1979. Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants Volume 1. Oxford Press, Inc. Oregon, USA.
- Darmono. 1995. Logam dalam Sistem Biologi Mahluk Hidup. UI Press. Jakarta.
- Durand, M., and R. Kawashima. 1980. Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut USA.
- General Laboratory Procedure. 1966. Department of Dairy Science. University of Wisconsin. Madison.
- Georgievskii, V.I., B.N. Annenkov, and V.T. Samokhin, 1982. Mineral Nutrition of Animals. Butterworths, London.
- Hungate, R.E. 1966. The rumen and its Microbes. Academic Press. New York, USA.
- Idouraine, A., M.J. Khan., and C.W. Weber. 1996. *In Vitro* Binding Capacity of Wheat Bran, Rice Bran, and Oat Fiber for Ca, Mg, Cu and Zn alone and in Different Combinations. J. Agric. Food Chem. 44 : 2067 – 2072.
- Leinmuller, E., H. Steingass., and K.H. Menke. 1991. Tannins in Ruminant Feedstuffs. Animal Research and Development Volume 33.
- Lu. F.C. 1995. Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko. UI Press. Jakarta.
- Makkar, H.P.S., B. Singh, and R.K. Dawra. 1987. Tanin-Nutrient Interactions – A review. J. Anim. Sci. 2(2) 127 – 140.
- Makkar, H.P.S. 1993. Antinutritional Factors in Foods for Livestock. British Society of Anim. Prod. Occasional Publication No. 16.
- Platt, S.R. and F.M. Clydesdale. 1987. Mineral Binding Characteristics of Lignin, Guar Gum, Cellulose, Pectin, and Neutral Detergent Fiber Under Stimulated Doudenal pH conditions. J. Food Sci. 52: 1414-1419.
- Preston, T.R. and R.A. Leng. 1987. Matching Ruminant Production System with Available Resources in The Tropics. Penambul Books. Armidale.
- Rodwell, V.W. 1992. Protein dalam Biokimia Harper edisi 20. EGC. Jakarta.
- Scalbert, A., M. McDonald, and I. Mila. 1996. Precipitation of Metal Ions by Plant Polyphenol : Optimal Condition and Origin of Precipitation. J. Agric. Food Chem. 44 : 599-606.
- Sewet, U. 1997. Dinamika Populasi dan Aktivitas Fermentasi Mikroba Rumen Kambing yang Diberi Pakan Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*), Tesis. Program Studi Pascasarjana IPB. Bogor.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. Two stages technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. British Grassland Soc., 18: 104.