



INTERAKSI PROBIOTIK *Lactiplantibacillus plantarum* DENGAN BERBAGAI FEED ADDITIVE TERHADAP FERMENTABILITAS RUMEN DAN MITIGASI METANA SECARA *IN VITRO*

ILMA ISLAMI



PROGRAM STUDI ILMU NUTRISI DAN PAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Interaksi Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* dengan Berbagai *Feed Additive* terhadap Fermentabilitas Rumen dan Mitigasi Metana secara *In vitro*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juni 2024

Ilma Islami
D2501231045



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

ILMA ISLAMI. Interaksi Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* dengan Berbagai *Feed Additive* terhadap Fermentabilitas Rumen dan Mitigasi Metana secara *In vitro*. Dibimbing oleh DWIERRA EVVYERNIE AMIRROENAS dan RONI RIDWAN.

Fermentasi rumen menghasilkan produk akhir berupa gas metana. Produksi metana menyebabkan kehilangan sebesar 2%-12% *gross energy intake* (GEI). Dampak yang terjadi harus segera diatasi untuk meningkatkan produksi. Penggunaan *feed additive* dilakukan sebagai strategi mengurangi kehilangan energi. *Feed additive* yang aman digunakan bagi ternak seperti probiotik, prebiotik, ekstrak tanaman, dan enzim. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi pengaruh penambahan probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*), xilooligosakarida (XOS), XOS terproteksi tanin, enzim selulase, dan kombinasinya terhadap fermentabilitas rumen dan produksi metana, serta mengevaluasi interaksi antara probiotik *L. plantarum* dengan berbagai *feed additive* terhadap fermentabilitas rumen dan produksi metana. Penelitian ini terdiri atas dua tahap yaitu tahap persiapan bahan penelitian dan fermentasi *in vitro*. Tahap pertama yaitu penyusunan ransum, menumbuhkan probiotik *L. plantarum* dalam medium perlakuan yang dibagi dalam tiga perlakuan serta tiga ulangan dengan rancangan acak lengkap, dan produksi XOS secara enzimatik menggunakan enzim selulase dari *Actinomycetes*. Tahap kedua yaitu fermentasi *in vitro* menggunakan cairan rumen sapi *Peranakan Ongole* dan persentase ransum 40% rumput gajah:60% konsentrat. Tahap ini dibagi dalam empat belas perlakuan serta lima ulangan dengan rancangan acak kelompok. Parameter yang diamati di antaranya yaitu mikrobiologi probiotik, analisis oligosakarida, pH, konsentrasi amonia (N-NH₃), *volatile fatty acids* (VFA) parsial, pencernaan bahan kering (KcBK), pencernaan bahan organik (KcBO), total gas, kinetika gas, produksi metana, dan populasi bakteri rumen. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan *Pearson's correlation* (r) serta perlakuan yang berbeda nyata (P<0,05) pada medium probiotik diuji dengan uji lanjut Duncan, sedangkan variabel fermentasi yang berbeda nyata (P<0,05) diuji dengan kontras Ortogonal yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan menggunakan SAS (*Statistical Analysis System*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang nyata (P<0,05) terhadap pH probiotik, asetat (C₂), propionate (C₃), isobutirat, butirat, isovalerat, rasio C₂:C₃, total gas, kinetika gas, metana, total bakteri, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola*, *L. plantarum*, *Selenomonas ruminantium*, dan metanogen, sedangkan perlakuan lainnya tidak menunjukkan perbedaan. Simpulan penelitian ini adalah penambahan 3,48% dekstrosa, 0,3% lisin, dan 0,3% metionin mampu menurunkan pH medium. Xilan dari pelepah sawit dapat dihidrolisis menjadi xilooligosakarida oleh enzim selulase dari *Actinomycetes*. Penggunaan 1% dan 3% XOS, 1% dan 3% XOS terproteksi tanin secara tunggal, serta kombinasinya dengan probiotik *L. plantarum* dan enzim selulase mampu menurunkan produksi gas metana. Kombinasi probiotik dengan *feed additive* terbukti lebih efisien dalam mengurangi metana.

Kata kunci: enzim selulase, *Lactiplantibacillus plantarum*, mitigasi metana, xilooligosakarida.



SUMMARY

ILMA ISLAMI. Interaction of Probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* with Various Feed Additives on Rumen Fermentability and Methane Gas Mitigation *In Vitro*. Supervised by DWIERRA EVVYERNIE and RONI RIDWAN.

Rumen fermentation produces the end product of methane gas. Methane production causes losses of 2%-12% of gross energy intake (GEI). The impact that occurs must be addressed immediately to increase production. Feed additives are used as a strategy to reduce energy loss. Feed additives safe for livestock include probiotics, prebiotics, plant extracts, and enzymes. This study aims to identify the effect of the addition of probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*), xylooligosaccharide (XOS), tannin-protected XOS, cellulase enzyme, and their combination on rumen fermentability and methane production, and evaluate the interaction between probiotic *L. plantarum* and various feed additives on rumen fermentability and methane production. This research consisted of two stages: preparation of research materials and *in vitro* fermentation. The first stage was the preparation of the ration, growing probiotic *L. plantarum* in the treatment medium, which was divided into three treatments and three replications with a complete randomized design, and enzymatic production of XOS using cellulase enzymes from Actinomycetes. The second stage was *in vitro* fermentation using Peranakan Ongole cattle rumen fluid and a ration percentage of 40% elephant grass:60% concentrate. This stage was divided into fourteen treatments and five replicates with a group randomized design. Parameters observed included probiotic microbiology, oligosaccharide analysis, pH, ammonia concentration (N-NH₃), partial volatile fatty acids (VFA), dry matter digestibility (KcBK), organic matter digestibility (KcBO), total gas, gas kinetics, methane production, and rumen bacterial population. Data were analyzed using *Analysis of Variance* (ANOVA) and *Pearson's correlation* (r), and treatments that differed significantly ($P < 0.05$) on the probiotic medium were tested with Duncan's further test. In contrast, fermentation variables that differed significantly ($P < 0.05$) were tested with Orthogonal contrast and divided into four treatment groups using SAS (*Statistical Analysis System*). The results showed that the treatments had a significant effect ($P < 0.05$) on probiotic pH, acetate (C₂), propionate (C₃), isobutyrate, butyrate, isovalerate, C₂:C₃ ratio, total gas, gas kinetics, methane, total bacteria, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola*, *L. plantarum*, *Selenomonas ruminantium*, and methanogens, while other treatments showed no difference. This study concludes that adding 3.48% dextrose, 0.3% lysine, and 0.3% methionine can reduce the pH of the medium. Xylan from palm fronds can be hydrolyzed into xylooligosaccharides by cellulase enzyme from Actinomycetes. Using 1% and 3% XOS, 1% and 3% tannin-protected XOS singly, and their combination with probiotic *L. plantarum* and cellulase enzyme reduced methane gas production. Combining probiotics with feed additives proved to be more efficient in reducing methane.

Keywords: cellulase enzyme, *Lactiplantibacillus plantarum*, methane mitigation, xylooligosaccharides.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



IPB University
— Bogor Indonesia —



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



INTERAKSI PROBIOTIK *Lactiplantibacillus plantarum* DENGAN BERBAGAI FEED ADDITIVE TERHADAP FERMENTABILITAS RUMEN DAN MITIGASI GAS METANA SECARA *IN VITRO*

ILMA ISLAMI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Nutrisi dan Pakan

**PROGRAM STUDI ILMU NUTRISI DAN PAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Interaksi Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* dengan Berbagai *Feed Additive* terhadap Fermentabilitas Rumen dan Mitigasi Metana secara *In Vitro*

Nama : Ilma Islami
NIM : D2501231045

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Ir. Dwierra Evvyernie A, M.S., M.Sc.

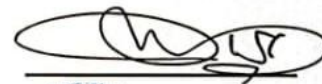


Pembimbing 2:
Dr. Roni Ridwan, S.Pt., M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi Ilmu Nutrisi dan Pakan:
Prof. Dr. Ir. Dewi Apri Astuti M.S.
NIP. 196110051985032001



Dekan Fakultas Peternakan:
Dr. Ir. Idat Galih Permana, M.Sc. Agr.
NIP. 196705061991031001



Tanggal Ujian:
25 Juni 2024

Tanggal Lulus:





@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Agustus 2023 sampai bulan Februari 2024 ini ialah tesis, dengan judul “Interaksi probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* dengan berbagai *feed additive* terhadap fermentabilitas rumen dan mitigasi gas metana secara *in vitro*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. Ir. Dwierra Evvyernie Amirroenas, M.S., M.Sc. selaku pembimbing utama, serta Dr. Roni Ridwan, S.Pt., M.Si. selaku pembimbing anggota yang telah membimbing, memberikan kritik dan masukan sehingga karya tulis ilmiah ini terselesaikan tepat waktu. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Asep Sudarman, M. Rur. Sc sebagai moderator seminar dan Prof. Dr. Ir. I Komang Gede Wiryawan sebagai penguji luar komisi. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada LPDP-RIIM BRIN tahun 2022, Grant No. B-803//II.7.5/FR/6/2022 dan B-1373/III/PR.03.08/06/2022 atas pendanaan serta kepada Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) dan Laboratorium Genomik dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas penyediaan fasilitas dan dukungan teknis melalui E-Layanan Sains. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Yantyati Widayastuti, Dr. Rusli Fidriyanto, S. Pi, M. Sc, Dr. Ainissya Fitri, S. Pt, M.Si., Ki Ageng Sarwono, S.Pt, M.Sc., M.IL., Dr. Wulansih Dwi Astuti, S. Pt, M. Si., Rohmatussolihat, S.Si, M.Si., beserta staf Laboratorium Kelompok Riset Bioproses Pakan yang telah membantu selama pengumpulan data.

Penulis mengucapkan terima kasih juga kepada ayah Nanang, ibu Nenti, keluarga Ilham maulidan, Ikhsan Muhardiansyah, dan Ega Insani yang telah memberikan dukungan, doa, nasihat, dan kasih sayangnya. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Rosa Aisha, Fikri Fatimah Azzahra, Lintang Dewi Kinanti, Yemima Gresia Sagala, Adilah Adawiah, Febby Febriyanti, Ermiyanti, Dinda Nur Khofifa, Kurnia Intan Permata, Aurelia Nur Sifadela, Veni Fajriani, dan Riki Rizkillah yang telah memberikan semangat dan dukungannya selama penulis menyelesaikan tugas akhir ini. Penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada teman-teman *fast track* 56 atas dukungan dan semangatnya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juni 2024

Ilma Islami

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	iv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
II METODE	4
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Kerja	4
2.4 Perlakuan	10
2.5 Peubah	11
2.6 Rancangan Percobaan	11
2.7 Analisis Data	11
III HASIL DAN PEMBAHASAN	13
3.1 Pemilihan Medium Probiotik	13
3.2 Xilooligosakarida	13
3.3 Karakteristik Fermentasi	15
3.4 Koefisien Cerna Bahan Kering dan Koefisien Cerna Bahan Organik	18
3.5 Produksi Gas, Kinetika Gas, dan Produksi Gas Metana (CH ₄)	19
3.6 Populasi Mikroba Rumen	22
3.7 Hubungan antara Mikroba Rumen dengan Metabolisme Rumen	25
IV SIMPULAN DAN SARAN	28
4.1 Simpulan	28
4.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	37
RIWAYAT HIDUP	42



DAFTAR TABEL

1	Kandungan nutrisi bahan baku dan ransum penelitian	5
2	Sekuen spesifik primer qPCR target mikroba rumen	10
3	Pengaruh perlakuan terhadap populasi bakteri dan nilai pH medium	13
4	Pengaruh ransum perlakuan terhadap pH dan N-NH ₃	15
5	Pengaruh ransum perlakuan terhadap profil VFA parsial	17
6	Pengaruh ransum perlakuan terhadap pencernaan	18
7	Pengaruh ransum perlakuan terhadap total gas, kinetika gas, dan CH ₄	20
8	Kepadatan relatif populasi mikroba dengan 2 ^{-ΔΔCT}	24
9	Korelasi bakteri rumen dengan metabolisme rumen	27

DAFTAR GAMBAR

1	Bagan alir pelaksanaan penelitian	5
2	Kromatogram HPLC XOS (a) dan XOS terproteksi tanin (b)	14
3	Kurva produksi gas	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil uji anova nilai pH	38
2	Hasil uji anova NH ₃	38
3	Hasil analisis <i>volatile fatty acids</i>	38
4	Hasil analisis total gas	39
5	Hasil analisis gas metana	39
6	Hasil analisis <i>lag of time</i> (L)	39
7	Hasil analisis produksi gas potensial (B)	39
8	Hasil analisis laju produksi gas (C)	39
9	Hasil analisis KcBK dan KcBO	40
10	Hasil analisis populasi bakteri	40