

## PENGARUH SENG-FITAT DALAM RANSUM YANG TERCEMAR TIMBAL TERHADAP EKOLOGI RUMEN

Iman Hernaman<sup>a</sup>, Toto Toharmat<sup>b</sup>, Wasmen Manalu<sup>c</sup> dan Putut, I. Pudjiono<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNPAD

<sup>b</sup>Departemen Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB

<sup>c</sup>Bagian Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB

<sup>d</sup>Balai Pengembangan Bioproses dan Teknologi Kimia, LIPI

### Abstrak

Asam fitat banyak terdapat dalam biji-bijian. Senyawa ini dapat mengikat kuat Zn dan Pb. Seng merupakan mineral esensial untuk hewan, tetapi absorpsinya di saluran pencernaan sangat rendah. Penelitian ini mempelajari pengaruh suplementasi Zn-fitat dalam ransum yang tercemar Pb terhadap ekologi rumen. Zn-fitat disuplementasikan ke dalam ransum percobaan sebagai berikut : 1) ransum basal, 2) ransum basal + ZnCl<sub>2</sub>, 3) ransum basal + Pb-asetat, 4) ransum basal + Zn-fitat, 5) ransum basal + Zn-fitat + Pb-asetat. Percobaan *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi ransum percobaan. Hasil menunjukkan bahwa seng-fitat dan kehadiran Pb-asetat tidak mengganggu populasi mikroba, alantoin dan fermentabilitas di rumen, hanya pada suplementasi Zn-fitat dan Pb-asetat dapat meningkatkan konsentrasi VFA dan gas total.

**Kata Kunci** : seng, asam fitat, timbal (Pb), rumen

### Abstract

Phytic acid is high in cereals grain and has high affinity to bound Pb and Zn. Zinc is an essential element in animal, but its absorption from digestive tract is very low. The present experiment aimed to evaluate the effects of Zn-phytate as a Zn supplement in diets containing Pb pollution on rumen ecology. Zinc-phytate was supplemented into experimental diets as follows: 1) basal diet, 2) basal + ZnCl<sub>2</sub>, 3) basal + Pb-acetate, 4) basal + Zn-phytate, 5) basal + Zn-phytate + Pb-acetate. *In vitro* studies were conducted to evaluate the effectiveness of Zn-phytate supplemented into experimental diets. Result indicated that Zinc-phytate or Pb-acetate in the ration had no effect on microorganism population, alantoin and nutrient fermentability in the rumen. Supplementation of Zn-phytate and inclusion of Pb-acetate increased VFA concentration and total gas.

**Keywords**: zinc, phytic acid, lead (Pb), rumen

### Pendahuluan

Ternak ruminansia hanya mampu menyerap Zn ransum sebesar 20-40% (Georgievskii *et al.* 1982), sisanya sebagian besar dikeluarkan bersama-sama dengan feses. Padahal Zn dibutuhkan dalam proses metabolisme tubuh (Cunnane 1987). Ketersediaan Zn-organik dilaporkan lebih baik dibandingkan dengan Zn-anorganik (Rojas *et al.* 1995).

Fosfor dalam biji-bijian sebagian besar berada dalam bentuk asam fitat. Asam fitat (C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub> atau IP6) adalah suatu cincin *myo-inositol* yang mengikat penuh fosfat (Loren 2005). Molekul asam fitat mengandung 12 proton dengan sisi terdisosiasi. Enam sisi merupakan asam kuat dan sisanya adalah asam lemah. Struktur molekul tersebut secara konsisten memiliki kapasitas sebagai *chelating agent* dengan kation multivalensi. Kompleksasi antara asam fitat dan beberapa mineral menunjukkan kekuatan terikat sebagai berikut: Zn<sup>2+</sup>>Cu<sup>2+</sup>>Ca<sup>2+</sup>>Mg<sup>2+</sup> (Costello *et al.* 1976). Potensi asam fitat membentuk kompleks dengan Zn memberikan peluang sebagai alternatif dalam penyajian Zn sebagai suplemen untuk ternak.

Hewan ruminansia dengan mikroba rumennya menghasilkan enzim fitase yang cukup banyak (Park *et al.* 1999) sehingga keberadaan asam fitat pada pakan tidak menjadi masalah dan sebagian besar senyawa tersebut digunakan sebagai sumber P bagi induk semang. Namun demikian, dilaporkan bahwa degradasi asam fitat lambat dan hanya sebagian dari Pnya dimanfaatkan ketika senyawa tersebut berubah konfigurasinya dengan membentuk kompleks dengan kalsium (Morse *et al.* 1992). Apabila dilakukan pembentukan kompleks dengan Zn menjadi kompleks Zn-fitat, kompleks tersebut

kemungkinan akan didegradasi dan melepaskan Zn secara perlahan-lahan (*slow release*) yang akan dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroba rumen dan memacu pertumbuhan ternak. Di samping itu, sebagian lagi Zn-fitat yang lolos dari degradasi mikroba rumen akan teralirkan menuju pascarumen dan diharapkan terjadi pertukaran ion dengan mineral berbahaya seperti Pb di saluran pencernaan pascarumen sebelum diserap tubuh. Pengikatan asam fitat dengan Pb menyebabkan terlepasnya Zn yang kemudian diserap oleh tubuh ternak. Kompleks Pb-fitat yang tidak larut selanjutnya dibawa keluar bersamaan dengan feses sehingga tubuh ternak terhindar dari akumulasi logam berat tersebut.

Timbal merupakan salah satu logam berat yang sangat beracun (Baird, 1995). Senyawa ini mempunyai dampak kesehatan yang luas dan berbahaya yang dapat mempengaruhi hampir semua organ tubuh, misalnya ginjal, hati, sistem saraf, dan gastrointestinal (Baird, 1995). Risiko tubuh ternak tercemar Pb menjadi lebih besar karena tidak adanya standarisasi dan pemeriksaan yang jelas mengenai kadar Pb dalam bahan pakan di Indonesia. Untuk itu, pemberian suplemen dalam ransum ruminansia yang dapat mengikat Pb akan menyebabkan ternak terhindar dari pencemaran logam berat tersebut dan menghasilkan produk pangan yang aman dikonsumsi.

### Metode

Percobaan menggunakan 5 perlakuan ransum terdiri atas 1) Ransum Basal, 2) Ransum Basal + 50 mg/kg Zn ( $ZnCl_2$ ) 3) Ransum Basal+ 50 mg/kg Pb (Pb-asetat) 4) Ransum Basal + 50 mg/kg Zn (Zn-fitat) 5) Ransum Basal + 50 mg/kg Zn (Zn-fitat) + 50 mg/kg Pb (Pb-asetat). Komposisi ransum basal terdiri atas 40% rumput dan 60% konsentrat. Rumput yang digunakan berupa rumput lapangan yang diperoleh dari sekitar kandang, sedangkan konsentrat dibuat sendiri yang terdiri atas jagung kuning, onggok, bungkil kedelai dan kelapa. Komposisi zat-zat makanan, TDN, dan Zn disajikan pada Tabel 1.

Asam fitat diekstrak dari pollard dengan menggunakan larutan asam asetat 1%. Kemudian direaksikan dengan larutan  $ZnCl_2$  pada rasio molaritas 1:2 lalu terjadi endapan seng fitat dan dicampur dengan onggok sebagai pengikat yang digunakan untuk suplementasi seng fitat.  $ZnCl_2$  yang digunakan untuk suplementasi memiliki diklasifikasikan sebagai pro analisis (PA). Sumber cemaran Pb diperoleh dari senyawa Pb-asetat (PA).

Tabel 1 Komposisi zat-zat makanan dan Pb pada rumput dan konsentrat

Nutrien	Rumput	Konsentrat
Protein Kasar (%)	7,15	13,99
Serat Kasar (%)	28,16	3,24
Lemak Kasar (%)	4,35	7,75
Abu (%)	9,42	6,31
BETN (%)	50,92	68,71
TDN (%)	60,49	85,67
Zn (mg/kg)	78,68	73,39
Pb (mg/kg)	53,48	33,60

Percobaan *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Tilley dan Terry (1963) yang telah dimodifikasi. Sebanyak  $\pm 1$  g sampel perlakuan dimasukkan ke dalam tabung fermentor, kemudian ditambahkan dengan larutan saliva buatan (larutan Mc Dougall) sebanyak 12 mL pada suhu  $\pm 39^\circ C$  pada pH 6.8-6.9 dan cairan rumen domba masih segar sebanyak 8 mL sebagai inokulan. Selama proses pemasukan materi *in vitro* dialirkan gas  $CO_2$  untuk memberikan suasana anaerob. Kemudian fermentor dibagi dua, sebagian diinkubasi selama 3 jam untuk analisis  $N-NH_3$  dan asam lemak terbang (VFA) dengan menggunakan metode mikrodifusi Conway dan destilasi uap Markham (University of Wisconsin, 1966). Disamping itu juga, dilakukan pengambilan sampel untuk pengujian populasi bakteri dan protozoa rumen (Ogimoto dan Imai, 1981). Sisanya diinkubasikan selama 24 jam. Setelah 24 jam cairan fermentasi disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dan ke dalam endapan di dalam fermentor ditambahkan 20 mL larutan pepsin dalam suasana asam dengan aktivitas pepsin 1:10.000. Fermentor diinkubasikan kembali ke dalam shakerbath pada suhu  $\pm 39^\circ C$  dengan suasana aerob selama 24 jam. Setelah fermentasi aerob, endapan disaring dengan kertas saring Whatman No. 41, kemudian dianalisis kadar bahan kering dan

organiknya. Sebagai blanko digunakan cairan rumen domba tanpa perlakuan, lalu diukur koefisien bahan kering (KcBK) dan bahan organik (KcBO) (Tilley dan Terry 1963). Volume gas yang terbentuk selama inkubasi dicatat dengan alat pressure transducer. Untuk membuat kurva standar, disiapkan larutan alantoin standar dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 mL, lalu ke dalam tabung tersebut dimasukkan 1 mL sampel. Larutan standar atau aquades dan 1 mL NaOH 0.5 M, lalu dikocok dengan vorteks. Selanjutnya tabung tersebut direndam dalam air mendidih selama 7 menit. Setelah 7 menit tabung diangkat dan didinginkan, lalu ke dalam setiap tabung ditambahkan 1 mL HCl 0.5 M dan 1 mL larutan fenilhidrazin. Setelah dikocok, tabung segera direndam lagi dalam air mendidih 7 menit, kemudian didinginkan. Ke dalam setiap tabung ditambahkan sebanyak 3 mL HCl pekat (11.4 N) dan 1 mL kalium ferrisianida. Setelah dicampur sempurna, sebagian dimasukkan ke dalam cuvet dan dibaca nilai *optical density* (OD) dengan spektrofotometer. Alantoin dalam urine dihidrolisis dalam larutan natrium hidroksida (suhu 10°C) menjadi *alantoic acid* yang selanjutnya didegradasi menjadi urea dan *glyoxylic acid* dalam larutan HCl. *Glyoxylic acid* akan bereaksi dengan *fenil hidrazin hidroksida* membentuk *fenilhidrazon*. Produk tersebut bersama kalium ferrisida dapat membentuk *khomsfer* yang tidak stabil yang warnanya dapat dibaca pada panjang gelombang 520 nm. Perhitungan konsentrasi alantoin sampel didasarkan pada hubungan linear antara konsentrasi alantoin standar dengan OD.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (Steel dan Torrie 1993), kemudian data yang terkumpul dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan Uji Kontras Orthogonal.

### Hasil dan Pembahasan

Pengaruh suplementasi Zn-fitat dan kehadiran Pb-asetat dalam ransum pada fermentabilitas, kecernaan, dan mikroba rumen *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 2. Kecernaan bahan kering dan organik, total bakteri, dan protozoa tidak berbeda, sedangkan N-NH<sub>3</sub> pada perlakuan suplementasi ZnCl<sub>2</sub> lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Konsentrasi VFA pada semua perlakuan suplementasi Zn-fitat cenderung lebih tinggi (P<0,07), namun untuk gas total hanya suplementasi Zn-fitat+Pb-asetat yang menunjukkan peningkatan yang nyata (P<0,05) dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Tabel 2 Pengaruh kadar Zn, Pb dan Zn-fitat pada fermentabilitas di cairan Rumen

Peubah	Perlakuan				
	Basal	ZnCl <sub>2</sub>	Pb-Ast	Zn-Fitat	Zn-Fitat +Pb-Ast
KcBK (%)	62,56	63,77	61,06	62,23	61,25
KcBO (%)	61,00	62,94	58,34	62,09	60,77
VFA (mM)	100,06b	105,66b	110,85b	112,23a	130,88a
N-NH <sub>3</sub> (mM)	6,07b	8,82a	6,37b	5,76b	5,54b
Gas Total (mL)	157,0b	158,5b	157,5b	154,75b	165,5a
Bakteri (10 <sup>9</sup> /mL)	1,99	2,93	2,51	2,33	2,23
Protozoa (10 <sup>5</sup> /mL)	1,75	1,33	1,63	1,38	1,25
Alantoin (mg/hari)	17,10	19,92	22,09	20,72	14,85

Kehadiran ZnCl<sub>2</sub>, Pb-asetat, maupun Zn-fitat masing-masing ternyata tidak mempengaruhi populasi mikroba rumen. Hasil akhirnya berdampak pada kecernaan bahan kering maupun organik yang sama. Hal ini disebabkan ransum basal yang digunakan mengandung nutrisi yang sama dan dosis suplementasi ZnCl<sub>2</sub> dan Zn-fitat diduga masih dapat ditolerir dan sebagian telah dimanfaatkan oleh mikroba rumen. Begitupula dengan Pb-asetat, dosis yang digunakan belum bersifat racun. Di samping itu, Pb merupakan logam berat yang memiliki aktivitas kuat untuk membentuk kompleks dengan gugus aktif molekul lain sehingga sebagian besar Pb diduga terlebih dahulu terikat dengan senyawa-senyawa yang memiliki molekul lebih besar dan permukaan yang lebih luas seperti serat dan protein pakan. Serat pakan, terutama selulosa, memiliki ion-ion negatif yang memiliki kemampuan dalam mengikat mineral sehingga serat yang berlebih dalam ransum berakibat pada penurunan absorpsi mineral (Hemaman dkk. 2005).

Seng klorida merupakan senyawa yang mudah larut. Komponen senyawa tersebut (Zn) sebagian digunakan dengan cepat oleh mikroba rumen untuk membentuk enzim-enzim pencernaan termasuk dalam mendegradasi protein pakan menjadi N-NH<sub>3</sub>. Akibatnya, penambahan ZnCl<sub>2</sub> meningkatkan konsentrasi N-NH<sub>3</sub>. Di lain pihak, Zn-fitat sangat lambat dicerna dan baru pada jam ke-8 terjadi peningkatan yang tajam (Hernaman, dkk. 2007), sedangkan pengukuran N-NH<sub>3</sub> dilakukan 3 jam setelah inkubasi.

Alantoin urine merupakan wujud dari protein mikroba yang dimanfaatkan oleh tubuh ternak untuk pertumbuhannya. Populasi mikroba dalam cairan rumen menentukan banyak tidaknya alantoin. Kajian *in vitro* menunjukkan bahwa kehadiran Pb maupun suplementasi Zn dalam bentuk ZnCl<sub>2</sub> dan Zn-fitat tidak mengganggu populasi mikroba rumen, maka akan selaras dengan kadar alantoin yang sama untuk semua perlakuan. Alantoin adalah turunan purin di dalam urine yang dapat dijadikan indikator pasokan protein asal mikroba rumen untuk ternak induk semang (Chen *et al.* 1992).

#### Daftar Pustaka

- Baird C. 1995. *Environmental Chemistry*. Freeman WH and Co., New York.
- Costello AJR, Glonek T, Meyers TC. 1976. <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance-pH titration of myo-inositol hexaphosphate. *Carbohydrate Resource* 46:159-171.
- Chen XB, Chen YK, Orskov ER, Sand WJ. 1992. The effect of feed intake and body weight on purine derivate excretion and microbial protein supply in sheep. *J. Anim. Sci* 70:1534.
- Georgievskii VI, Amenkov BN, Samokhin VT. 1982. *Mineral Nutrition of Animal*. Butterwoths, London.
- Cunnane SC. 1987. Zinc: Clinical and Biochemical Significance. CRC Pres : Boca Raton. FL. pp 207.
- Hernaman I, Kamil KA, Tanuwiria UH. 2005. Hidrolisis Serat Ampas Teh Melalui Biofermentasi Kapang dan Perendaman dengan HCl Serta Pengaruhnya Terhadap Metabolisme Lemak dan Mineral pada Tikus. [laporan penelitian dasar]. Bandung : Universitas Padjadjaran.
- Loren K. 2005. Phytic Acid for Chelating. <http://www.chelation therapy online.com/Articles/p220.htm>.
- Morse D, Head HH, Wilcox CJ. 1992. Disappearance of phosphorus in phytate from concentrates in vitro and from rations fed to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75:1979-1986.
- Ogimoto K, Imai S. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Scientific Societis Press. Tokyo.
- Park WY, Matsui T, Konishi C, Kim SW, Yano F, Yano H. 1999. Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soyabean meal and rapeseed meal. *Br. J. Nutr.* 81(6): 467-71.
- Rojas LX, McDowell LR, Cousins RJ, Martin FG, Wilkinson NS, Johnson AB, Velasquez JB. 1995. Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. *J. Anim. Sci.* 73:1202-1207.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Tilley JMA, Terry RA. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. British. Grassl. Soc.* 18:104-111.
- University of Wisconsin. 1966. *General Procedures*. Medison.