

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM MIRISTAT DAN TEPUNG  
DAUN KALIANDRA (*Calliandra calothyrsus*) SEBAGAI  
SUMBER TANIN PADA PAKAN LENGKAP BERBASIS JERAMI  
JAGUNG TERHADAP PRODUK FERMENTASI DI DALAM  
RUMEN SECARA *IN VITRO***

**TESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Magister**



**Oleh:**

**MISHBAHUL AKBAR**

**NIM: 196050100111006**

**PROGRAM MAGISTER ILMU TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
M A L A N G  
2021**

## LEMBAR PENGESAHAN

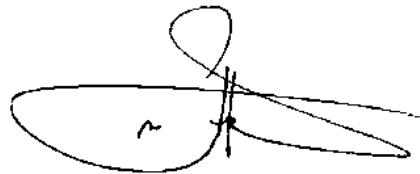
Judul : Pengaruh Penambahan Asam Miristat dan Tepung daun Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) Sebagai Sumber Tanin Pada Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung Terhadap Produk Fermentasi di Dalam Rumen Secara *In Vitro*.

Nama : Mishbahul Akbar  
NIM : 196050100111006

Menyetujui:  
Komisi pembimbing



Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS. IPU. ASEAN Eng.  
Ketua



Dr. Ir. Mashudi, M. Agr.Sc.IPM. ASEAN Eng.  
Anggota

Mengetahui:

Universitas Brawijaya  
Fakultas Peternakan  
Dekan,



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., IPU., ASEAN Eng  
NIP. 19620403 198701 1 001

Fakultas Peternakan  
Program Studi Magister Ilmu Ternak  
Ketua,



Dr. Ir. Tri Eko Susilorini, MP., IPM., ASEAN Eng  
NIP. 19580711 198601 2 001

## JUDUL TESIS

Pengaruh Penambahan Asam Miristat dan Tepung daun Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) Sebagai Sumber Tanin Pada Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung Terhadap Produk Fermentasi di Dalam Rumen Secara *In Vitro*.

Nama Mahasiswa : Mishbahul Akbar  
NIM : 196050100111006

Telah diuji dan dinyatakan lulus pada sidang ujian pada:  
09 Juli 2021

### Komisi Penguji:

Tanda tangan

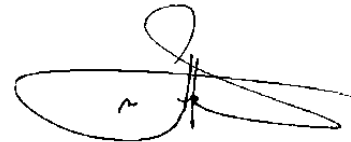
Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS. IPU, ASEAN Eng

:



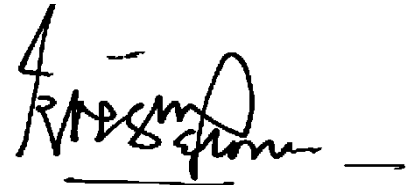
Dr. Ir. Mashudi, M,Agr.Sc., IPM, ASEAN Eng

:



Prof. Dr. Ir. Kusmartono

:



Dr. Ir. Marjuki, M.Sc

:



## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 03 April 1996 di Gresik, Jawa Timur. Penulis adalah anak ke dua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Suudi Karim dan Ibu Dian Fujihana. Tingkat pendidikan formal yang pernah ditempuh yaitu di TK Muslimat NU pada tahun 2001 dan lulus pada tahun 2003. Penulis pada tahun 2003 mengawali pendidikan dasar di Madrasah Ibtidaiyah Assa'adah Sampurnan, Bugah, Gresik dan diselesaikan pada tahun 2008. Pendidikan lanjutan tingkat pertama diselesaikan pada tahun 2011 di Madrasah Tsanawiyah Assa'adah Sampurnan, Bungah, Gresik dan menempuh pendidikan menengah atas di Sekolah Menengah Atas Assa'adah Sampurnan, Bungah, Gresik. Pada tahun 2014 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) penulis diterima di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Penulis melakukan Praktek Kerja Lapangan (PKL) dengan judul "Manajemen Pemeliharaan Sapi Potong di PT. Austasia *Stockfeed* (Japfa *Beef Division*) Jabung, Lampung Timur pada tahun 2017. Penulis lulus dari perguruan negeri pada tahun 2018 dengan minat Nutrisi dan Makanan Ternak (NMT) dan melanjutkan Pendidikan Strata Dua Ilmu Ternak pada tahun 2019 di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya dengan minat Nutrisi dan Makanan Ternak (NMT).

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM MIRISTAT DAN TEPUNG DAUN KALIANDRA (*Calliandra calothyrsus*) SEBAGAI SUMBER TANIN PADA PAKAN LENGKAP BERBASIS JERAMI JAGUNG TERHADAP PRODUK FERMENTASI DI DALAM RUMEN SECARA *IN VITRO***

**Mishbahul Akbar<sup>1)</sup>, Siti Chuzaemi<sup>2)</sup> dan Mashudi<sup>2)</sup>**

- 1) Mahasiswa Megister Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
  - 2) Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
- Email: [misbahulakbar@student.ub.ac.id](mailto:misbahulakbar@student.ub.ac.id)

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) sebagai sumber tanin pada pakan lengkap berbasis jerami jagung terhadap produk fermentasi di dalam rumen secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah percobaan di laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini adalah P1 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + 60% Konsentrat), P2 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (60% Konsentrat+ 0% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30 g/Kg BK, P3 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (50% Konsentrat+ 10% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30g/Kg BK, P4 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (45% Konsentrat+ 15% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30 g/Kg BK, P5 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (40% Konsentrat+ 20% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30g/Kg BK. Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi produksi gas dan kinetika produksi gas, konsentrasi gas metan, populasi protozoa, total VFA, konsentrasi VFA parsial, konsentrasi amonia (NH<sub>3</sub>) dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan yang diberikan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap total produksi gas dengan nilai tertinggi pada P1 (93,71 ml/500mg BK) dan terendah pada P5 (84,40 ml/500mg BK). Penurunan produksi gas ini disebabkan karena penambahan tanin yang berasal dari daun kaliandra. Penurunan produksi gas ini seiring dengan penurunan jumlah populasi protozoa di dalam rumen yang memiliki nilai tertinggi pada P1 ( $2,046 \times 10^3$  sel/ml cairan rumen) dan nilai terendah pada P5 ( $1,321 \times 10^3$  sel/ml cairan rumen). Efisiensi sintesis protein mikroba pada penelitian ini berpengaruh sangat nyata dengan nilai tertinggi pada P1 (70,21 g N/Kg BOTR) dan terendah pada P3 (51,47 g N/Kg BOTR). Hasil tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) didapatkan pada variabel konsentrasi gas metan, estimasi gas metan, total VFA, proporsi asetat, proporsi propionate, proporsi butirat serta konsentrasi NH<sub>3</sub>. Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah penambahan daun kaliandra dengan level 15% dan asam miristat 30 g/Kg BK pada P4 mempunyai nilai terbaik. Hal ini disebabkan karena dapat menurunkan konsentrasi gas metan yang diiringi dengan penurunan populasi protozoa. Saran dalam penelitian ini yaitu dilakukan penelitian pada ternak untuk mengetahui lebih akurat efek dari tanin dan asam miristat.

Kata kunci: Jerami Jagung, Pakan Lengkap, Tepung daun kaliandra, asam miristat, *In Vitro*

**THE EFFECT OF SUPPLEMENTATION *MYRISTIC ACID* AND *CALLIANDRA*  
LEAVES FLOUR (*Calliandra calothyrsus*) AS SOURCE OF TANNIN IN  
COMPLETE FEED BASED ON CORN STRAW ON FERMENTATION PRODUCTS  
IN RUMEN WITH *IN VITRO***

**Mishbahul Akbar<sup>1)</sup>, Siti Chuzaemi<sup>2)</sup> dan Mashudi<sup>2)</sup>**

1) Master Student of Faculty of Animal Science, Brawijaya University

2) Lecture of Faculty of Animal Science, Brawijaya University

Email: [misbahulakbar@student.ub.ac.id](mailto:misbahulakbar@student.ub.ac.id)

**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the effect of single fatty acid supplementation *myristic acid* (MA) and calliandra leaves flour (*Calliandra calothyrsus*) as source of tannin in complete feed based on corn straw on fermentation products in rumen with *in vitro* gas production. The method used was *in vitro* gas experiment in laboratory and arranged in a Randomized Block Design (RBD) with 5 treatment and 3 replications. The treatments applied were T1 = Complete Feed (40% Corn Straw + 60% Concentrate), T2 = Complete Feed (40% Corn Straw + 60% Concentrate + 0% Calliandra) + MA 30g/kg DM, T3 = Complete Feed (40% Corn straw + 50% Concentrate + 10% Calliandra Leaves Flour) + MA 30g/kg DM, T4 = Complete Feed (40% Corn Straw + 45% Concentrate + 15% Calliandra Leaves Flour) + MA 30g/kg DM, T5 = Complete Feed (40% Corn Straw + 40% Concentrate + 20% Calliandra Leaves Flour) + MA 30g/kg DM. Parameters measured in this study were gas production and the parameter of gas production, methane gas concentration, protozoa population, total VFA, Partial VFA concentration, ammonia concentration (NH<sub>3</sub>) and Microbial Protein Synthesis Efficiency (MPSE). The result showed that the treatments were very significant effect (P<0,01) on total gas production with T1 showing the highest value (93.71 ml/500mg DM) and the lowest at T5 (84.40 ml/500mg DM). The decrease in gas production is due to adding calliandra leaves which are getting higher in the complete feed. The decrease in gas production followed by protozoa population with the highest at T1 (2.046 × 10<sup>3</sup> sel/ml rumen fluid) and the lowest at T5 (1.321 × 10<sup>3</sup> sel/ml rumen fluid). Protozoa population and gas production inducing the microbial protein synthesis efficiency in this research were very significant effect with the highest at T1 (70.21 g N/Kg RDOM) and the lowest at T3 (51.47 g N/Kg RDOM). The result were not significant effect (P>0.05) were obtained for methane gas concentration, methane gas estimation, total VFA, partial VFA concentration, and ammonia concentration (NH<sub>3</sub>). The conclusion of this research was the adding calliandra leaves flour as a source of tannin 15% and MA 30g/Kg DM at T4 was a best treatment. This is because it can reduce the methane gas concentration and followed by decreasing protozoa population. The suggestion in this research was it is needed to conduct further research on *in vivo* feeding trial to find out more accurately the effects on tannins and *myristic acid*.

Keywords: Corn Straw, Complete Feed, Calliandra leaves flour, *Myristic acid*, *In Vitro*

## RINGKASAN

**Mishbahul Akbar, Program Pascasarjana, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Pengaruh Penambahan Asam Miristat dan Tepung Daun Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) Sebagai Sumber Tanin Pada Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung Terhadap Produk Fermentasi Di Dalam Rumen Secara *In Vitro*. Komisi Pembimbing Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS. IPU, ASEAN Eng dan Dr. Ir. Mashudi. M.Agr. Sc., IPM. ASEAN Eng.**

---

Jerami jagung adalah tanaman jagung yang sudah diambil tongkol jagungnya sehingga tinggal batang dan daunnya. Jerami jagung melimpah pada daerah yang merupakan sentra tanaman jagung yang ditujukan untuk pakan ternak. Pemberian jerami jagung saja belum bisa mencukupi kebutuhan nutrisi ternak, sehingga perlu diberikan pakan penguat yaitu konsentrat. Perkembangan teknologi memungkinkan efektifitas pertumbuhan ternak sapi pedaging melalui aplikasi pakan lengkap dengan menggunakan hijauan yang ditambahkan dengan pakan penguat yang dinamakan pakan lengkap. Keuntungan pemberian pakan lengkap ini adalah lebih praktis dalam pemberian pada ternak serta dapat meningkatkan palatabilitas pakan. Pakan berserat (hijauan) menghasilkan gas metan yang lebih banyak dibandingkan dengan pakan yang berasal dari biji-bijian (konsentrat). Ternak ruminansia dinyatakan sebagai salah satu penyumbang gas metan terbesar karena mempunyai sistem fermentasi yang dibantu oleh mikroba di dalam saluran pencernaannya untuk merubah karbohidrat menjadi struktur yang lebih kecil sehingga mampu dimanfaatkan oleh tubuh inang.

Tannin merupakan senyawa anti nutrisi yang dapat mengikat protein di dalam rumen sehingga protein dalam pakan tidak terdegradasi dengan mudah di dalam rumen. Penambahan tanin dalam pakan dapat menurunkan konsentrasi gas metan. Kaliandra merupakan tanaman pakan yang termasuk golongan leguminosa yang mempunyai kandungan tanin yang tinggi, yaitu 10%. Fungsi tanin yang utama adalah untuk proteksi protein dari degradasi di dalam rumen sehingga menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  di dalam rumen. Selain tanin, penambahan asam miristat sebagai asam lemak tunggal pada pakan dapat menurunkan produksi gas metan pada ternak ruminansia. Penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin bertujuan untuk menurunkan konsentrasi gas metan serta menurunkan perombakan protein pakan dari degradasi mikroba rumen. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* sehingga penurunan gas metan dapat dilihat dari volume gas metan dari hasil produksi gas secara *in vitro*, penurunan perombakan protein pakan di dalam rumen bisa dilihat dari penurunan produksi gas dan amonia ( $\text{NH}_3$ ) dan untuk mengetahui pasokan protein ke usus halus dapat dilihat dari efisiensi protein mikroba yang didukung dengan kecukupan dari VFA.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Juli sampai Desember 2020. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini adalah P1 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + 60% Konsentrat), P2 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (60% Konsentrat+0%

Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30 g/Kg BK, P3 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (50% Konsentrat+ 10% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30 g/Kg BK, P4 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (45% Konsentrat+ 15% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30 g/Kg BK, P5 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (40% Konsentrat+ 20% Tepung Daun Kaliandra)) + asam miristat 30g/Kg BK. Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi produksi gas dan parameter produksi gas, konsentrasi gas metan, populasi protozoa, total VFA, konsentrasi VFA parsial, konsentrasi amonia ( $\text{NH}_3$ ) dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM).

Hasil pada penelitian ini menunjukkan perlakuan yang dilakukan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap total produksi gas dengan nilai tertinggi pada P1 (93,71 ml/500mg BK) dan terendah pada P5 (84,40 ml/500mg BK). Penurunan produksi gas ini seiring dengan penurunan jumlah populasi protozoa di dalam rumen yang memiliki nilai tertinggi pada P1 ( $2,046 \times 10^3$  sel/ml cairan rumen) dan nilai terendah pada P5 ( $1,321 \times 10^3$  sel/ml cairan rumen). Populasi protozoa dan produksi gas menyebabkan efisiensi sintesis protein mikroba pada penelitian ini berpengaruh sangat nyata dengan nilai tertinggi pada P1 (70,21 g N/Kg BOTR) dan terendah pada P3 (51,47 g N/Kg BOTR). Penurunan total gas dan populasi protozoa disebabkan karena penambahan daun kaliandra sebagai sumber tanin yang mampu mengikat protein dalam pakan dan asam miristat. Hasil tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) didapatkan pada variabel konsentrasi gas metan, estimasi gas metan, total VFA, proporsi asetat, proporsi propionate, proporsi butirir serta konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Meskipun tidak berbeda nyata, tetapi perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini mampu menurunkan besaran nilai pada gas metan, estimasi gas metan, total VFA, proporsi asetat, proporsi propionate, proporsi butirir serta konsentrasi  $\text{NH}_3$  tersebut. Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah penambahan daun kaliandra sebagai sumber tanin sebanyak 15% dan asam miristat 30 g/Kg BK pada P4 mempunyai nilai terbaik. Hal ini disebabkan karena dapat menurunkan konsentrasi gas metan yang diiringi dengan penurunan populasi protozoa.



## SUMMARY

**Mishbahul Akbar, Postgraduate Program, Faculty of Animal Science, Brawijaya University, The Effect of Supplementation *Myristic Acid* and Calliandra Leaves Flour (*Calliandra calothyrsus*) as Source of tannin in Complete Feed Based on Corn Straw on Fermentation Products in Rumen with *In Vitro*. The Supervisors were Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS, IPU, ASEAN Eng dan Dr. Ir. Mashudi, M.Agr. Sc., IPM, ASEAN Eng.**

---

Corn straw was a corn plant that has been removed from the corn cobs so that only the stems and leaves are left. Corn straw was abundant in areas that are centers of maize plants intended for animal feed. Corn straw cannot be used in a single feed because it has low quality and high fiber content; thus, feed additive was needed to concentrate by feed booster. Technological developments enable the effectiveness of beef cattle growth through the application of complete feed using forages added with reinforcement feed, which called complete feed. The advantage of this complete feed was more practical in feeding the livestock and can increase the palatability of the feed. Fiber (forage) feed produces more methane gas than feed derived from grains (concentrate). Ruminants declared as one of the biggest contributors to methane gas because they have a fermentation system that is assisted by microorganisms in their digestive tracts to convert carbohydrates into smaller structures so that they can be utilized by the host body.

Tannin was an anti-nutritional compound that can bind to protein in the rumen so that the protein in feed is not degraded in the rumen. The addition of tannins in the feed can reduce the methane gas concentration. Calliandra was a forage plant belonging to the legume group which has a high tannin content, which is 10%. The main function of tannins was to protect proteins from degradation in the rumen, there by reducing the concentration of  $\text{NH}_3$  in the rumen. Other than tannins, the addition of *myristic acid* as a single fatty acid in feed can reduce methane gas production in ruminants. The addition of calliandra leaf flour as a source of tannin were to reduce the concentration of methane gas and reduce degradation of protein from microbial rumen. This research was conducted *in vitro*, the decrease in methane gas can be seen from volume of methane gas from *in vitro* gas production, the decrease in protein in the rumen can be seen from decrease in gas and ammonia ( $\text{NH}_3$ ) production and to determine to supply of protein to the small intestine can be seen from efficiency of microbial protein which is supported by adequacy of VFA.

This research was conducted at the Laboratory of Animal Nutrition and Feed, Faculty of Animal Science, Brawijaya University, Malang at July to December 2020. The method used was *in vitro* experiment in laboratory and arranged in a Randomized Block Design (RBD) with 5 treatment and 3 replications. All treated feeds were prepared with protein iso with protein content 14-15%. The treatments applied were T1 = Complete Feed (40% Corn straw + 60% Concentrate), T2 = Complete Feed (40% Corn straw + 60% Concentrate + 0% Calliandra Leaves Flour) + *myristic acid* 30g/kg DM, T3 = Complete Feed (40% Corn straw + 50% Concentrate + 10% Calliandra Leaves Flour) + *myristic acid* 30g/kg DM, T4 = Complete Feed (40% Corn straw + 45% Concentrate + 15% Calliandra Leaves Flour) + *myristic acid* 30g/kg DM, T5 = Complete Feed (40% Corn straw + 40% Concentrate + 20% Calliandra Leaves Flour) + *myristic acid* 30g/kg DM. The object of observation in this study were gas production and the parameter of gas production, methane gas concentration, protozoa population, total VFA, partial VFA concentration, ammonia concentration ( $\text{NH}_3$ ) and Microbial Protein Synthesis Efficiency (MPSE). The result showed that the

treatments were very significant effect ( $P < 0.01$ ) on total gas production with T1 showing the highest value (93.71 ml/500mg DM) and the lowest at T5 (84.40 ml/500mg DM). The decrease in gas production followed by protozoa population with the highest at T1 ( $2.046 \times 10^3$  sel/ml rumen fluid) and the lowest at T5 ( $1.321 \times 10^3$  sel/ml rumen fluid). Protozoa population and gas production inducing the microbial protein synthesis efficiency in this research was very significant effect with the highest at T1 (70.21 g N/Kg DOMR) and the lowest at T3 (51.47 g N/Kg DOMR). Decrease in total gas production and protozoa population was due to addition of calliandra leaves flour as a source of tannins which were able to bind the feed protein and *myristic acid*. The results not significant effect ( $P > 0.05$ ) were obtained for the variables methane gas concentration, methane gas estimation, total VFA, proportion of acetate, propionate, butyrate, acetate: propionate ratio, and ammonia concentration ( $\text{NH}_3$ ). Although not significantly effect, the treatment determined in this study was able to reduce the value of this variable methane gas concentration, methane gas estimation, total VFA, proportion of acetate, propionate, butyrate, acetate: propionate ratio, and ammonia concentration ( $\text{NH}_3$ ). The conclusion of this research was the adding calliandra leaves flour as a source of tannin 15% and MA 30g/Kg DM at T4 has a best treatment. This is because it can reduce the methane gas concentration and followed by protozoa population.

## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Halaman Identitas Penguji.....	iii
Pernyataan Orisinalitas Tesis.....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
RINGKASAN .....	ix
SUMMARY .....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung .....	5
2.2. Tanin.Kaliandra.....	7

2.3.	Asam miristat .....	14
2.4.	<i>In Vitro</i> Produksi Gas .....	18
2.5.	Gas Metan (CH <sub>4</sub> ).....	21
2.6.	Protozoa Rumen .....	24
2.7.	Produksi Amonia Rumen... ..	28
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN PENELITIAN</b>		
3.1	Kerangka Pikir Penelitian.....	31
3.2	Skema Kerangka Konsep Penelitian .....	34
3.3	Kerangka Operasional Penelitian .....	35
3.4	Hipotesis.....	36
<b>BAB IV MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>		
4.1.	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	37
4.2.	Materi Penelitian .....	38
	4.2.1. Bahan.....	38
	4.2.2. Alat... ..	39
	4.2.3. Persentase Pakan Perlakuan.....	39
4.3.	Metode Penelitian .....	41
4.4.	Variabel Penelitian .....	42
4.5.	Analisis Statistik .....	46
4.6.	Batasan Istilah .....	47
<b>BAB V Hasil dan Pembahasan</b>		
5.1	Kandungan Nutrisi Pakan lengkap Berbasis Jerami Jagung .....	48
5.2	Pengaruh Perlakuan Terhadap Produksi Gas dan Kinetika Produksi Gas Secara <i>In Vitro</i> Pada Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung .....	53
5.3	Pengaruh Perlakuan Terhadap Konsentrasi Gas Metan dan Populasi	

	Protozoa Pada Jam ke 48 Pada Pakan Lengkap Secara <i>In Vitro</i> .....	59
5.4	Pengaruh Perlakuan Terhadap Total VFA, Proporsi Asam Asetat, Propionat, Butirat dan Perbandingan Asetat dan Propionat Pada Jam ke 48 Pada Pakan Lengkap Secara <i>In Vitro</i> .....	65
5.5	Pengaruh Perlakuan Terhadap konsentrasi Amonia (NH <sub>3</sub> ) dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) Pada Jam ke 48 Pada Pakan Lengkap Secara <i>In Vitro</i> .....	71
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
6.1	Kesimpulan.....	78
6.2	Saran.....	78
	DAFTAR PUSTAKA.....	79
	DAFTAR LAMPIRAN .....	91

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Nutrien Jerami Jagung .....	6
2. Perbedaan Kandungan Lemak Pada Kelapa sawit dengan Metode Produksi yang Berbeda .....	16
3. Persentase Bahan Pakan Perlakuan .....	40
4. Perhitungan Kandungan Nutrien Kosentrat .....	40
5. Perhitungan Kandungan Nutrien Pakan Perlakuan .....	41
6. Kandungan Nutrien Pakan Lengkap dan Kandungan Tanin Daun Kaliandra.....	49
7. Kandungan Nutrien Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung .....	49
8. Nilai Produksi Gas Pada Inkubasi Ke- 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, dan 48 jam .....	54
9. Nilai Potensi Produksi Gas (b) dan Laju Produksi Gas (c).....	58
10 Rata-Rata Hasil Kosentrasi Gas Metan, Estimasi Gas Metan dan Populasi Protozoa.....	59
11 Rata-Rata Hasil Total VFA, Asam Asetat (C2), Propionat (C3), Butirat (C4) dan Perbandingan Asetat dan Propionat (C2/C3).....	66
12 Rata-Rata Hasil Konsentrasi Amonia (NH <sub>3</sub> ) dan Efisiensi sintesis protein mikroba.....	71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Tanin.....	11
2. Prosedur Produksi Asam Lemak dari Buah Sawit.....	15
3. Proses Metabolisme Lemak di dalam Rumen.....	17
4. Bentuk Protozoa.....	27
5. Kerangka Konsep Penelitian.....	34
6. Bagan Alur Penelitian.....	35
7. Kurva Produksi Gas Total Pada Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung.....	57

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Penetapan Kadar Bahan Kering Udara.....	91
2. Prosedur Analisis Kandungan Bahan Kering (BK).....	92
3. Prosedur Analisis Kandungan Bahan Organik (BO) .....	93
4. Prosedur Analisis Kandungan Protein Kasar (PK) .....	94
5. Prosedur Analisis Kandungan Serat Kasar (SK) .....	97
6. Prosedur Analisis Kandungan Lemak Kasar (LK) .....	99
7. Prosedur Analisis Kandungan ADF (Acid Detergent Fiber) .....	100
8. Prosedur Analisis Kandungan NDF (Neutral Detergent Fiber) .....	101
9. Prosedur Pengukuran Produksi Gas <i>In Vitro</i> .....	102
10. Prosedur Pengukuran Konsentrasi Amonia (NH <sub>3</sub> ) Cairan Rumen.....	105
11. Prosedur Perhitungan Populasi Protozoa.....	107
12. Prosedur Pengukuran Gas Metan dari Inkubasi Produksi Gas 48 Jam.....	108
13. Prosedur Analisis Konsentrasi VFA.....	110
14. Prosedur Pengukuran Efisiensi Sintesis Protein Mikroba dari Supernatan Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	111
15. Analisis Total Tanin dengan Metode Spektrofotometri .....	113
16. Analisis Tanin Kondensasi .....	114
17. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 2 Jam.....	115
18. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 4 Jam.....	117
19. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 6 Jam.....	119
20. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 8 Jam.....	121
21. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 12 Jam .....	123
22. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 24 Jam .....	125
23. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 36 Jam .....	127



24. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 28 Jam .....	129
25. Data Analisis Statistik Niai b dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam .....	131
26. Data Analisis Statistik Niai c dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam .....	133
27. Data Analisis Statistik Konsentrasi Amonia dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	135
28. Data Analisis Statistik Populasi protozoa dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	136
29. Data Analisis Statistik Nilai Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) dari Produksi GasInkubasi 48 Jam .....	138
30. Data Analisis Statistik Konsentrasi Gas Metan dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	140
31. Data Analisis Statistik Nilai VFA dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam .....	142
32. Data Analisis Nilai Asetat dari Konsentrasi VFA berdasarkan Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	143
33. Data Analisis Nilai Propionat dari Konsentrasi VFA berdasarkan Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	144
34. Data Analisis Nilai Butirat dari Konsentrasi VFA berdasarkan Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	145
35. Data Analisis Nilai Estimasi Gas Metan dari Konsentrasi VFA berdasarkan Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	146
36. Data Analisis Perbandingan Asetat dan Propionat dari Konsentrasi VFA berdasarkan Produksi Gas Inkubasi 48 Jam.....	147

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Pakan merupakan makanan yang diberikan pada ternak untuk memenuhi kebutuhan produksi dan reproduksi ternak tersebut. Hijauan merupakan pakan utama bagi ternak ruminansia. Hijauan yang sering diberikan oleh peternak adalah rumput gajah, rumput benggala, rumput lapang dan tebon jagung. Selain dari hijauan pakan tersebut ada sumber hijauan lain yang lebih murah yaitu berupa limbah pertanian seperti jerami jagung. Jerami jagung adalah tanaman jagung yang sudah diambil tongkol jagungnya sehingga tinggal batang dan daunnya (Bahar, 2016). Jerami jagung inimelempah pada daerah yang merupakan sentra tanaman jagung yang ditujukan untuk pakan ternak. Pemberian jerami jagung saja belum bisa mencukupi kebutuhan nutrisi ternak, sehingga perlu diberikan pakan penguat yaitu konsentrat. Perkembangan teknologi memungkinkan efektifitas pertumbuhan ternak ruminansia melalui aplikasi pakan lengkap yaitu campuran hijauan dengan konsentrat.

Pakan lengkap merupakan campuran kuantitatif dari semua bahan pakan yang dicampur secara menyeluruh untuk mencegah terjadinya pemisahan dan seleksi pakan. Pakan lengkap digunakan sebagai satu-satunya sumber nutrisi kecuali air dan diformulasikan dalam proporsi yang diinginkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Tingkat persentase konsentrat dan serat dapat bervariasi sesuai dengan kebutuhan nutrisi ternak untuk tujuan produksi yang berbeda (Beigh, Ganai dan Ahmad, 2017). Keuntungan pemberian pakan lengkap ini adalah lebih praktis dalam pemberian pada ternak serta dapat meningkatkan palatabilitas pakan. Jerami jagung atau brangkasan adalah bagian batang dan daun jagung yang telah dipanen jagungnya dan dibiarkan mengering di lahan (Umiyasih dan Wina, 2008). Jerami jagung mempunyai kandungan nutrisi yaitu

BK (39,8%), PK (5,5%), LK (0,9%), SK (28,1%) dan Abu (10,6%) (Buharman, 2011). Mizeck, Chagunda, Jennifer, Flockhart dan Roberts (2010) menyatakan pakan yang mempunyai kandungan serat yang tinggi mempunyai produksi gas metan yang tinggi pula.

Peternakan terutama ternak ruminansia dinyatakan sebagai salah satu penyumbang gas metan terbesar karena mempunyai sistem fermentasi yang dibantu oleh mikroba di dalam saluran pencernaanya untuk merubah karbohidrat menjadi struktur yang lebih sederhana sehingga mampu dimanfaatkan oleh tubuh inang (Anonim, 2006). Berbagai macam penelitian dilakukan untuk mengurangi emisi gas metan pada ternak ruminansia yaitu dengan cara memanipulasi pakan dengan tetap meningkatkan kualitas pakan yang dikonsumsi ternak. Manipulasi pakan yang biasa digunakan adalah dengan penambahan bahan seperti tanin dan asam miristat yang bertujuan untuk menekan gas yang dihasilkan di dalam rumen serta meningkatkan pencernaan pada ternak (Jayanegara, *et al* 2009).

Tannin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat mengikat protein di dalam rumen sehingga protein dalam pakan tidak terdegradasi dengan mudah di dalam rumen (Hayati, Fasyah dan Sa'adah, 2010). Penambahan tanin dalam pakan dapat menurunkan konsentrasi gas metan (Jayanegara, 2008). Kaliandra merupakan tanaman pakan yang termasuk golongan leguminosa yang mempunyai kandungan tanin yang tinggi, yaitu 10% (Setyawati, Putra, dan Roni. 2017). Fungsi tanin yang utama adalah untuk proteksi protein dari degradasi di dalam rumen sehingga menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  di dalam rumen.

Asam miristat adalah asam lemak jenuh dengan rumus molekul  $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$  (Carl, 2009 dalam Hartono dan Silitonga, 2018). Asam miristat bersifat hidrofobik yang larut pada alcohol/eter dan memiliki kelarutan yang kecil dalam air (Cahyono, 2010 dalam Hartono dan Silitonga, 2018). Menurut Odongo, *et al.* (2007) menyatakan penambahan asam miristat pada pakan dapat menurunkan produksi gas metan pada ternak ruminansia. Penelitian dilakukan oleh Muchlas, Chuzaemi

dan Mashudi (2020) dengan menggunakan pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan tanin yang berasal dari serbuk mimosa sebanyak 15 gram/kg BK dan asam miristat dengan level 20, 30 dan 40 gram/kg BK. Pada penelitian tersebut menunjukkan penurunan pada total produksi gas dengan nilai tertinggi pada P1 86,70 ml/500 mg BK dan nilai terendah pada P3 73,30 ml/500 mg BK dan penurunan pada konsentrasi gas metan dengan konsentrasi gas metan pada P1 yaitu 88197,55 PPM dan nilai terendah pada P4 yaitu 80617,43 PPM.

Berdasarkan pemaparan diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan asam miristat dan tanin yang berasal dari tepung daun kaliandra pada pakan lengkap terhadap konsentrasi gas metan dan produk fermentasi di dalam rumen secara *in vitro* produksi gas.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin pada pakan lengkap berbasis jerami jagung terhadap kandungan nutrisi, total produksi gas, konsentrasi gas metan, populasi protozoa, NH<sub>3</sub>, Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) dan konsentrasi VFA secara *in vitro*.
2. Berapakah besaran penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin yang optimal dalam pakan lengkap berbasis jerami jagung secara *in vitro* produksi gas.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengevaluasi pengaruh penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin pada pakan lengkap berbasis jerami jagung terhadap kandungan nutrisi, total produksi gas, konsentrasi gas metan, populasi protozoa, NH<sub>3</sub>, Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) dan konsentrasi VFA secara *in vitro* produksi gas.

2. Mengevaluasi besaran penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin yang optimal dalam pakan lengkap berbasis jerami jagung secara *in vitro* produksi gas.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menunjang berbagai kepentingan:

1. Pengembangan ilmu pengetahuan dan IPTEK, yaitu melalui penelitian ini diharapkan mampu menjadi referensi dan menjembatani persebarluasan wawasan informasi untuk memanfaatkan daun kaliandra sebagai sumber tanin dan *asam miristat* untuk menurunkan gas metan.
2. Menjawab tantangan industry peternakan masa depan dalam menurunkan resiko pemanasan global yang disebabkan oleh produksi gas metan yang berasal dari sektor peternakan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung**

Tanaman jagung (*Zea mays*) merupakan tanaman yang mempunyai adaptasi lingkungan yang baik yang mampu tumbuh di daerah dengan suhu minimal 8 - 10°C dan suhu maksimal 40°C (Muhadjir, 2018). Tanaman jagung merupakan tanaman yang sudah menyebar di seluruh dunia yang mempunyai banyak varietas. Tanaman jagung dibudidayakan di Indonesia sebagai makanan pokok selain beras. Selain dikonsumsi, tanaman jagung juga digunakan sebagai pakan ternak. Penanaman tanaman jagung di Indonesia dibagi menjadi dua yaitu untuk jagung konsumsi dan jagung untuk pakan ternak. Tanaman jagung terdiri dari batang, daun dan jagung. Jagung biasanya digunakan sebagai pakan ternak unggas yang sampai saat ini tidak tergantikan karena keseimbangan nutrisinya yang belum bisa digantikan oleh tanaman lain sedangkan batang dan daunnya bisa digunakan sebagai pakan ternak ruminansia sebagai sumber serat.

Tanaman jagung mempunyai banyak manfaat selain buahnya yang dapat digunakan sebagai bahan pakan dan bahan pangan, batang dan daunnya juga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak ruminansia. Tanaman jagung yang sudah dipanen dan hanya menyisakan batang dan daunnya saja disebut sebagai jerami jagung (Umiyasih dan Wina, 2008). Kandungan nutrisi dari jagung bervariasi tergantung jenis jagung, struktur tanah dan pupuk yang diberikan (Maruapey, 2012), hal ini juga akan mempengaruhi kandungan nutrisi hasil samping jagung yaitu jerami jagung. Tabel 1 menunjukkan kandungan nutrisi jerami jagung.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Jerami Jagung

Kandungan Nutrien (% BK)	Buharman, (2011)	Anggaeny, Umiyasih dan Pamungkas (2005)	Wattanaklang, Abrar and Cherdthong (2016)	Hasan, Mujnisa, Khaerani, Sema dan Natsir (2020)	Pasue, Saleh dan Bahri (2019)
PK	7,6	5,37	4,25	4,23	-
SK	24,4	31,73	32,79	-	-
LK	1,7	0,60	9,64	-	-
Abu	10,6	8,22	1,68	-	-
BK	38,9	83,20	99,28	-	-
NDF	-	-	-	60,25	-
ADF	-	-	-	40,24	-
Selulosa	-	-	-	30,12	32,96
Hemiselulosa	-	-	-	20,12	22,59
Lignin	-	-	-	-	10,60

Pakan lengkap merupakan campuran kuantitatif dari semua bahan pakan yang dicampur secara menyeluruh untuk mencegah terjadinya pemisahan dan seleksi pakan. Pakan lengkap digunakan sebagai satu-satunya sumber nutrisi kecuali air dan diformulasikan dalam proporsi yang diinginkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Tingkat persentase konsentrat dan serat dapat bervariasi sesuai dengan kebutuhan nutrisi ternak untuk tujuan produksi yang berbeda (Beigh, Ganai dan Ahmad, 2017).

Beigh, Ganai dan Ahmad, (2017) menyatakan Manfaat pemberian pakan lengkap pada ternak adalah dapat menurunkan biaya pakan karena dapat diberikan pakan limbah pertanian sebagai sumber serat sehingga peternak

skala kecil bisa bertahan dengan pakan yang berasal dari limbah-limbah tanaman pangan yang ditanam di sekitar. Pemberian pakan lengkap memberikan efek yang lebih stabil pada lingkungan rumen sehingga proses fermentasi di dalam rumen menjadi optimal. Pemberian pakan lengkap dengan rasio konsentrat yang seimbang dapat mengurangi waktu makan dan memamah biak sehingga meningkatkan waktu ternak istirahat.

Penelitian dilakukan oleh Muchlas, Chuzaemi dan Mashudi (2020) dengan menggunakan pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan *asam miristat* dan tanin. Hasil menunjukkan kualitas dari pakan lengkap tersebut menunjukkan penambahan kadar lemak pada pakan lengkap, semakin banyak penambahan *asam miristat* pada pakan maka kadar lemak pakan akan semakin meningkat. Penelitian dilakukan oleh Usman (2013) dengan pemberian pakan limbah pertanian berupa jerami kacang, jerami jagung dan pucuk tebu pada ternak sapi berfistula dan dievaluasi pH, N-NH<sub>3</sub> dan VFA. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan pakan yang menggunakan jerami jagung mempunyai nilai N-NH<sub>3</sub> dan VFA paling tinggi dibandingkan dengan jerami kacang tanah dan pucuk tebu, tetapi untuk nilai pH nilai jerami jagung sama dengan nilai pucuk tebu yang keduanya mempunyai nilai lebih kecil daripada nilai pH dari jerami kacang tanah.

## **2.2 Tanin Kaliandra**

Kaliandra merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Utara dan selatan dan mempunyai berbagai macam jenis, ada 132 jenis kaliandra di daerah asalnya dan sudah menyebar hampir di seluruh dunia. Kaliandra termasuk dalam famili *leguminosae* dengan subfamili *mimosoideae*. Meskipun penyebarannya luas, kaliandra dapat dibedakan karena



mempunyai ciri-ciri yang khas yaitu daun dari semua spesies memiliki sumbu utama dari mana sumbu sekunder bercabang secara berpasangan. Sepasang selebaran disusun di sepanjang sumbu sekunder. Pada daun beberapa spesies hanya ada dua sumbu sekunder dengan sepasang anak daun pada masing-masingnya. Pada daun spesies lain terdapat banyak pasang sumbu sekunder dan banyak pasang daun. Selain daun, bunga dari tanaman kaliandra juga mempunyai ciri yang khas yaitu bunganya hampir selalu berbentuk cangkir dengan lima kelopak kecil yang tersusun teratur. Banyak filamen putih atau merah panjang melebihi cangkir bunga dan selalu bergabung menjadi tabung di pangkal dan setidaknya dua kali lebih panjang dari bunga itu sendiri. Selain itu bunga pada kaliandra terbuka pada malam hari dan menguncup pada pagi hari dan bentuk buah dari semua spesies *Calliandra* berbentuk lurus (atau agak melengkung), polong pipih dengan tepi terangkat (Macqueen, 1993a). Tanaman kaliandra di Indonesia sudah banyak digunakan untuk pakan ternak ruminansia karena mudah di dapatkan dan mempunyai kandungan nutrisi yang baik yaitu dengan pemotongan 8 minggu kandungan BK (29,55%), PK (21,10%), LK (1,86%), SK (18,46%) dan BO (93,17%) (Abqorriyah, Utomo dan Suwignyo, 2015). Selain mempunyai nutrisi yang baik, kaliandra juga mempunyai kandungan tanin yang tinggi, yaitu 10% (Setyawati, Putra, dan Roni. 2017).

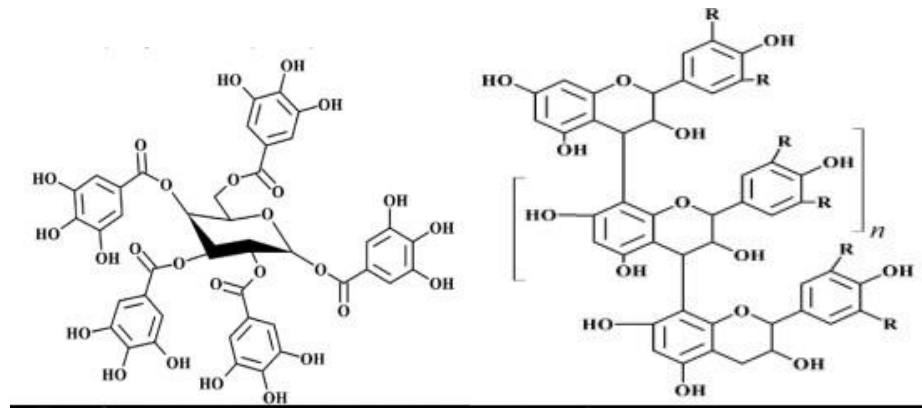
Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk ikatan kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa *makromolekul*. Tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Kedua jenis tanin ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi (Hayati, Fasyah dan Sa'adah, 2010).

Tanin mempunyai sifat sebagai pengelat berefek spasmolitik yang mengkerutkan usus sehingga gerak peristaltik usus berkurang, adanya efek spasmolitik ini juga mungkin dapat mengkerutkan dinding sel bakteri atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Permeabilitas yang terganggu menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan hidup sel terhambat atau bahkan mati. Tanin juga mempunyai daya anti bakteri dengan cara mempresipitasikan protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolat. Efek anti bakteri tanin antara lain reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik bakteri (Fратиwi, 2015).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Jayanegara dan Sofyan, 2008). Menurut Wayghorn and Mc Nabb (2003) dalam Jayanegara dan Sofyan (2008) tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer gallic atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin yang terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon. Menurut Harbone (1987) dalam Mayangsari dkk (2013) tanin terkondensasi secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi.

Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer. Tanin terhidrolisa berpotensi beracun bagi ternak, tetapi kebanyakan ternak ruminansia bisa menyesuaikan diri dengan tanin ini, caranya dengan mengurangi ekskresi produk degradasi urin. Meskipun demikian, sejumlah besar tanaman yang mengandung tanin ini dapat menyebabkan gangguan hati dan ginjal serta kematian. Kematian biasanya terjadi sepuluh hari setelah konsumsi berlebihan pertama (Addisu,

2016). Penelitian lain menunjukkan konsumsi tanin terhidrolisa ini tidak beracun jika jumlah yang digunakan kecil seperti dalam bungkil kedelai (20,8g/kg DM) yang diuji dengan domba merino dalam kondisi finishing praktis tidak menunjukkan bahwa senyawa ini beracun dan tidak memiliki efek negatif pada kinerja hewan (Frutos *et al*,2004). Tanin terkondensasi awalnya pada tumbuhan digunakan sebagai sistem pertahanan tumbuhan agar tidak dimakan oleh hewan pemangsa. Sekarang, tanin ini banyak digunakan sebagai tambahan pakan ternak untuk berbagai macam fungsi. Adanya tanin terkondensasi pada hijauan dapat memberikan cara praktis untuk melindungi protein pakan hijauan dari degradasi rumen, sehingga meningkatkan penyerapan protein di usus kecil dengan implikasi untuk kinerja hewan (Piluzza, Sulasand and Bullitta, 2013). Mc Sweeney *et al.* (2001) menyatakan efek negatif tanin pada pencernaan protein dibandingkan dengan efeknya terhadap serat tidak terlihat. Efek tanin pada pencernaan serat adalah efek sekunder dibandingkan dengan pencernaan protein. Protein memiliki keterkaitan yang lebih baik dengan tanin daripada serat karena serat dan tanin hanya berinteraksi dengan ikatan hidrogen, hal ini membuat bakteri proteolitik akan lebih sensitif daripada bakteri yang mencerna serat dalam hal interaksi dengan tanin (Silanikove *et al.* 2001). Min *et al.* (2002) melakukan penelitian dengan menggunakan kambing, hasilnya tanin terkondensasi dalam lotus corniculatus mengurangi populasi beberapa bakteri proteolitik, tetapi total protein mikroba ruminan tetap tidak berubah.



Struktur tanin terhidrolisa

Struktur tanin terkondensasi

Gambar 1. Struktur Tanin

Sumber: Addisu (2016)

Tanin merupakan senyawa antinutrisi yang memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Tanin membentuk ikatan kompleks dengan protein, karbohidrat (selulosa, hemiselulosa dan pektin), mineral, vitamin dan enzim mikroba di dalam rumen. Kompleks ikatan tanin dengan protein dapat terlepas pada pH rendah di dalam abomasum sehingga protein dan asam-asam amino yang dikandungnya dapat dimanfaatkan oleh ternak (Wahyuni, Nukhtiani dan Cristianto, 2014). Tanin juga dapat digunakan sebagai agen defaunasi yang dapat menurunkan populasi protozoa sehingga mampu menekan produksi metan di dalam rumen (Makkar, 2003). Beberapa enzim mikroba telah diidentifikasi dapat memetabolisme tanin, terutama tanin terhidrolisa. Bakteri yang dapat memetabolisme tanin terhidrolisa tersebut adalah *Syryptococcus Caprinus* (*S. Gallolyticus*) yang dapat menghasilkan asam tanat ketika aktivitas dekarboksilase galat meningkat karena adanya tanin terhidrolisa (O'Donovan and Brooker,2001).

Pemberian tanin pada bahan pakan dapat memberikan efek defaunasi. Adanya kompleks protein-tanin dapat mengakibatkan tekanan terhadap populasi protozoa rumen sehingga menyebabkan efek tidak langsung terhadap penurunan jumlah protozoa, oleh karena itu berdasarkan sifat dari

protozoa, maka mengurangi atau menekan populasi protozoa berarti memberi kesempatan bakteri untuk dapat berkembang biak lebih baik, menurunkan degradabilitas protein dan menurunkan kehilangan energi dalam bentuk metan. Hasil penelitian menunjukkan tanin ampas teh dan gambir dengan konsentrasi 0,4% pada bungkil kedelai mampu menurunkan produksi gas metan dan gas total (Sajati, 2012).

Tanin mengikat protein dengan ikatan hidrogen yang sensitif terhadap perubahan pH. Tanin kondensasi akan berikatan stabil pada pH 4 –7 di dalam rumen, sedangkan pada pH yang ekstrim ikatan tanin dengan protein akan terlepas, yaitu pada pH kurang dari 3 yaitu di dalam abomasum dan pH lebih dari 7 yaitu didalam *intestinum* (Sasongko, Bachruddin dan Mugiono, 2010). Ikatan tannin protein tersebut membuat pakan dengan protein tinggi tidak mudah di degradasi di dalam rumen sehingga mampu menurunkan produksi gas dan konsentrasi amonia dalam rumen. Cahyani, Nurwantara, dan Subrata (2012) mengatakan bahwa tanin mampu menurunkan fermentabilitas akibat pembentukan ikatan kompleks tanin protein. Produksi amonia dipengaruhi oleh jumlah degradasi protein kasar (PK) dalam rumen. Semakin tinggi degradasi PK dalam rumen akan meningkatkan produksi amonia, demikian pula sebaliknya dengan semakin rendahnya degradasi PK dalam rumen maka produksi amonia rumen menjadi menurun.

Kumar, *et al.*, (2014) menyatakan beberapa pakan tropis yang menandung tanin memiliki pencernaan serat yang lebih rendah yang menyebabkan produksi hidrogen dan emisi metana yang rendah. Selain itu, ikatan tanin protein juga mengurangi degradasi protein nabati dalam rumen dan menurunkan gas metan. Ngamsaeng dan Wanapat, (2006) menyatakan beberapa contoh tanaman lokal yang mengandung tanin adalah buah pisang, buah murbei india, buah mentimun pahit, daun pohon siam

mimba, daun apel, kulit manggis, daun sesbania, jerami singkong, bunga pisang, daun mulbery, daun kayaeng dan daun bintang goosebery. Tanin terkondensasi dari tiap tanaman sangat beragam dalam kapasitas dan kualitas untuk mengikat karbohidrat dan protein (McAllister *et al*, 2005). Dengan demikian, ada kemungkinan bahwa tanin yang ditambahkan pada pakan ternak tiap tumbuhan akan berbeda konsentrasinya (Beauchemin, *et al*.2007) dan Stewart (2018). Penggunaan sumber tanin yang tepat akan membuatnya lebih efektif, tanin yang tepat yaitu penggunaan tanaman lokal dimana tempat diadakan penelitian atau adanya ternak (Suybeng *et al*,2019). Menurut penelitian Ngwa *et al* (2002) menyatakan 1,5% kondensasi tanin adalah tingkat optimal pemberian tanin untuk memberikan efek nyata tetapi tetap memenuhi kebutuhan N untuk mikroba. Pada penelitian Oliveira, *et al* (2007) dengan menggunakan dua konsentrasitanin (rendah dan tinggi) mendapatkan hasil bahwa konsentrasi rendah pada tanin tidak berpengaruh pada produksi gas metan. Pemberian pakan mengandung tanin pada ternak berbeda pada ternak kambing, domba dan sapi. Untuk domba dan sapi masih mirip dalam respon tanin tetapi berbeda pada ternak kambing. Pemberian pada ternak kambing harus lebih rendah daripada pemberian pada sapi dan domba (Puchala *et al*.2005).

Jayanegara, Sofyan, Makkar dan Becker (2009) melakukan penelitian menggunakan tanin yang digunakan pada hay dan jerami secara *in vitro*. Data menunjukkan bawa suplementasi hijauan yang mengandung tanin dapat menurunkan produksi metana dari system fermentasi rumen secara *in vitro*. Mekanisme penghambatan produksi metana pada ternak ruminansia telah dilakukan oleh Tavendele, Meagher, Pachero, Walker, Attood and Sivakumaran (2005) yaitu (1) secara tidak langsung melalui penghambatan pencernaan serat yang mengurangi produksi H<sub>2</sub> dan (2) secara langsung menghambat pertumbuhan dan aktivitas metanogen. Jayanegara (2008d)

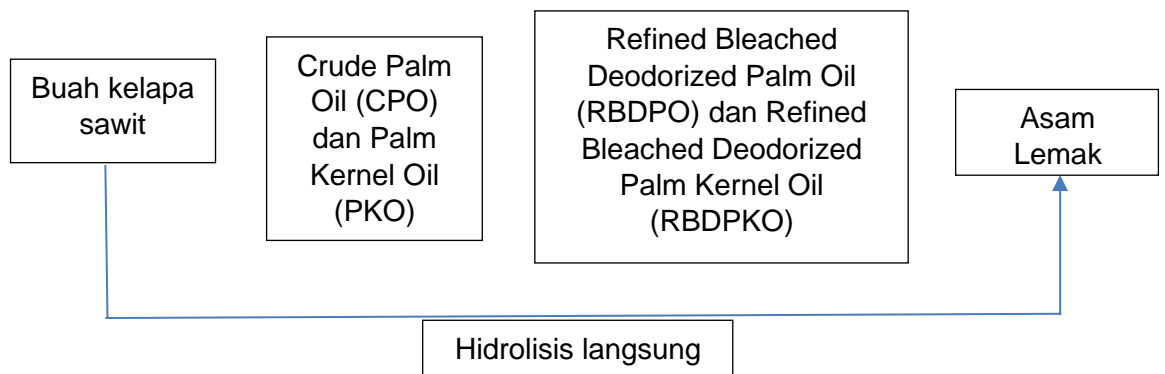
menyatakan bahwa tanin terkondensasi menurunkan metana melalui mekanisme pertama sedangkan tanin terhidrolisis lebih berperan pada mekanisme kedua.

### 2.3 Asam miristat

Sawit merupakan tanaman yang tumbuh subur dan banyak di Indonesia karena memiliki struktur tanah yang sesuai untuk pertumbuhan dari tanaman sawit. Indonesia memproduksi minyak sawit terbesar di dunia, dilaporkan bahwa produksi minyak sawit kasar (CPO) di Indonesia menurut Anonim (2019) menyatakan produksi minyak kelapa di Indonesia mencapai 45.861.121 ton/ tahun dan estimasi pada tahun 2020 mencapai 49.117.260 ton/ tahun. Dari poses minyak sawit kasar menjadi minyak goreng akan dihasilkan hasil samping yang berupa asam lemak bebas. Asam lemak ini dapat digunakan sebagai pakan ternak unggas maupun ruminansia. Wina dan Susana (2013) menyatakan, ada 3 faktor yang dapat menentukan sifat dari asam lemak yaitu:

- A. Panjangnya rantai karbon penyusun asam lemak; ada yang berantai pendek, rantai menengah dan rantai Panjang (>C16)
- B. Ada atau tidaknya ikatan rangkap dan jumlah ikatan rangkap; ada yang berikatan jenuh (tidak mempunyai ikatan rangkap) seperti asam palmitat (C16:0), asam stearate (C18:0) asam lemak yang berikatan tidak jenuh tunggal (*monounsaturated*: MUFA), contoh: asam leolat (C18:1) sedangkan ikatan tidak jenuh jamak (*Polyunsaturated*: PUFA) sebagai contoh: asam linoleate (C18:2) dan asam linolenat (C18:3)
- C. Lokasi dan orientasi dari ikatan rangkap ini: konjugasi dan non-konjugasi serta orientasi "cis" atau "trans". Orientasi "cis" artinya atom hydrogen yang menempel pada atau carbon yang berikatan

rangkap, masing-masing menghadap ke posisi yang sama, sedangkan orientasi “trans” artinya atom hydrogen yang menempel pada atom carbon yang berikatan rangkap, menghadap ke posisi yang berlawanan. Asam lemak konjugasi adalah asam lemak yang mempunyai ikatan rangkap (tidak jenuh) berdekatan/bersebelahan dan terpisah hanya oleh satu ikatan jenuh.



Gambar 2: Prosedur produksi asam lemak dari buah sawit

(Sumber: Tambun, *et al*, 2019)

Proses pembentukan asam lemak berasal dari buah sawit dapat dilihat dalam Gambar 2. Buah kelapa sawit diolah menjadi minyak sawit mentah (CPO) dan PKO, kemudian CPO dan PKO dimurnikan untuk disuling menjadi minyak sawit yang baunya telah dihilangkan (RBDPO) dan minyak inti sawit yang baunya telah dihilangkan (RBDPKO). RBDPO dan RBDPKO dihidrolisis menjadi asam lemak. Suhu pada proses hidrolisis sekitar 240-260 °C dan tekanan 45-50 bar.

Asam lemak yang dihasilkan oleh kelapa sawit dapat dibagi lagi menjadi 2 yaitu asam lemak jenuh dan tidak jenuh. Pada minyak kelapa mempunyai kandungan lemak jenuh berupa asam miristat sebanyak 1,1- 2,5%, asam palmitat sebanyak 40-46% dan asam stearat sebanyak 3,6- 4,7%. Kandungan asam lemak tidak jenuh berupa asam oleat sebanyak 39-45%

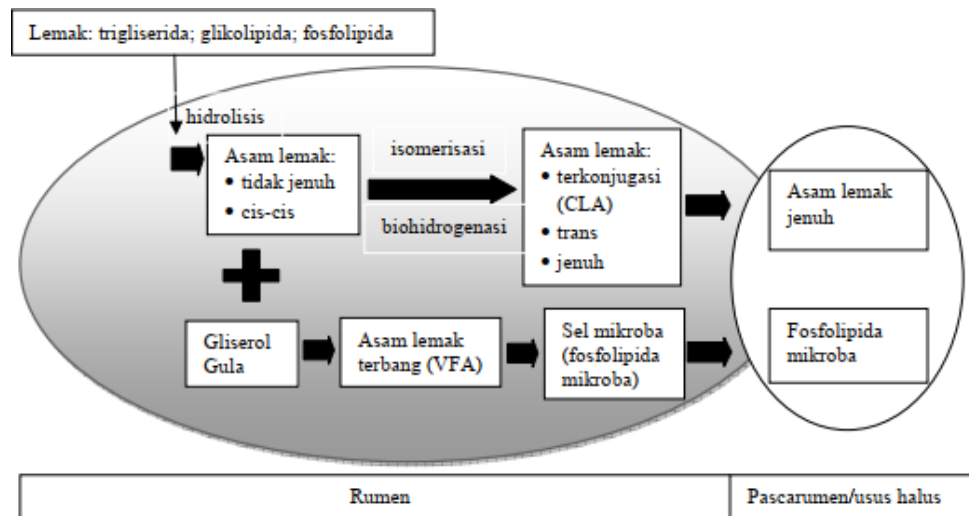


dan asam linoleate sebanyak 7-11% (Maulinda, Nasrul dan Nurbaity, 2017). Menurut Irina, Oleynikova, Ulyana, Tomilova, and Shaidorova (2019) menyatakan bahwa perbedaan dalam metode produksi dapat membedakan kandungan dari asam lemak pada kelapa sawit, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbedaan kandungan asam lemak pada kelapa sawit dengan metode produksi yang berbeda

Nama asam lemak	Hidrogenasi (%)	Frasinasi(%)	Garam kalsium dari asam lemak (%)
Palmitat	45-50	75-85	30-50
Stearat	45-50	3-5	0-5
Oleat	2-6	10-15	40-70
Laurat	0-1	0	0-1
Miristat	0-2	0-5	0-2
Linoleat	0	1-3	8-10

Lemak (trigliserida, glikolipida, fosfolipida) yang dimakan oleh ternak di dalam rumen akan mengalami dua proses besar yaitu proses hidrolisis ikatan eter dalam lemak yang berasal dari pakan dan proses biohidrogenasi asam lemak tidak jenuh yang terjadi setelah lemak dihidrolisis menjadi asam lemak bebas (Bauman and Lock, 2006 dalam Wina dan Susana, 2013). Asam lemak dibagi 2 yaitu asam lemak tidak jenuh dan asam lemak jenuh, menurut Legrand and Rioux (2010) menyatakan dalam metabolisme asam lemak jenuh dari C12:0 sampai C18:0 diubah menjadi asam lemak tak jenuh tunggal melalui proses desaturasi. Proses metabolisme lemak setelah dikonsumsi oleh ternak ruminansia dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Proses metabolisme lemak di dalam rumen

Sumber: Wina dan Susana (2013)

Lemak yang masuk ke dalam rumen akan mengalami proses hidrolisis oleh bakteri rumen. Tingkat hidrolisis lemak didalam rumen mencapai 85%, lemak terhidrolisis menjadi asam lemak bebas, gula, fosfat dan gliserol. Gliserol dan gula akan mengalami proses perubahan menjadi asam lemak terbang (VFA) yang kemudian digunakan untuk membentuk sel mikroba rumen. Asam lemak bebas di dalam rumen kemudian akan mengalami beberapa proses yaitu proses isomerase dari posisi “cis” menjadi “trans” dan proses biohidrogenasi sehingga asam lemak yang tidak jenuh akan menjadi asam lemak jenuh serta proses konjugasi pada asam lemak tidak jenuh (lebih dari dua ikatan rangkap) sehingga terbentuk asam lemak konjugasi (Bauman and Lock, 2006 dalam Wina dan Susana, 2013).

Proses biohidrogenasi terjadi tidak secepat proses lipolysis tetapi proses biohidrogenasi akan mengurangi pengaruh negative dari asam lemak tidak jenuh terhadap bakteri rumen. Proses hidrogenasi merupakan proses untuk menghilangkan kelebihan hydrogen yang terbentuk selama proses fermentasi di dalam rumen. Proses biohidrogenasi asam lemak tidak jenuh juga berguna karena dapat mengurangi pengaruh asam lemak tidak jenuh

yang menekan pertumbuhan bakteri rumen (Bauman and Lock, 2006 dalam Wina dan Susana, 2013).

Asam miristat adalah asam lemak jenuh dengan rumus molekul  $C_{14}H_{28}O_2$  serta berbentuk kristal pada suhu ruang (Carl, 2009 dalam Hartoto dan Silitonga, 2018). asam miristat bersifat hidrofobik sehingga dapat larut dalam alcohol atau eter dan memiliki kelarutan yang kecil dalam air. Asam miristat juga merupakan sumber zat aktif yang bersifat melembabkan seperti asam lemak nabati pada umumnya (Cahyono, 2010 dalam Hartono dan silitonga, 2018). Penelitian dilakukan oleh Sitoresmi, Yusiati dan Hartadi (2009) dengan penambahan minyak kelapa, minyak biji bunga matahari dan minyak kelapa sawit terhadap penurunan gas metan secara *in vitro*. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini adalah penambahan minyak kelapa memiliki pengaruh yang paling besar dalam menurunkan jumlah populasi protozoa dan produksi gas metan serta kadar asam propionat dibandingkan dengan pemberian minyak biji bunga matahari.

## **2.4 In Vitro Produksi Gas**

*In vitro* produksi gas merupakan simulasi rumen dalam sistem *bacth culture*. Sampel pakan yang akan diteliti di inkubasi dalam fermentor (*syringe glass* atau botol serum) pada suhu 39°C dalam medium *anaerob* yang diinokulasi dengan mikroba rumen (Blummel and Oskov dalam Kurniawati, 2007). Produksi gas selama inkubasi merupakan produk buangan dari fermentasi substrat di dalam tabung seperti  $CH_4$ ,  $CO_2$ ,  $O_2$ ,  $H_2S$  dan gas lainnya (Beuvink and Spoelstra (1992) dalam Kurniawati 2007).

Uji produksi gas secara *in vitro* mempunyai daya tarik tersendiri bagi para ahli gizi ruminansia karena sangat mudah dalam pengukuran produksi gas dengan waktu yang telah ditentukan (Makkar, 2001). Teknik produksi gas secara *in vitro* metode Blummel, Steingab and Becker (1997) merupakan salah satu metode evaluasi kualitas bahan pakan yang dilakukan dengan

meniru proses fermentasi bahan pakan di dalam rumen dengan kondisi *anaerob*, suhu serta pH yang terkontrol. Teknik ini dilakukan dalam tahap pengerjaan dimana gas yang dihasilkan berasal hanya dari proses pencernaan bahan pakan di dalam rumen. Kurniawati (2007) menyatakan bahwa teknik produksi gas merupakan teknik sederhana yang banyak digunakan dalam penelitian fermentasi rumen karena mampu memprediksi pencernaan pakan didalam rumen. Laju fermentasi pakan dalam rumen dapat digambarkan dengan mengukur nilai produksi gas sehingga dapat diprediksi nilai energi.

Perbedaan sifat kimia pakan akan memberikan nilai produksi gas yang berbeda. Pakan sumber karbohidrat akan menghasilkan produksi gas yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan pakan sumber protein (Firson dan Lisanti, 2017). Penelitian dilakukan oleh Gemeda and Hassen (2015) dengan mengevaluasi efek tanin dari berbagai spesies tanaman yang diukur produksi gas secara *in vitro*. Hasil menunjukkan variasi yang beragam pada produksi gas. Variasi nilai produksi gas ini dipengaruhi oleh kandungan tanin yang terdapat pada tanaman. Semakin tinggi kandungan tanin dalam tanaman maka produksi gas akan semakin rendah karena tanin merupakan senyawa beracun bagi mikroba.

Teknik *in vitro* merupakan teknik yang sederhana dan banyak digunakan dalam penelitian fermentasi rumen, umumnya metode ini digunakan dalam tahap awal penelitian untuk prediksi nilai pencernaan pakan dalam rumen dan prediksi nilai nutrisi pakan (Kurniawati, 2007). Metode ini banyak digunakan karena dapat menggunakan sampel yang banyak dengan waktu yang relatif singkat, pada metode *in vitro* ini juga lebih baik dalam pengamatan interaksi antara nutrisi dan anti-nutrisi dan anti-nutrisi dengan anti-nutrisi. Metode *in vitro* ini tidak memerlukan peralatan yang canggih atau penggunaan sejumlah besar hewan ternak, tetapi cukup menggunakan satu atau dua hewanberfistula (Makkar, 2001).

Metode *in vitro* dalam evaluasi bahan pakan memiliki banyak keunggulan, yaitu lebih murah, tidak menyita waktu yang lama serta dapat menjaga kondisi inkubasi secara tepat. Teknik *in vitro* menggunakan sampel yang lebih sedikit sehingga membuatnya sesuai untuk bahan pakan yang ketersediaannya tidak dalam jumlah yang banyak. Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi pakan secara *in vitro* dapat menyebabkan perbedaan antar laboratorium, hal ini terutama terkait dengan sifat dari cairan rumen, kondisi fisiologis ternak berfistula, perkembangan ternak berfistula serta waktu pengumpulan cairan rumen terhadap waktu pemberian pakan (Getachew, *et al*, 2002). Banyak penelitian yang membuktikan metode *in vitro* sejalan dengan *in vivo* dalam berbagai variable seperti pengukuran produksi gas metan, energi dan pencernaan (Akinfemi, Adesanya, and Aya, 2009). Penelitian dilakukan oleh Muchlas, Chuzaemi and Mashudi (2020) menggunakan serbuk mimosa dan asam miristat yang digunakan pada pakan lengkap berbasis jerami jagung menunjukkan bahwa penambahan tanaman dengan kandungan tanin dan asam miristat pada pakan dapat menurunkan produksi gas pada pakan secara *in vitro*.

Hasil fermentasi mikroba rumen diantaranya adalah adalah  $\text{NH}_3$  dan VFA. VFA terdiri dari asam asetat, propionate, dan butirat, (Prawirokusumo, 1994 dalam Purbowati, dkk, 2014). VFA (*Volatile Fatty Acid*) merupakan produk fermentasi dari karbohidrat yang dihasilkan oleh mikroba rumen yang menjadi sumber energi utama bagi ternak ruminansia. Karbohidrat terdiri dari serat kasar dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN), kandungan BETN yang lebih tinggi maka kandungan VFA yang dihasilkan akan semakin tinggi (Ma'rifatunnisa, Tanuwiria, dan Hernaman, 2015). Chuzaemi (2012) menyatakan penyerapan VFA Sebagian besar terjadi di dalam retikulo-rumen. Kecepatan penyerapannya dipengaruhi oleh pH dan Panjang rantai karbon (C) dari VFA, rantai C yang semakin panjang dan pH retikulo-rumen

yang rendah dapat mempercepat penyerapan dan untuk nilai pH berkisar 6-7. Muslimah, Istiwati, Budiman, Ayuningsih dan Hernaman (2020) menyatakan semakin tinggi VFA menandakan bahwa pakan tersebut mudah di degradasi oleh mikroba didalam rumen.

## **2.5 Gas Metan (CH<sub>4</sub>)**

Peternakan terutama ternak ruminansia dinyatakan sebagai salah satu penyumbang gas metan terbesar karena mempunyai sistem fermentasi yang dibantu oleh mikroba di dalam saluran pencernaanya untuk merubah karbohidrat menjadi struktur yang lebih kecil sehingga mampu dimanfaatkan oleh tubuh inang. Gas metan yang diproduksi oleh ternak dipengaruhi oleh laju pencernaan, umur, bobot badan dan kualitas dan kuantitas pakan yang dikonsumsi (Anonim, 2006). Pada ternak ruminansia, bahan organik pakan difermentasi oleh mikroba rumen dan menghasilkan asam lemak mudah terbang *Volatile Fatty Acid*, karbon dioksida (CO<sub>2</sub>), Hidrogen (H<sub>2</sub>) dan biomassa mikroba. Melalui proses metanogenesis oleh bakteri metanogenik, CO<sub>2</sub> direduksi dengan H<sub>2</sub> membentuk CH<sub>4</sub> dan dikeluarkan melalui eruktasi sebesar 83%, pernapasan 16% dan anus 1% (Murray *et al* 1976 dalam Vlaming, 2008).

Pakan merupakan hal terpenting bagi ternak karena untuk memenuhi produksifitas ternak. Energi di dalam pakan yang dimakan oleh ternak ruminansia sekitar 2-15% tidak dapat dimanfaatkan dan dikeluarkan Kembali dalam bentuk gas metana. Persentase produksi gas metana bervariasi tergantung dari jenis dan tipe ternak, kandungan bahan organik dalam pakan, kandungan komponen serat di dalam pakan, nilai degradibilitas komponen serat tersebut oleh mikroba rumen dan kondisi lingkungan rumen. Produksi gas metana dari seekor sapi dapat mencapai 49,80 Kg/ekor/tahun dengan dasar perhitungan bahwa energi gas metana yang terbentuk dari energi konsumsi adalah 8% dari energi yang dikonsumsi ternak (Anonim,2006)

Seekor ternak mengkonsumsi bahan kering pakan sekitar 3% dari bobot hidup. Misalkan seekor sapi dengan bobot badan 300 kg akan mengkonsumsi bahan kering pakan sekitar 9 Kg per hari. Kandungan energi bruto pakan yang dikonsumsi adalah 10,46 MJ/Kg sehingga total energi bruto yang dikonsumsi adalah 94,14 MJ/hari. Dari energi bruto tersebut akan terbentuk gas metana sebanyak 8% atau setara dengan 7,53 MJ yang sama dengan 2749 MJ per tahun. Apabila 1 gram gas metana mengandung energi 0,0552 MJ maka akan terbentuk sekitar 49,80 Kg gas metana per ekor pertahun. Konversi 1 g CH<sub>4</sub> = 0,0552 MJ dan 1 kal = 4,184 Joule, sementara konversi CH<sub>4</sub> ke dalam satuan produksi CO<sub>2</sub> memiliki nilai 21 (g/g) dan N<sub>2</sub>O mempunyai nilai 310 (g/g) (Anonim, 2006). Pemberian tanin dapat menurunkan produksi gas metana pada kambing yang menggambarkan bahwa mitigasi gas metana dapat diturunkan dengan menggunakan pemberian pakan ternak yang tepat (Puchala, Min, Goetsch and Sahlu, 2005).

Selain pakan, bangsa, umur dan lingkungan juga berpengaruh pada produksi gas metana pada ternak. Bangsa ternak ruminansia mempunyai perbedaan dalam efektivitas pencernaan pakan yang dipengaruhi oleh perbedaan komposisi dan populasi mikroba di dalam rumen. Ternak sapi, kerbau, domba dan kambing meskipun mempunyai system pencernaan yang sama namun ada perbedaan pada masing-masing ternak tersebut (Hartono dan Thalib, 2009). Umur ternak mempengaruhi produksi gas metana pada ternak. Ternak ruminansia yang belum disapih dari induknya mempunyai sistem pencernaan seperti pada hewan monoogastrik karena system alat pencernaan belum berkembang sempurna, sehingga produksi metana pada ternak yang belum disapih dianggap tidak ada. Semakin tua umur ternak semakin bertambah bobot badannya maka akan mempunyai konsumsi pakan yang lebih banyak dan menghasilkan produksi gas metana yang lebih besar. Suhu lingkungan yang rendah cenderung menyebabkan produksi gas metana yang

tinggi dibandingkan dengan suhu lingkungan yang tinggi.

Gas metan terbentuk secara alami dari reduksi CO<sub>2</sub> oleh H<sub>2</sub> yang dikatalis oleh enzim yang dihasilkan oleh bakteri metanogen. Pembentukan ini bertujuan untuk menjaga tekanan H<sub>2</sub> yang sangat rendah (menghindari pembentukan laktat yang tinggi) dan hal ini berpengaruh penting terhadap fermentasi secara keseluruhan. Pembentukan gas metan dinyatakan oleh Jayanegara (2008) yaitu  $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$  (metanogenesis).

Penurunan gas metan erat kaitannya dengan populasi protozoa didalam rumen. Protozoa merupakan agen yang berfungsi sebagai penyatu antara metanogenik dan ciliata, sehingga menyebabkan terbentuknya gas metan. Perurunan populasi protozoa membuat mekanisme symbiosis antar protozoa bersilia dan metanogenik terganggu sehingga tidak terbentuknya gas metan. Protozoa bersilia diketahui mempunyai mekanisme transfer hydrogen interspesies yang spesifik dengan hubungan *ecto* dan *endo symbiosis* dengan bakteri metanogen. Bakteri metanogen yang berkaitan dengan protozoa bersilia terutama berasal dari family *Methanobacteriacease* (Hegati, 1999). Hubungan symbiosis antara bakteri metanogen dan protozoa bersilia terlihat betapa penting bakteri metanogen berperan dalam mencegah terakumulasinya hydrogen melalui mekanisme transfer hydrogen secara interspesies dengan protozoa bersilia yang menyebabkan hanya sedikit hydrogen yang mampu dikonversi menjadi gas metan (Jordan *et al.* 2003). Vogels *et al.* (1980) menyatakan bahwa hampir semua bakteri yang menempel pada protozoa merupakan metanogen. Dengan berkurangnya populasi protozoa melalui defaunasi, maka populasi bakteri berubah, produksi VFA dialihkan dari asetat dan butirrat ke propionate dan produksi metan berkurang (Hegarty, 1999). Martin *et al.*, (2008) menyatakan bahwa dalam pembentukan VFA, propionate membutuhkan H<sub>2</sub>, sedangkan dalam pembentukan asetat dan butirrat menghasilkan H<sub>2</sub>. Hal ini menandakan bahwa



pembentukan asetat dan butirir memicu terbentuknya  $H_2$  sehingga akan dimanfaatkan oleh bakteri metanogen untuk diubah menjadi  $CH_4$ , sedangkan produksi propionate yang tinggi membutuhkan  $H_2$  sehingga pembentukan  $CH_4$  akan menurun.

## 2.6 Protozoa Rumen

Ternak ruminansia adalah ternak yang unik karena mempunyai empat lambung yang terdiri dari rumen, retikulum, omasum dan abomasum yang masing-masing lambung mempunyai fungsi dan kegunaan yang berbeda. Rumen adalah lambung yang mempunyai mikroba untuk membantu proses pencernaan pakan tinggi serat sehingga ternak ruminansia dapat mencernanya lebih maksimal. Pada kondisi ternak yang normal, di dalam rumen terdapat empat jenis mikroba yaitu bakteri, protozoa, fungi dan virus. Dari keempat populasi tersebut bakteri mempunyai populasi yang paling tinggi yaitu  $10^{10}$ - $10^{11}$  sel/ml cairan rumen, populasi kedua yaitu protozoa yang mencapai  $10^5$ - $10^6$  sel/ml cairan rumen (Ogimoto dan Imai, 1980 dalam Muslim, dkk, 2014). Mikroba di dalam rumen memiliki sifat salingtergantungan dan berintegrasi satu sama lainnya. Setiap mikroorganisme saling berperan dalam adaptasi pakan yang berbeda (Muslim, dkk, 2014).

Protozoa merupakan mikroorganisme yang mempunyai ukuran yang besar dibandingkan dengan bakteri yaitu 40 kali lipat dan menjadi predator dari bakteri tersebut (Dayyani, Karkudi, dan Zakerian, 2013). Jumlah protozoa di dalam rumen sangat bervariasi berdasarkan jenis pakan, umur dan inangnya. Secara normal jumlah protozoa bersilia sebanyak  $10^5$  per ml pada pakan berserat kasar tinggi dan meningkat menjadi  $10^6$  per ml pada jenis pakan yang mengandung banyak gula-gula terlarut dan sudah beradaptasi. Protozoa bersifat *anaerob* sehingga jika perubahan kadar oksigen dan nilai pH isi rumen tinggi maka protozoa tidak bisa membentuk *cyte* untuk mempertahankan diri dari lingkungan yang tidak sesuai sehingga akan mati

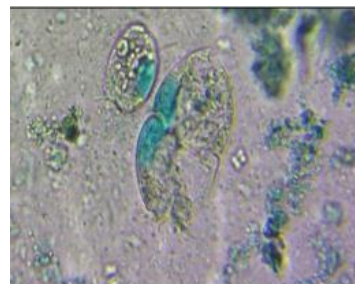
(Yanuartono, Nurorrozi, Indarjulianto, dan Purnamaningsih, 2019). Umur pada ternak mempengaruhi dari populasi protozoa di dalam rumen, menurut Duarte, Abrao, Ribeiro, Vieira, Nigri, Ailva, Junior, Barreto and Geraseev (2018) umur ternak yang masih muda mempunyai populasi protozoa yang lebih sedikit dibandingkan dengan umur yang lebih dewasa serta mempunyai perbedaan jenis protozoa pada ternak muda dan dewasa. Jenis ternak juga akan mempengaruhi jumlah populasi protozoa di dalamnya, menurut Purbowati, Rianto, Dilaga, Lestari, dan Adiwiniarti (2014) pada ternak yang berbeda mempunyai perbedaan pada jumlah populasi protozoa seperti pada sapi jawa dan peranakan ongole. Selain perbedaan bangsa ternak, jenis ternak (sapi, kambing dan domba) mempunyai jumlah populasi protozoa yang berbeda (Stefanut, Ognean, Niculescu and Bolfa, 2015).

Protozoa di dalam rumen terdiri dari protozoa bersilia dan berflagela, tetapi protozoa bersilia jauh lebih dominan dalam jumlah dan peran dibandingkan dengan protozoa berflagela. Baryam, Murat, dan Falakali (2001) protozoa bersilia dalam rumen dapat dibagi berdasarkan komposisi genetiknya menjadi 4 tipe utama yaitu A, B, O dan K. dua kelompok protozoa bersilia yang biasa terdapat di dalam rumen yaitu *entodiniomorphid (oligotrich)* dan *holotrich* protozoa. Pengamatan populasi protozoa dilakukan dengan berbagai macam metode baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang dipusatkan pada keragaman silia pada protozoa yang bertujuan untuk mengetahui peran sebenarnya dari protozoa dalam rumen untuk keuntungan ternak inang (Yanuartono, dkk. 2019). Identifikasi jenis protozoa dalam cairan rumen dilakukan oleh Gogoi, Rajamanickam dan Leela (2018) menunjukkan bahwa identifikasi protozoa rumen dari ternak menunjukkan genera sebagai berikut; Isotrica, Epidinium, Entodinium, subfamily Diplodiniinae dengan genera Diplodiniumn Eudiplodinium. Subfamili: Diplodiniinae (Gambar 4), Genus: Eudiplodinium, ciri-ciri; area silia di ujung anterior sel dan zona sekunder silia

(silia dorsal). Bentuk tubuh bulat telur menjadi segitiga, dua vakuola kontraktil yang terletak di sisi kiri makronukleus, mempunyai tulang belakang kaudal di sisi kanan tubuh, makronukleus berbentuk pengait hingga berbentuk batang, terdapat sitoprok. Mempunyai panjang  $55,37 \pm 5,90 \mu\text{m}$  dan lebar  $30,85 \pm 8,27 \mu\text{m}$ . Subfamily: Diplodiniinae, genus: Diplodinium. Ciri-ciri; area silia di ujung anterior sel dan zona sekunder silia (dorsal cilia) terletak sejajar dengan bidang vertical yang terjadi di ujung anterior sel dengan bentuk tubuh hampir persigi. Mempunyai Panjang  $36,93 \pm 2,89 \mu\text{m}$  dan lebar  $25,05 \pm 4,32 \mu\text{m}$ . (Gambar a). Genus: Entodinium, mempunyai ciri-ciri; mempunyai satu area silia di sekitar rongga mulut, adanya ekor di ujung posterior, posisi makronukleus terletak di antara mikronukleus dan sisi tubuh terdekat. Mempunyai Panjang  $36,67 \mu\text{m}$  dan lebar  $20,56 \mu\text{m}$ . (Gambar b). Genus Epidinium, mempunyai ciri-ciri: adanya silia di ujung anterior sel dan zona sekunder silia (silia dorsal) sebagai pita pendek yang terletak di posterior sel, tubuhnya ramping dan mendekati silindris, dua vakuola kontraktil ada di sisi kiri nucleus di sitoplasma. Mempunyai Panjang  $60,37 \mu\text{m}$  dan lebar  $40,85 \mu\text{m}$ . (Gambar c). Genus Isotrika mempunyai ciri-ciri; silia ada di seluruh tubuh, makronukleus berbentuk bola hingga elipsoidal dan mempunyai vakuola kontraktil. Mempunyai Panjang  $122,93 \pm 17,6 \mu\text{m}$  dan lebar  $58,23 \pm 4,9 \mu\text{m}$ . (Gambar d).



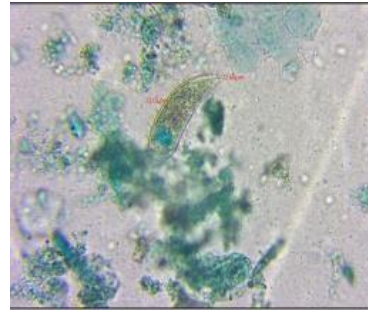
Gambar a. Protozoa Genus:  
Diplodinium.



Gambar b. Protozoa Genus:  
Entodinium.



Gambar c. Protozoa Genus  
Epidinium.



Gambar d. Protozoa Genus  
Isotrika.

Gambar 4. Bentuk Protozoa

Sumber: Gogoi, Rajamanickam dan Leela (2018)

Keberadaan protozoa di dalam rumen dapat mempengaruhi jumlah, jenis bakteri rumen, proporsi dan konsentrasi VFA, pH rumen serta konsentrasi amonia. Selain itu protozoa juga berperan dalam proses pencernaan dan pemecahan materi organik dalam rumen serta protozoa mempunyai dampak yang besar dalam fungsi rumen secara keseluruhan. Salah satu dampak protozoa yang dianggap merugikan adalah sifat protozoa yang menggunakan bakteri dalam rumen sebagai sumber pakannya. Protozoa bersilia dalam rumen memakan bakteri yang menyebabkan peningkatan daur ulang mikroba N dalam rumen dan penurunan suplai asam amino ke usus sebesar 20-28% (Yanuartono, dkk. 2019). Dampak positif yang dilakukan protozoa di dalam rumen adalah sebagai penghasil protein karena mengonsumsi bakteri sehingga menjadi protein protozoa yang lebih mudah dicerna serta memiliki nilai biologis yang lebih tinggi. Protozoa juga berperan dalam proses fermentasi karena mampu untuk mendegradasi komponen utama pakan

(Yanuartono, dkk. 2019). Menurut Gonzales, Burraza, Viveros, and Martines (2014) menyebutkan bahwa jenis protozoa *Eudiplodinium maggii*, *Diploplastron affine*, *Epidinium ecaudatum*, *Diplodinium monacanthum*, *Diplodinium pentacanthum* dan *Enoploplastron triloricaatum* adalah jenis protozoa yang mencerna gula sedangkan protozoa jenis *Entodinium caudatum* dan *Eudiplodinium medium* merupakan protozoa yang menghasikan ammonium dan VFA. Persentase jenis protozoa entodinium 28%, Diplodinium 26%, Epidinium 16%, Isotrica 10%, poliplastron 9%, Ophryoscolex 8%, Dasytrica 3% dan Eudiplodinium 0%(Stefanut. *et al*, 2015).

## **2.7 Produksi Amonia Rumen**

Amonia adalah gas yang diperoleh dari hasil pemecahan senyawa nitrogen atau protein. Amonia dalam cairan rumen dihasilkan dari proses degradasi protein oleh mikroba rumen yang digunakan oleh mikroba untuk sintesa protein mikroba (Abdurachman dan Askar, 2001). Amonia adalah produk akhir dan sumber N utama untuk sintesis protein mikroba. Amonia yang tidak digunakan sebagai protein bakteri akan diserap oleh epitel rumen, memasuki saluran darah dan diangkut ke hati, setelah itu akan dikeluarkan sebagai urea dalam bentuk urine (Reynolds dan Kristensen, 2008)

Produksi amonia rumen bervariasi tergantung pada jumlah protein pakan, laju degradasi protein dan waktu setelah pemberian pakan. Protein pakan yang masuk rumen difermentasi oleh mikroorganisme proteolitik (bakteri dan protozoa). Bakteri dan protozoa menghasilkan enzim proteolitik seperti protease, peptidase dan deaminase untuk mendegradasi protein menjadi asam amino, peptida dan menghasilkan produk akhir berupa amonia (Chuzaeami, 2012). Amonia merupakan produk utama dari proses deaminasi asam amino dan kecukupannya dalam rumen untuk mencukupi sebagian besar N untuk pertumbuhan dan sintesis protein mikroba (Chuzaeami, Soebarinoto, Mashudi dan Ndaru, 2021).

Amonia pada ternak ruminansia sangat penting karena komposisi protein mikroba adalah amonia dan senyawa sumber karbon, semakin tinggi kadar amonia di dalam rumen maka akan makin banyak protein mikroba yang terbentuk sebagai sumber protein tubuh. Konsentrasi nitrogen amonia sebesar 5 mg persen setara dengan 3,57 mM sudah mencukupi kebutuhan nitrogen mikroba (Indriani, Sutardi, dan Suparwi, 2013). Sintesis protein akan maksimal bila disukung dengan produksi amonia dalam rumen sebesar 4-12 mM (Cahyani, Nurwantara, dan Subrata, 2012). Widyobroto, Budhi, dan Agus (2007) menyatakan bahwa sintesis protein mikroba sangat dipengaruhi oleh ketersediaan amonia dan ketersediaan energi hasil fermentasi degradasi karbohidrat yang harus sesuai dengan kecepatan degradasi proteinnya, sehingga akan mempengaruhi sintesis protein mikroba. Ketersediaan amonia sangat dipengaruhi oleh degradasi protein yang kemudian berpengaruh pada jumlah mikroba pencerna protein. Burrough, Trekle and Vetter dalam Karsli, (2001) menyatakan nilai sintesis mikroba adalah 13 dengan rata-rata 7,5 sampai 24,3 pada pakan hijauan dan 17,6 dengan rata-rata 9,1-27,9 pada pakan dengan campuran hijauan dan konsentrat dan 13,2 dengan rata-rata 7 sampai 23,7 g MCP/100 g pada pakan konsentrat. Salah satu cara untuk menstabilkan jumlah amonia di dalam rumen dan jumlah protein yang masuk agar optimum adalah dengan penambahan senyawa tanin pada pakan (Atkinson *et al.*, 2007; Pina *et al.*, 2009).

Penelitian dilakukan oleh Onetti, Shaver dan McGuire (2001) dengan menggunakan pakan silase jagung yang diberi tambahan lemak dengan level dan tipe yang berbeda terhadap sapi perah. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan lemak pada pakan dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Penelitian lain dilakukan oleh Tiven, *et al.*, (2012) dengan menambahkan minyak CPO pada pakan ternak domba. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan lemak pada pakan dapat

menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Hal tersebut disebabkan karena lemak menyelimuti pakan sehingga mikroba rumen memiliki kontak yang minimal dengan pakan tersebut.

Penelitian dilakukan oleh Bhatta *et al.*, (2009) dengan menambahkan kondensasi tanin pada pakan ternak. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa pakan dengan penambahan kondensasi tanin dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Hasil tersebut sejalan dengan penelitian lain dilakukan oleh Ningrat *et al.*, (2016) dengan membandingkan sumber tanin yang berbeda yaitu daun gambir Payakumbuh dan daun gambir Painan secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan tanin pada pakan menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Penelitian serupa dilakukan oleh Prayitno, Wahyono dan Pangestu (2018) dengan menggunakan hijauan leguminosa yang berbeda secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menyatakan penambahan leguminosa berbeda dapat menurunkan kandungan  $\text{NH}_3$  pada pakan ternak.

## **BAB III**

### **KERANGKA KONSEP DAN PENELITIAN**

#### **2.1 Kerangka Pikir Penelitian**

Pakan ternak adalah makanan yang diberikan pada ternak untuk memenuhi kebutuhan produksi dan reproduksi. Bahan pakan yang sangat penting bagi ternak ruminansia adalah hijauan. Hijauan yang sering diberikan oleh peternak adalah rumput gajah, rumput benggala, rumput lapang dan tebon jagung. Selain dari hijauan pakan tersebut ada sumber hijauan lain yang lebih murah yaitu berupa limbah pertanian seperti jerami jagung. Jerami jagung adalah tanaman jagung yang sudah diambil tongkol jagungnya sehingga menyisakan batang dan daunnya (Bahar, 2016). Jerami jagung ini melimpah pada daerah yang merupakan sentra tanaman jagung yang ditujukan untuk pakan ternak. Pemberian jerami jagung saja belum bisa mencukupi kebutuhan nutrisi ternak, sehingga perlu diberikan pakan penguat yaitu konsentrat. Perkembangan teknologi memungkinkan efektifitas pertumbuhan ternak sapi pedaging melalui aplikasi pakan lengkap dengan menggunakan hijauan yang ditambahkan dengan pakan penguat yang dinamakan pakan lengkap.

Pakan lengkap merupakan campuran kuantitatif dari semua bahan pakan yang dicampur secara menyeluruh untuk mencegah terjadinya pemisahan dan seleksi pakan. Pakan lengkap digunakan sebagai satu-satunya sumber nutrisi kecuali air dan diformulasikan dalam proporsi yang diinginkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Tingkat persentase konsentrat dan serat dapat bervariasi sesuai dengan kebutuhan nutrisi ternak untuk tujuan produksi yang berbeda (Beigh, Ganai dan Ahmad, 2017). Keuntungan pemberian pakan lengkap ini adalah lebih praktis dalam pemberian pada ternak serta dapat meningkatkan palatabilitas ternak.



Jerami jagung atau brangkasan adalah bagian batang dan daun jagung yang telah dipanen jagungnya dan dibiarkan mengering di lahan (Umiyasih, dan Wina, 2008). Jerami jagung mempunyai kandungan nutrisi yaitu BK (39,8%), PK (5,5%), LK (0,9%), SK (28,1%) dan Abu (10,6%) (Buharman, 2011). Mizeck *et al.*, (2010) menyatakan pakan yang mempunyai kandungan serat tinggi akan mempunyai produksi gas metan yang tinggi pula.

Peternakan terutama ternak ruminansia dinyatakan sebagai salah satu penyumbang gas metan terbesar karena mempunyai sistem fermentasi yang dibantu oleh mikroorganisme di dalam saluran pencernaanya untuk merubah karbohidrat menjadi struktur yang lebihkecil sehingga mampu dimanfaatkan oleh tubuh inang. Gas metan yang dikeluarkan oleh ternak dipengaruhi oleh laju pencernaan, umur, bobot badan dan kualitas dan kuantitas pakan yang dikonsumsi (Anonim, 2006). Berbagai macam penelitian dilakukan untuk mengurangi emisi gas methane pada ruminansia yaitu dengan cara pengolahan pakan yang baik serta meningkatkan kualitas pakan yang dikonsumsi ternak. Pengolahan pakan yang biasa digunakan adalah dengan penambahan bahan seperti tanin untuk menekan gas yang dihasilkan di dalam rumen serta meningkatkan pencernaan pada ternak (Jayanegara, *et al* 2009).

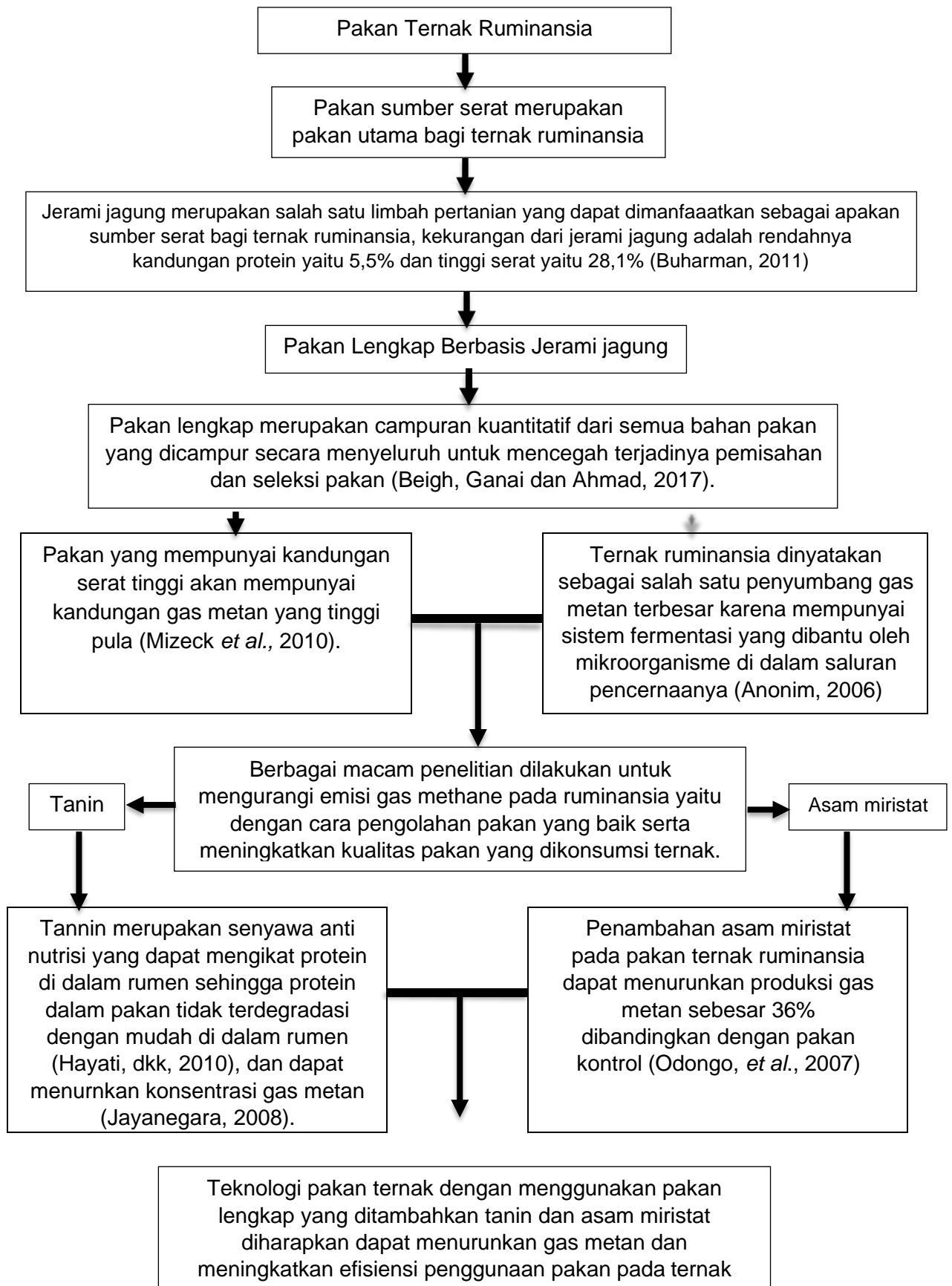
Tannin merupakan senyawa anti nutrisi yang dapat mengikat protein di dalam rumen sehingga protein dalam pakan tidak terdegradasi dengan mudah di dalam rumen (Hayati, Fasyah dan Sa'adah, 2010). Penambahan tanin dalam pakan dapat menurunkan konsentrasi gas metan (Jayanegara, 2008). Kaliandra merupakan tanaman pakan yang termasuk golongan leguminosa yang mempunyai kandungan tanin yang tinggi, yaitu 10% (Setyawati, Putra, dan Roni. 2017). Fungsi tanin yang utama adalah untuk proteksi protein dari degradasi di dalam rumen

sehingga menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  di dalam rumen.

Asam miristat adalah asam lemak jenuh dengan rumus molekul  $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$  (Carl, 2009 dalam Hartono dan Silitonga, 2018). Asam miristat bersifat hidrofobik yang larut pada alcohol/eter dan memiliki kelarutan yang kecil dalam air (Cahyono, 2010 dalam Hartono dan Silitonga, 2018). Menurut Odongo, *et al.* (2007) menyatakan penambahan asam miristat pada pakan dapat menurunkan produksi gas metan pada ternak ruminasia. Penambahan asam miristat pada pakan dapat menurunkan produksi gas metan sebesar 36% (608,2 L/d pada pakan kontrol dan  $390,6 \pm 56,46$  L/d). Penelitian dilakukan oleh Muchlas, Chuzaeami dan Mashudi (2020) dengan menggunakan pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan tanin yang berasal dari tepung mimosa dan asam miristat yang menunjukkan dapat menurunkan total produksi gas dan dapat menurunkan konsentrasi gas metan.

Berdasarkan pemaparan diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan asam miristat dan tanin yang berasal dari tepung daun kaliandra pada pakan lengkap terhadap konsentrasi gas metan dan produk fermentasi di dalam rumen secara *in vitro* produksi gas.

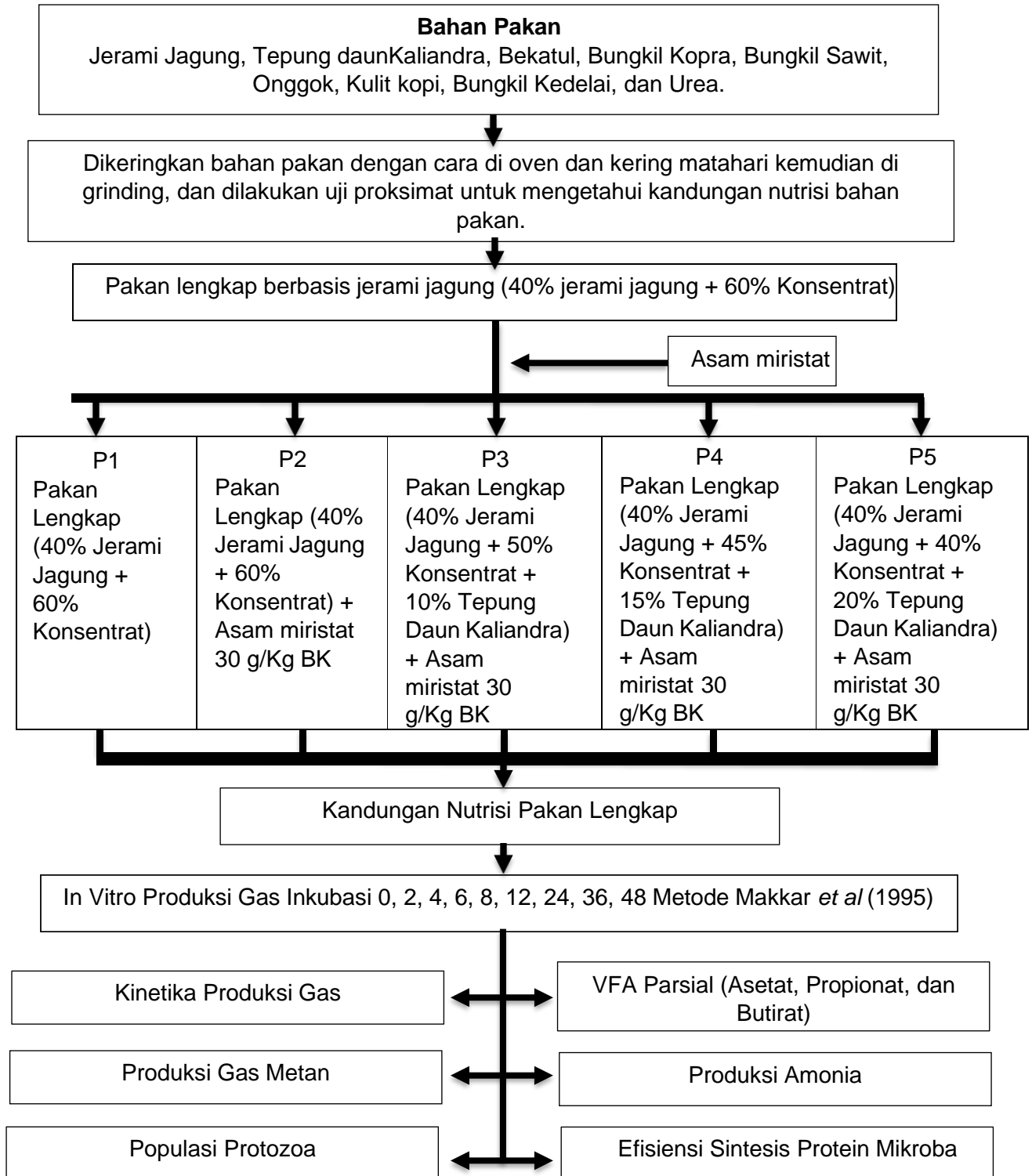
## 2.2 Skema Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 5. Kerangka Konsep Penelitian

### 2.3 Kerangka Operasional Penelitian

Tahapan penelitian digambarkan dalam diagram alir pada Gambar 6.



Gambar 6. Bagan Alur Penelitian

## **2.4 Hipotesis**

1. Penambahan asam miristat dan tepung kaliandra pada pakan lengkap berbasis jerami jagung berpengaruh terhadap kandungan nutrisi pakan, konsentrasi gas metan dan produk fermentasi di dalam rumen secara *in vitro*.

## BAB IV

### MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 4.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2020 sampai Desember 2020 di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas, Peternakan Universitas Brawijaya. Pengambilan data yang dilakukan terbagi menjadi beberapa lokasi laboratorium, yaitu: Perhitungan kandungan nutrisi pakan dengan analisa proksimat (AOAC, 1995) dan analisa kandungan NDF dan ADF dengan petunjuk Van Soest (1994), produksi gas total (Makkar, *et al.* 1995), konsentrasi NH<sub>3</sub> (Conway, 1957) dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) (Blummel, *et al.* 1997), dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya; perhitungan populasi protozoa (Ogimoto *et al.*, 1981) dilakukan di Laboratorium Epidemiologi Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya; analisis konsentrasi gas metan (Soplowati dkk, 2013) dilakukan di Balai Penelitian Lingkungan Pertanian di Pati Jawa Tengah; pengukuran kadar VFA cairan rumen (Bachrudin, 1996) dilakukan di Pusat studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Analisa kandungan tanin dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Analisa kandungan kondensasi tanin dilakukan di BPPT Ciawi, Bogor.

## 4.2 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari;

### 4.2.1. Bahan

1. Bahan pakan perlakuan yang terdiri dari kulit kopi, bekatul, onggok, bungkil kedelai, bungkil sawit, bungkil kopra, urea, molases, jerami jagung dan tepiung daun kaliandra di dapatkan dari toko peternakan di daerah Malang
2. Daun Kaliandra di dapatkan di daerah Tulungagung, Jawa Timur. Uji kandungan tanin dilakukan di LPPT Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
3. Asam lemak yang digunakan didapat dari CV. Cipta Anugrah Bakti Mandiri, Banyuwangi dengan kandungan *asam miristat* sebesar 99,7%, asam laurat 0,1%, asam palmitat 0,1% dan senyawa lain 0,1%.
4. Bahan kimia untuk analisis proksimat meliputi katalisator,  $H_2SO_4$ , NaOH, EDTA, *acetone*, aquades.
5. Bahan kimia untuk analisis Acid detergent Fiber (ADF) meliputi: Larutan ADF dan acetone
6. Bahan kimia untuk analisis Neutral Detergent Fiber (NDF) meliputi: Larutan NDF dan acetone
7. Bahan kimia untuk analisa produksi gas meliputi:  
 $Na_2HPO_4$ ,  $KH_2HPO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , NaCl, aquades,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ ,  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ,  $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ ,  $NaHCO_3$ ,  $NH_4HCO_3$ , resazurin, NaOH 1 N,  $Na_2S \cdot 7H_2O$ .
8. Bahan kimia untuk analisis konsentrasi amonia ( $NH_3$ ) meliputi: supernatan, vaselin,  $H_2SO_4$  pekat, larutan  $H_3BO_3$  4% berindikator metil merah dan brom kresol hijau,  $Na_2CO_3$  jenuh dan  $H_2SO_4$  0,005 N.
9. Bahan kimia untuk analisis total tanin meliputi: diethyl ether, aquades, reagen folin ciocalteu, natrium karbonat.

10. Bahan kimia untuk analisis tanin kondensasi meliputi: reagen butanol-HCL, reagen ferric, aceton, reagen besi.

#### **4.2.2. Alat**

1. Peralatan untuk persiapan sampel bahan pakan meliputi: timbangan analitik, plastik klip, spidol, oven, toples.
2. Peralatan untuk analisa proksimat, ADF, NDF, produksi gas dan ESPM meliputi timbangan analitik, piston, *syringe*, selang berklip, termos, gelas ukur, kain penyaring, pipet tetes, tabung *erlenmayer*, termometer, pemanas, tabung CO<sub>2</sub>, *magnetic stirrer*, dispenser, inkubator, cawan, tabung fermentor, oven, tanur dan eksikator.
3. Peralatan untuk analisa konsentrasi amonia meliputi: cawan Conway, pipet ukur dan buret.
4. Peralatan untuk analisa konsentrasi gas metan meliputi: kromatografi gas (GC) dan infrared gas analyzer (IrGA)
5. Peralatan untuk analisa total tanin dan kondensasi tanin meliputi: saringan, kompor, spektrofotometri.

#### **4.2.3. Persentase Pakan Perlakuan**

Pakan perlakuan yang terdiri dari kulit kopi, bekatul, onggok, bungkil kedelai, bungkil sawit, bungkil kopra, urea, molases, jerami jagung dan tepiung daun kaliandra diformulasikan dengan menggunakan *microsoft excel* disusun iso protein dengan kandungan protein kasar (PK) 14-15%.



Tabel 3. Persentase Bahan Pakan Perlakuan

Bahan Baku	Perlakuan (%)				
	P1	P2	P3	P4	P5
Kulit kopi	17	17	17	17	17
Bekatul	20	20	18	18	16
Onggok	10	10	10	10	10
Bungkil Kedelai	21,67	21,67	19	18	17
Bungkil Sawit	13,33	13,33	10	8	7
Bungkil Kopra	12	12	10	8	7
Urea	1	1	1	1	1
Molases	5	5	5	5	5
Tepung Kaliandra	0	0	10	15	20
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
Asam miristat (g/kg BK)	0	30	30	30	30
Jerami Jagung	40	40	40	40	40

Tabel 4. Perhitungan Kandungan Nutrien Konsentrat

Kandungan Nutrien -	Perlakuan (%)				
	P1	P2	P3	P4	P5
BK	92,61	92,61	92,58	92,51	92,54
BO	89,78	89,78	89,81	89,77	89,85
PK	21,45	21,45	21,38	21,33	21,45
LK	5,08	5,08	4,76	4,68	4,47
SK	18,22	18,22	17,87	17,58	17,39

Tabel 5. Perhitungan Kandungan Nutrien Pakan Perlakuan

Kandungan Nutrien -	Perlakuan (%)				
	P1	P2	P3	P4	P5
BK	88,48	88,48	88,46	88,43	88,44
BO	90,03	90,03	90,05	90,02	90,07
PK	15,21	15,21	15,17	15,14	15,21
LK	3,34	3,34	3,14	3,10	2,97
SK	27,53	27,53	27,32	27,14	27,03

### 4.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen di laboratorium dengan menggunakan pakan lengkap yang dibuat dari jerami jagung sebagai sumber serat dengan penambahan konsentrat yang dibuat sendiri dengan bahan yang terdiri dari kulit kopi, bekatul, onggok, bungkil kedelai, bungkil sawit, bungkil kopra, urea dan molases yang kemudian ditambahkan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin serta asam miristat yang dievaluasi dengan metode *in vitro* produksi gas. Pakan lengkap diukur produksinya dengan menggunakan cairan rumen sebagai sumber inoculum dengan menggunakan metode Makkar *etal.*, (1995). Volume gas dicatat dengan interval inkubasi 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48 jam. persiapan sampel bahan pakan penyusun pakan lengkap dipotong-potong kemudian dioven dengan suhu 60°C selama 48 jam, kemudian bahan pakan digiling dengan ukuran 1 mm dan bahan pakan dicampur sesuai dengan perlakuan. Daun kaliandra dioven berbeda yaitu pada suhu 40°C selama 3 hari. Perlakuan pakan didasarkan pada isoprotein pakan dan penambahan tepung kaliandra dan asam miristat.

P1 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + 60% Konsentrat)

P2 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (60% Konsentrat+ 0% Tepung Daun Kaliandra)) + Asam miristat 30 g/Kg BK

P3 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (50% Konsentrat+ 10% Tepung Daun Kaliandra)) + Asam miristat 30 g/Kg BK

P4 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (45% Konsentrat+ 15% Tepung Daun Kaliandra)) + Asam miristat 30 g/Kg BK

P5 = Pakan Lengkap (40% Jerami Jagung + (40% Konsentrat+ 20% Tepung Daun Kaliandra)) + Asam miristat 30 g/Kg BK

Pakan lengkap berbasis jerami jagung disusun berdasarkan kebutuhan ternak ruminansia dengan protein berkisar 14-15% (NRC, 1996) dengan komposisi jerami jagung sebanyak 40% dan konsentrat 60% berdasarkan BK. Cairan rumen didapatkan dari sapi yang baru dipotong di PD. Rumah Potong Hewan (RPH) kota Malang yang berada di Jalan Kolonel Sugiono No. 176 Malang. Cairan rumen diambil dengan menggunakan termos yang sebelumnya telah diisi air hangan bersuhu 40°C, kemudian Ketika akan dimasukkan cairan rumen ke dalam termos air hangat dibuang dan cairan rumen diperas dengan kain saring sampai 2 perasan. Setelah itu dikocok-kocok cairan rumen yang ada di dalam termos kemudian dibuang. Tujuan dilakukan hal tersebut adalah untuk menyamakan suhu termos dengan cairan rumen yang kana diambil. Setelah dibuang dimasukkan cairan rumen dan sedikit digesta rumen kedalam termos agar mikroba di dalam rumen bisa bertahan lama didalam termos dengan adanya digesta yang dimasukkan kedalam termos. Termos yang telah berisi cairan rumen dibawa ke laboratorium untuk kepentingan analisi yaitu digunakan sebagai inoculum.

#### **4.4 Variabel Penelitian**

Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi:

- 1. Kandungan nutrisi pakan lengkap (BK, BO, PK, SK, LK, dan abu) (AOAC, 1995) dan NDF dan ADF (Van Soest, 1994)**

## 2. Produksi gas secara *in vitro* (Makkar, et al., 1995)

Perhitungan produksi gas pada setiap periode inkubasi dihitung dengan

rumus:

$$\text{Produksi gas (ml/500 mg BK)} = \{(V_t - V_o) - V_b\} \times \text{FK}$$

Keterangan:

$V_t - V_o$  = Pertambahan volume gas

V blanko = Volume blanko

FK = Faktor koreksi

## 3. Nilai potensial gas dan laju produksi gas (Oskov and Mc. Donald, 1979)

Produksi gas secara *in vitro* yang meliputi total produksi gas, laju produksi gas (nilai c), produksi gas dari fraksi yang tidak mudah larut namun dapat difermentasikan (nilai b). Nilai produksi gas ditentukan dengan persamaan menurut Oskov dan Mc. Donald (1979) sebagai berikut:

$$Y = b (1 - e^{-ct})$$

Keterangan:

Y = Produksi gas pada saat t jam (ml/500mg BK)

b = Potensi produksi gas (ml/500mg BK)

c = Laju produksi gas (ml/jam)

t = Waktu inkubasi (jam)

e = Eksponensial

**4. Populasi Protozoa dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam (Ogimoto *et al.*, 1981)**

Populasi protozoa dapat dihitung dengan rumus;

$$\text{Protozoa/ml cairan rumen} = C \times \text{FP}$$

Keterangan:

C = Jumlah protozoa terhitung dalam counting chamber

FP = Faktor pengencer cairan rumen dengan formal saline

**5. Konsentrasi Gas Metan dari Inkubasi Produksi Gas Inkubasi 48 Jam (Sopiawati *dkk dan Andriany*, 2013)**

Pengujian gas metan dilakukan dengan Flame Ionization Detector (FID). Hasil tersebut dapat dihitung dalam bentuk fluks atau emisi dengan menggunakan rumus perhitungan:

$$F = \frac{dc}{dt} \times \frac{V_{ch}}{A_{ch}} \times \frac{mW}{mV} \times \frac{273,2}{(273,2+T)}$$

Keterangan:

F = Fluks gas CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (mg/m<sup>2</sup>/menit)

Dc/dt = Perbedaan konsentrasi CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O per waktu (ppm/menit)

V<sub>ch</sub> = Volume Boks (m<sup>3</sup>)

A<sub>ch</sub> = Luas Boks (m<sup>2</sup>)

mW = Berat Molekul CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (g)

mV = Volume Molekl CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (22,41 l)

T = Temperatur rata-rata selama pengambilan contoh gas (°C)

**6. Konsentrasi VFA Parsial (Asetat, Propionat, Butirat) dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48 Jam (Bachrudin, 1996)**

Analisa VFA parsial dilakukan dengan menggunakan gas kromatografi (GC), VFA parsial supernatant dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{VFA parsial} = \frac{\text{Luas sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{Konsentrasi}$$

Keterangan:

BM = Bobot molekul dari asetat, propionate dan butirat

**7. Estimasi Produksi Gas Metan dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48 Jam (Moss *et al.*, 2000)**

Salah satu model mekanistik statis untuk mengestimasi emisi gas metan adalah melalui model stoikiometri berdasarkan Hegaty dan Nolan (2007) dan Moss *et al.*, (2000). Menurut Hegaty dan Nolan (2007) komposisi VFA dapat digunakan untuk memprediksi produksi metan melalui persamaan stoikiometri berikut;

$$\text{CH}_4 \text{ (mM)} = 0,45 \text{ C}_2 - 0,275 \text{ C}_3 + 0,40 \text{ C}_4$$

Keterangan:

C2 = Asam Asetat (mM)

C3 = Asam Propionat (mM)

C4 = Asam Butirat (mM)

**8. Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48Jam**

Perhitungan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) rumen dapat dilakukan dengan menggunakan persamaan menurut Blummel *et al.*, (1997), sebagai berikut:

Biomassa mikroba (mg) =

Berat BK residu *Apparent undegradability* – berat BK residu *true undegradability*

ESPM (g N/Kg BOTR) =

Biomassa mikroba (gr) × N Mikroba × 1000/BOTR

## 9. Analisis Kadar NH<sub>3</sub> dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48 jam

Pengukuran NH<sub>3</sub> dilakukan dengan menggunakan Metode Mikrodifusi

Conway (1957), perhitungan NH<sub>3</sub> sebagai berikut:

$$\text{Kadar NH}_3 \text{ mM cairan rumen} = \frac{\text{ml H}_2\text{SO}_4 \times n \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{ml Sampel} \times \text{BK sampel}\%} \times 100$$

Keterangan :

ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = Titrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = Normalitas H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

ml Sampel = Banyaknya sampel yang digunakan

### 4.5 Analisis Statistik

Data yang diperoleh ditabulasi dengan *microsoft excel*, selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam dari Rancangan acak Kelompok (RAK), apabila terdapat perbedaan antar perlakuan yang diuji maka dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1991). Adapun model statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y<sub>ij</sub> = Nilai pengamatan pada perlakuan ke-<sub>i</sub> kelompok ke-<sub>j</sub>

μ = Nilai rata-rata (*mean*)

τ<sub>i</sub> = Pengaruh perlakuan ke-<sub>i</sub>

β<sub>j</sub> = Pengaruh pada kelompok ke-

- $\epsilon_{ij}$  = Galat percobaan pada perlakuan ke- $i$  kelompok ke- $j$
- $i$  = 1, 2, 3.... t (perlakuan)
- $j$  = 1, 2, 3.... r (kelompok)

#### 4.6 Batasan Istilah

- Jerami jagung: Jerami jagung merupakan tanaman jagung yang sudah diambil tongkol jagungnya sehingga menyisakan batang dan daunnya (Bahar, 2016).
- Pakan lengkap: Pakan lengkap merupakan campuran kuantitatif dari semua bahan pakan yang dicampur secara menyeluruh untuk mencegah terjadinya pemisahan dan seleksi pakan. Pakan lengkap digunakan sebagai satu-satunya sumber nutrisi kecuali air dan diformulasikan dalam proporsi yang diinginkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Tingkat persentase konsentrat dan serat dapat bervariasi sesuai dengan kebutuhan nutrisi ternak untuk tujuan produksi yang berbeda (Beigh, Ganai dan Ahmad, 2017).
- Tanin: Tannin merupakan senyawa anti nutrisi yang dapat mengikat protein di dalam rumen sehingga protein dalam pakan tidak terdegradasi dengan mudah di dalam rumen (Hayati, Fasyah dan Sa'adah, 2010).
- Asam miristat: Asam miristat adalah asam lemak jenuh dengan rumus molekul  $C_{14}H_{28}O_2$  (Carl, 2009 dalam Hartono dan Silitonga, 2018). Asam miristat bersifat hidrofobik yang larut pada alkohol/eter dan memiliki kelarutan yang kecil dalam air (Cahyono, 2010 dalam Hartono dan Silitonga, 2018). Asam miristat dalam penelitian ini berbentuk butiran.
- *In Vitro* produksi gas: Produksi gas diukur dengan menggunakan cairan rumen sebagai sumber inoculum dengan mengikuti metode Makkar *et al.*, (1995).



## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

#### **5.1 Kandungan Nutrisi Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung**

Hasil analisis kandungan nutrisi bahan pakan perlakuan dan hasil analisis kandungan tanin total daun kaliandra dapat dilihat pada Tabel 6. Bahan pakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kopi, bekatul, onggok, bungkil kedelai, bungkil sawit, bungkil kopra, urea, molases jerami jagung dan tepung daun kaliandra. Persentase pakan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 7. Pada Tabel 6 persentase dari bekatul, bungkil kedelai, bungkil sawit dan bungkil kopra dikurangi pada P3-P5. Pengurangan persentase bahan pakan tersebut sejalan dengan penambahan tepung daun kaliandra. Pengurangan persentase bahan pakan tersebut karena kaliandra mempunyai kandungan protein yang tinggi dan diharapkan dapat menggantikan protein yang hilang dari pakan dengan pengurangan bahan pakan sumber protein tersebut. Asam miristat yang digunakan dalam penelitian ini mengandung 99.7% asam miristat, 0,1% asam laurat dan asam palmitat dan 0,1% senyawa lain.

Kandungan tanin pada tepung daun kaliandra dapat dilihat pada Tabel 6. Kandungan tanin pada sampel tepung daun kaliandra yang digunakan adalah 8,86% dengan kandungan konden tanin yang terdapat pada tepung daun kaliandra adalah 0,46%. Hasil kandungan tanin kaliandra ini lebih sedikit dari pada yang didapatkan oleh Setyawati, Putra, dan Roni (2017) yaitu 10%. Menurut Widarta dan Wiadnyani (2019) pengeringan dan tingkat ketuaan daun dapat mempengaruhi kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada suatu bahan. Menurut Katno, Kusumadewi dan Sutjipto (2005) menyatakan lama waktu pengeringan dapat mempengaruhi kadar tanin dalam bahan dengan waktu pengeringan terbaik yang didapatkan adalah 8 jam.

Tabel 6. Kandungan Nutrien Bahan Pakan dan Kandungan Tanin Daun Kaliandra

Bahan Baku	BK	BO*	Abu*	PK*	SK*	LK*	Tanin (%)	K. Tanin (%)
Kulit Kopi	94,14	89,42	10,58	10,11	34,00	1,50	-	-
Bekatul	90,63	87,40	12,60	10,15	16,20	13,00	-	-
Onggok	92,59	82,87	17,13	1,76	25,39	0,44	-	-
Bungkil Kedelai	93,53	91,62	8,38	47,53	4,04	2,57	-	-
Bungkil Sawit	95,39	94,97	5,03	14,24	20,91	10,01	-	-
Bungkil Kopra	95,69	92,23	7,77	22,12	21,78	2,45	-	-
Urea	99,88	99,93	0,07	244,60	-	-	-	-
Molases	78,47	84,57	15,43	4,55	9,81	-	-	-
Jerami Jagung	94,46	89,83	10,17	5,13	36,43	0,63	-	-
Tepung Daun Kaliandra	93,67	92,37	7,63	23,16	12,08	3,90	8,86	0,46

Keterangan: - \* Berdasarkan 100%BK

- Hasil Analisa di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya (2020).
- Analisa kandungan tanin dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta (2020)
- Analisa kandungan kondensasi tanin (K. tanin) dilakukan di BPPT Ciawi, Bogor (2021).

Tabel 7. Kandungan Nutrien Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung

Perlakuan	BK (%)	BO (%)	Abu (%)	PK (%)	SK (%)	LK (%)	NDF (%)	ADF (%)
P1	92,54	93,38	6,58	15,41	17,24	3,62	37,65	20,97
P2	93,64	93,07	6,91	15,66	19,17	3,72	41,39	23,10
P3	93,12	93,15	6,85	14,36	19,99	3,62	42,67	20,30
P4	92,61	93,34	6,66	15,96	19,97	2,89	40,21	20,05
P5	92,72	93,28	6,72	15,04	19,64	3,25	41,29	24,01

Keterangan: Hasil analisa di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya (2020)

Kandungan nutrien pakan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 7. Kandungan nutrient dalam pakan penelitian disusun iso protein dengankandungan PK 14-15% (NRC, 2000) sesuai dengan kebutuhan nutrisi ternak sapi pedaging. Penambahan tepung daun kaliandra mampu meningkatkan protein pakan yang persentase bahan pakan sumber proteinnya dikurangi. Hal tersebut karena kaliandra mempunyai kandungan protein yang tinggi yaitu 23,16%. Penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat pada pakan dapat mempengaruhi kandungan

nutrisi pada pakan. Kandungan tanin total pada tepung kaliandra adalah 8,86% dengan kandungan tanin kondensasi 0,46%. Kandungan tanin kondensasi dalam pakan lengkap berdasarkan kandungan tanin kaliandra adalah 0,02 - 0,05% BK.

Penambahan tapung daun kaliandra dalam pakan lengkap berbasis jerami jagung mempengaruhi kandungan serat kasar (SK) dalam pakan perlakuan. Pada pakan perlakuan kandungan SK memiliki nilai 17,24-19,99%. Perbedaan nilai SK dikarenakan adanya penambahan serat kasar dari daun kaliandra yang ditambahkan pada pakan lengkap. Penelitian dilakukan oleh Permana, dkk (2014) menggunakan level serat kasar yang berbeda (12, 17 dan 22% BK) yang diberikan pada sapi peranakan ongole dengan mengukur konsumsi, pencernaan dan VFA. Hasil penelitian tersebut menunjukkan perbedaan serat kasar yang diberikan pada ternak mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap konsumsi dan pencernaan BK, BO, PK dan SK sedangkan perbedaan rasio C<sub>2</sub>/C<sub>3</sub> cairan rumen tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Pamungkas dkk., (2013) menyatakan rendahnya kandungan SK akan memudahkan penetrasi mikroba rumen (bakteri, protozoa dan jamur) untuk mencerna nutrient pakan. Fitriani (2017) menyatakan kandungan serat kasar yang tinggi dalam pakan lengkap akan menurunkan daya koefisien cerna dalam pakan tersebut, karena serat kasar mengandung bagian yang sukar untuk dicerna. Selain itu, serat yang dikonsumsi oleh ternak ruminansia tidak digunakan secara keseluruhan, sekitar 20-79% dari serat yang dikonsumsi ditemukan dalam fases. Penelitian lain dilakukan oleh Gustiani dan Permadi (2015) menggunakan pakan lengkap berbasis tongkol jagung dengan kombinasi leguminosa sebanyak 17%. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan hasil analisa SK pada pakan lengkap berbeda dari pakan yang diberikan tunggal yaitu tongkol jagung. Teknologi pakan lengkap ini juga dapat meningkatkan nilai protein dalam pakan. Pada penelitian tersebut dijelaskan bahwa pemberian pakan lengkap pada ternak sapi PO dapat meningkatkan pertambahan bobot badan ternak sehingga lebih menguntungkan

bagi peternak.

Kandungan lemak kasar (LK) pada pakan perlakuan hampir tidak berbeda jika dibandingkan pakan kontrol tanpa penambahan asam miristat. Hasil dari penambahan asam miristat tanpa penggunaan tepung daun kaliandra pada P2 menunjukkan peningkatan tetapi tidak signifikan terhadap kandungan LK pada bahan pakan dibandingkan dengan kontrol. Pada P3-P5 dengan penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat cenderung menurun tetapi tidak signifikan dibandingkan dengan pakan kontrol. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Muchlas, Chuzaemi dan Mashudi (2020) dengan menggunakan pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan asam miristat dengan level 20 30 dan 40 g/Kg BK dan tanin yang berasal dari serbuk mimosa. Pada penelitian ini dengan penambahan asam miristat dengan level 20 30 dan 40 g/Kg BK mempengaruhi LK pada pakan kandungan LK antara 2,94%-7,12%.

Kadar lemak yang terlalu tinggi pada pakan (diatas 5%) akan berpengaruh negative pada pencernaan serat di dalam rumen (Wina dan Susana, 2013). Menurut Palmquist dan Jenkins (1980) alasan lemak dapat menimbulkan efek negative adalah 1) lemak akan menyelubungi serat pakan sehingga mikroba rumen tidak mampu mendegradasi serat tersebut. 2) lemak PUFA (lemak tidak jenuh majemuk) bersifat toksik terhadap bakteri rumen tertentu sehingga terjadi perubahan populasi mikroba di dalam rumen. 3) asam lemak dapat mempengaruhi membran sel sehingga menghambat aktivitas mikroba rumen. 4) asam lemak rantai panjang akan membentuk ikatan kompleks dengan kation- kation sehingga ketersediaan kation dalam rumen berkurang yang berakibat pada kondisi pH rumen dan kebutuhan mikroba akan kation tersebut. Harvatine dan Allen (2005) menyatakan suplementasi lemak pada pakan dapat menurunkan pencernaan karbohidrat terutama pencernaan serat, besar kecilnya pengaruh lemak tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu 1) jumlah lemak yang ditambahkan dalam pakan.

Semakin tinggi lemak maka akan semakin besar pengaruhnya dalam menekan pencernaan serat. 2) jenis pakan (hijauan atau konsentrat) yang diberikan pada ternak. 3) jenis lemak yang diberikan. Semakin tinggi kandungan lemak jenuh, maka akan semakin besar pengaruh negative terhadap populasi bakteri pemecah serat. Anggorodi (1984) dalam Thariq (2017) menyatakan kandungan lemak dalam ransum menentukan jumlah lemak yang akan diserap, sedangkan di dalam saluran pencernaan, bakteri yang berperan dalam pencernaan lemak adalah bakteri lipolitik. Polli, Waani dan Pendong (2020) menyatakan kecenderungan suatu pencernaan bahan pakan ditunjukkan oleh komposisi kimia pakan. Bahan pakan dengan kandungan lemak tinggi akan mempunyai pencernaan yang rendah.

Kandungan protein dalam penelitian ini disusun isoprotein dengan kandungan 14-15%. Penyusunan protein pakan ini disesuaikan berdasarkan NRC (1996), yaitu pakan sapi pedaging untuk penggemukan sebesar 14-15%. Hasil penelitian menunjukkan kandungan protein sudah sesuai dengan kebutuhan ternak untuk memenuhi kebutuhan produksi dan reproduksi. Kandungan protein yang sesuai akan membuat pertumbuhan mikroba rumen akan optimal sehingga penyerapan bahan pakan akan lebih baik (Sukmawan, dkk, 2009). Kelebihan pemberian protein pada ternak akan membuat kerugian ekonomis yang besar karena harga ransum yang mahal. Kekurangan protein pada ternak memiliki efek negative pada perkembangan ternak dan menekan mikroba rumen yang bermanfaat untuk mencerna serat pada ternak (Mc Donald, Edwards and Greenhalgh, 1988 dalam Sukmawan, dkk, 2009). Penelitian dilakukan oleh Muchlas, Chuzaemi dan Mashudi (2020) dengan menggunakan jerami jagung yang ditambahkan condensin tanin yang berasal dari serbuk mimosa dan asam mirisat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan nilai protein sekitar 13-16%.

Pada pakan lengkap selain kandungan protein yang harus memenuhi kebutuhan ternak kandungan NDF dan ADF juga merupakan faktor yang penting. Hasil dari penelitian ini kandungan NDF pada pakan untuk P1 memiliki nilai paling

rendah yaitu 37,65% dan nilai paling tinggi pada P3 yaitu 42,67%. Pada nilai ADF pada pakan P4 memiliki nilai paling kecil yaitu 20,05% dan nilai paling tinggi pada perlakuan P5 yaitu 24,01%. Penelitian dilakukan oleh Karim (2014) dengan menggunakan pakan komplit berbasis jerami padi yang ditambahkan murbei dengan level yang berbeda. Hasil pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa penambahan murbei pada pakan tidak berpengaruh pada kandungan NDF dan ADF. Pada penelitian tersebut kandungan NDF yaitu 50-58% dan ADF 40-52%. Penelitian lain dilakukan oleh Hasan *et al.*, (2019) dengan menggunakan pakan komplit berbahan local yang memiliki nilai protein berbeda yaitu 9,10 dan 11% pada ternak sapi pedaging. Hasil dari penelitian tersebut menyatakan bahwa kandungan NDF dan ADF pada pakan menurun dengan kisaran 53-60% pada NDF dan 33-40% pada ADF. Stergiadis *et al.* (2014) menyatakan kandungan NDF dan ADF pada pakan dapat menjadi factor pembatas pada tingkat pencernaan pakan di dalam rumen. Kandungan NDF dan ADF pada pakan berkorelasi negative dengan pencernaan nutrient dan besaran energi metabolis. kandungan ADF yang rendah akan berkorelasi dengan tingginya tingkat pencernaan pakan.

## **5.2 Pengaruh Perlakuan Terhadap Produksi Gas dan Kinetika Produksi Gas secara *In Vitro* Gas Pada Pakan Lengkap Berbasis Jerami Jagung**

Parameter produksi gas secara *in vitro* terdiri dari produksi gas (Y), nilai b yang merupakan produksi gas dari fraksi yang tidak terlarut namun dapat difermentasi atau disebut potensi produksi gas, dan nilai c yang merupakan laju produksi gas selama inkubasi. Nilai produksi gas pada inkubasi ke- 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 dan 48 jam dapat dilihat pada Tabel 8. Nilai potensi produksi gas (b) dan laju produksi gas (c) dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 8. Nilai produksi gas pada inkubasi ke- 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 dan 48 jam

Perlakuan	Nilai produksi gas (ml/500mg BK)							
	2 jam	4 jam	6 jam	8 jam	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam
P1	14,13 <sup>b</sup>	24,40 <sup>b</sup>	32,59 <sup>b</sup>	39,89 <sup>c</sup>	53,39 <sup>c</sup>	79,92 <sup>b</sup>	89,38 <sup>b</sup>	93,71 <sup>c</sup>
P2	12,79 <sup>ab</sup>	21,12 <sup>a</sup>	28,75 <sup>a</sup>	35,62 <sup>b</sup>	48,37 <sup>b</sup>	73,96 <sup>a</sup>	84,15 <sup>ab</sup>	90,97 <sup>bc</sup>
P3	11,95 <sup>a</sup>	20,94 <sup>a</sup>	27,84 <sup>a</sup>	34,88 <sup>ab</sup>	47,39 <sup>ab</sup>	72,10 <sup>a</sup>	82,92 <sup>a</sup>	88,69 <sup>abc</sup>
P4	13,03 <sup>ab</sup>	23,03 <sup>b</sup>	30,44 <sup>ab</sup>	37,05 <sup>ab</sup>	50,01 <sup>ab</sup>	73,74 <sup>a</sup>	83,88 <sup>a</sup>	87,95 <sup>ab</sup>
P5	11,82 <sup>a</sup>	20,68 <sup>a</sup>	27,65 <sup>a</sup>	33,85 <sup>a</sup>	45,81 <sup>a</sup>	69,49 <sup>a</sup>	79,56 <sup>a</sup>	84,40 <sup>a</sup>

Keterangan: - Superskrip yang berbeda pada nilai produksi pada jam 4,6,8,12,24,36 dan 48 jam menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )  
 - Suerskrip yang berbeda pada nilai produksi gas pada jam ke 2 menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil dari penelitian ini menunjukkan penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat dalam pakan lengkap berbasis jerami jagung berbeda nyata pada jam ke 2 dan berbeda sangat nyata pada jam ke-4 sampai 48 jam jika dibandingkan dengan pakan kontrol. Penurunan produksi gas seiring dengan penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat dalam pakan lengkap. Pada P2 dengan penambahan asam miristat 30 g/kg Bk tanpa adanya penambahan tepung daun kaliandra menunjukkan penurunan yang cukup besar pada jam ke-48 jika dibandingkan dengan P3 dan P4 tetapi tidak lebih besar dari P5. Hal ini disebabkan adanya penambahan tepung daun kaliandra sebesar 20% yang mengandung tanin pada P5 dan dapat menjadi tambahan substrat bagi mikroba rumen.

Penambahan asam miristat pada P2 dengan level pemberian 30 gr/Kg BK dapat menurunkan kinetika produksi gas. Hasil tersebut sejalan dengan pernyataan Jayanegara dkk (2009) yaitu Asam lemak jenuh dengan Panjang rantai karbon medium yaitu C10-C14 dapat menurunkan total gas secara nyata dan menurunkan produksi gas metan dengan koefisien korelasi secara berurutan adalah -0,88 dan -0,79. Lemak dapat menurunkan total gas dan metana dengan mengurangi fermentasi bahan organik serta mengurangi aktivitas metanogen dan jumlah protozoa. Penelitian dilakukan oleh Muchlas, Chuzaemi and Mashudi (2020) menggunakan serbuk mimosa dan asam miristat dengan level 20, 30 dan

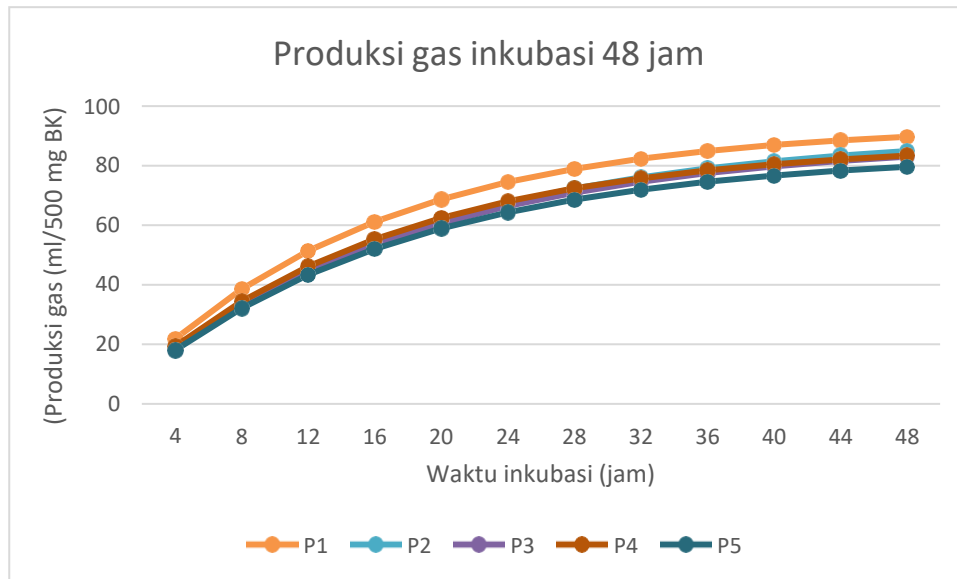
40 g/Kg BK yang digunakan pada pakan lengkap berbasis jerami jagung menunjukkan bahwa penambahan tanaman dengan kandungan tanin dan asam miristat pada pakan dapat menurunkan produksi gas pada pakan secara *in vitro*. Hal ini disebabkan karena adanya ikatan tanin protein didalam rumen sehingga pakan dengan protein tinggi tidak mudah di degradasi oleh mikroba rumen dan diharapkan dapat meningkatkan pencernaan pakan pasca rumen. Tanin mengikat protein dengan ikatan hidrogen yang sensitif terhadap perubahan pH. Tanin akan berikatan stabil pada pH 4 –7 di dalam rumen, sedangkan pada pH yang ekstrim ikatan tanin dengan protein akan terlepas, yaitu pada pH kurang dari 3 yaitu di dalam abomasum dan pH lebih dari 7 yaitu didalam *intestinum* (Sasongko, Bachruddin dan Mugiono, 2010).

Total gas dari fermentasi rumen secara *in vitro* dihasilkan dari fermentasi substrat, yang mengandung CO<sub>2</sub> dan CH<sub>4</sub> (Getachew *et al.* 1998). Wahyuni, Nukhtiani dan Cristitanto (2014) menyatakan bahwa tanin membentuk ikatan kompleks dengan protein, karbohidrat (selulosa, hemiselulosa dan pektin), mineral, vitamin dan enzim di dalam rumen. Kompleks ikatan tannin dan protein dapat terlepas pada pH rendah di dalam abomasum sehingga protein dan asam-asam amino yang dikandung dapat dimanfaatkan oleh ternak. Alfaafa *et al.*, (2019) menambahkan bahwa ikatan Kompleks protein tanin terjadi karena adanya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan kovalen antar senyawa tersebut. Adanya sejumlah gugus fungsi pada tanin menyebabkan pengendapan protein. Senyawa kompleks antara tanin dan protein yang terbentuk tidak larut dalam rumen, tetapi larut dalam suasana asam di dalam abomasum, kompleks tersebut mengalami pencernaan enzimatik sehingga protein dapat dimanfaatkan oleh ternak. Mekanisme tannin dalam menurunkan produksi gas adalah melalui kemampuan berinteraksi dengan komponen pakan terutama protein dan serat yang mempunyai kontribusi besar dalam menghasilkan gas (Makkar, 2003; Makkar *et al.*, 2007). Tannin mempunyai sifat sebagai pengelat berefek spasmolitik yang dapat



mengkerutkan usus sehingga gerak peristaltik usus berkurang, adanya efek spasmolitik ini mungkin dapat mengkerutkan dinding sel bakteri atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, permeabilitas yang terganggu menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan sel akan terhambat atau bahkan mati. Tanin juga mempunyai daya ikat antibakteri dengan cara mempresipitankan protein, karena tannin mempunyai sifat seperti fenolat. Efek anti bakteri tannin antara lain reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik bakteri (Fратиwi, 2015).

Penelitian dilakukan oleh Mukharji, Srivastava and Srivastava (2014) dengan penambahan berbagai level minyak kelapa pada pakan yang diberikan pada kambing. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan minyak kelapa pada pakan kambing dapat menurunkan produksi gas sampai 38,67%. Penelitian lain dilakukan oleh Lawa *et al* (2017) dengan menggunakan daun kabesak putih sebagai sumber tanin dengan level 1,10,20,30 dan 40% BK yang diberikan pada kambing kacang. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsumsi BK, BO dan PK pada kambing yang diberikan pakan control tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kambing yang diberikan pakan dengan 10% BK daun kabesak tetapi berpengaruh nyata jika dibandingkan dengan kambing yang diberi pakan 20,30 dan 40% BK. Pertambahan bobot badan pada ternak yang diberikan pakan 20% daun kabesak mempunyai nilai konversi pakan yang paling baik pada penelitian ini.



Gambar 7. Kurva produksi gas total pada pakan lengkap berbasis jerami jagung

Gambar 7 menunjukkan kurva produksi gas total pakan perlakuan.

Gambar 7 menunjukkan bahwa produksi gas pada waktu awal inkubasi mengalami peningkatan yang cukup besar, hal ini disebabkan karena masih banyaknya substrat yang dapat difermentasi oleh mikroba rumen. Hal tersebut terjadi pada semua perlakuan dengan nilai paling besar peningkatan pada P1. P2, P3, P4 dan P5 menunjukkan produksi gas awal dengan kenaikan yang hampir sama, yang menunjukkan substrat yang terkandung dalam pakan tersebut mempunyai karakteristik yang serupa. P1 menunjukkan produksi gas awal mengalami kenaikan yang lebih tinggi dibandingkan dengan P2, P3, P4 dan P5, hal ini disebabkan karena adanya penambahan tanin yang berasal dari tepung daun kaliandra dan asam miristat. Hasil tersebut menunjukkan perlakuan penambahan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat dapat menurunkan produksi gas.

Tabel 9. Nilai Potensi Produksi Gas (b) dan Laju Produksi Gas (c)

Perlakuan	b (ml/500mg BK)	c (ml/jam)
P1	97,59 <sup>c</sup>	0,07 <sup>d</sup>
P2	96,08 <sup>bc</sup>	0,06 <sup>a</sup>
P3	94,03 <sup>abc</sup>	0,06 <sup>b</sup>
P4	91,42 <sup>abc</sup>	0,07 <sup>cd</sup>
P5	88,87 <sup>a</sup>	0,06 <sup>bc</sup>

Keterangan: - Superskrip yang berbeda pada nilai b menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )

- Superskrip yang berbeda pada nilai c menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil rata-rata nilai b pada pakan lengkap berbasis jerami jagung yang ditambahkan tepung daun kaliandra dan asam miristat paling tinggi yaitu P1 (97,59 ml/500mg BK) dan paling rendah yaitu P5 (88,87 ml/500mg BK). Pada P1 pakan kontrol tanpa penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin memiliki penurunan yang kecil jika dibandingkan dengan P3-P5 dengan penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat mampu mempengaruhi potensi produksi gas pada pakan lengkap sehingga terjadi penurunan pada setiap penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lawa *et al* (2020) dengan menggunakan daun kabesak putih sebagai sumber tannin yang ditambahkan pada konsentrat dengan konsentrasi 1,10,20,30 dan 40% BK. Hasil pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa penambahan daun kabesak putih sebagai sumber tanin dapat menurunkan potensi produksi gas pada pakan konsentrat yaitu  $198,29 \pm 35,0$  ml/500 mg BK pada pakan kontrol menjadi  $139,93 \pm 18,2$  ml/500 mg BK. Wahyuni, Muktiani dan Critianto (2014) menyatakan ikatan kompleks tannin dan protein mampu menurunkan nilai potensi produksi gas pada pakan.

Hasil rata-rata nilai c terbesar didapatkan pada P1 (0,06646 ml/jam) dan paling rendah didapatkan oleh P2 (0,05696 ml/jam). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan asam miristat tanpa tepung daun kaliandra

menunjukkan nilai laju produksi gas yang rendah dibandingkan dengan perlakuan pakan dengan penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat pada P3-P5. Menurut Muchlas, Kusmartono dan Marjuki (2014) menyatakan semakin tinggi nilai kenaikan laju produksi gas maka akan semakin baik pula degradasi pakan oleh mikroba rumen. Sehingga dalam penelitian ini laju paling baik ditunjukkan pada P1 yaitu pakan tanpa penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat, sedangkan P2 yang hanya ditambah asam miristat mempunyai nilai degradasi yang rendah. Wahyono dkk., (2017) menyatakan kandungan NDF yang rendah pada pakan berpengaruh pada degradasi substrat yang semakin cepat sehingga produksi gas akan lebih cepat mencapai maksimum pada inkubasi 24 jam. Wahyuni *et al.*, (2014) menyatakan tingginya komponen serat berupa lignin dan selulosa dapat mempengaruhi rendahnya kecepatan degradasi pakan yang akan sekaligus menurunkan produksi gas. Penelitian dilakukan oleh Alfaafa *et al.*, (2019) dengan menggunakan ekstrak gambir sebagai sumber tanin. Hasil penelitian tersebut menyatakan penambahan ekstrak gambir sebagai sumber tanin menurunkan nilai c dibandingkan dengan pakan control tanpa penambahan tanin.

### 5.3 Pengaruh Perlakuan Terhadap Konsentrasi Gas Metan dan Populasi Protozoa Pada Inkubasi 48 Jam Secara *In Vitro*

Hasil analisis dari konsentrasi gas metan (CH<sub>4</sub>), estimasi gas metan dan populasi protozoa pada pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rata-Rata hasil konsentrasi gas metan, estimasi gas metan dan populasi protozoa

Perlakuan	Gas metan (CH <sub>4</sub> ) (PPM)	Estimasi Gas Metan (CH <sub>4</sub> ) (mMol/l)	Populasi Protozoa (× 10 <sup>3</sup> sel/ml cairan rumen)
P1	45961,86	16,35	2,046 <sup>e</sup>
P2	30151,66	16,76	1,834 <sup>d</sup>
P3	36589,51	16,08	1,610 <sup>c</sup>
P4	30722,81	14,84	1,397 <sup>b</sup>
P5	44706,19	15,52	1,321 <sup>a</sup>

Keterangan: - Superskrip yang berbeda pada populasi protozoa menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Hasil uji konsentrasi CH<sub>4</sub> menunjukkan tidak berbeda nyata pada perlakuan yang diberikan, tetapi sudah dapat menurunkan nilai CH<sub>4</sub> dibandingkan dengan pakan kontrol. Hasil konsentrasi CH<sub>4</sub> tertinggi terdapat pada P1 yaitu 45961,86 PPM dan konsentrasi paling rendah terdapat pada P2 yaitu 30151,66 PPM. Penurunan konsentrasi CH<sub>4</sub> pada P2 disebabkan karena adanya penambahan asam miristat pada pakan tersebut. Menurut Bucher *et al.*, (2008) dalam Jayanegara dkk., (2009) menyatakan asam lemak jenuh dengan rantai karbon medium yaitu C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub> dapat menurunkan emisi gas metan dengan efektifitasnya dapat menurun seiring dengan semakin panjangnya rantai karbon. Beauchemin *et al.*, (2008) menyatakan pengurangan emisi metana antara 10-25%. Pengurangan diatas 40% dimungkinkan jika dilakukan suplementasi lemak dengan jumlah yang banyak. Penambahan lemak yang banyak yaitu 6-7% dari bahan kering dapat menurunkan konsumsi pakan secara drastis. Penelitian dilakukan oleh Soliva, *et al.*, (2003) menggunakan pencampuran pakan dengan asam laurat dan asam miristat secara *in vitro* menunjukkan bahwa penambahan asam miristat tunggal pada pakan tidak terlalu berpengaruh pada produksi CH<sub>4</sub> dibandingkan dengan mencampurkan miristat dan laurat pada pakan. Tetapi, penambahan miristat pada pakan dapat meningkatkan efek penekanan CH<sub>4</sub> pada asam laurat dengan kombinasi tertentu. Penelitian lain dilakukan oleh Mukharji, *et al.*, (2014) dengan menggunakan domba yang diberi tambahan pakan minyak kelapa dengan berbagai level secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan penambahan minyak kelapa pada pakan dapat menurunkan CH<sub>4</sub> sebesar 4,17%, hal ini disebabkan karena minyak kelapa mempunyai asam lemak rantai sedang yang potensial dalam menurunkan CH<sub>4</sub> (Machmuller, *et al.* 2000).

Hasil Analisa pada Tabel 10 menunjukkan bahwa pakan dengan penambahan asam miristat tanpa tepung daun kaliandra mempunyai nilai konsentrasi gas metan

yang paling rendah jika dibandingkan dengan pakan P3-P5 dengan penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin, tetapi hasil ini masih lebih rendah jika dibandingkan dengan pakan kontrol. Penelitian dilakukan oleh Yogiarto dkk (2014) dengan penambahan ekstrak tanin dan saponin pada pakan dengan perbedaan konsentrasi hijauan dan konsentrat menunjukkan bahwa penambahan tanin dan kombinasinya mampu menurunkan produksi  $\text{CH}_4$  pada pakan. Konsentrasi yang bagus pada penelitian ini adalah 2 mg/ml. Penurunan konsentrasi  $\text{CH}_4$  ini disebabkan karena tanin dapat menurunkan produksi gas pada pakan sehingga dapat menurunkan konsentrasi dari  $\text{CH}_4$ . Mekanisme penghambatan produksi metana pada ternak ruminansia telah dilakukan oleh Tavendele, Meagher, Pachero, Walker, Attood and Sivakumaran (2005) yaitu (1) secara tidak langsung melalui penghambatan pencernaan serat yang mengurangi produksi  $\text{H}_2$  dan (2) secara langsung menghambat pertumbuhan dan aktivitas metanogen. Jayanegara (2008d) menyatakan bahwa tanin terkondensasi menurunkan metana melalui mekanisme pertama sedangkan tanin terhidrolisis lebih berperan pada mekanisme kedua.

Penurunan gas metan erat kaitannya dengan populasi protozoa didalam rumen. Protozoa merupakan agen yang berfungsi sebagai penyatu antara metanogenik dan ciliata, sehingga menyebabkan terbentuknya gas metan. Penurunan populasi protozoa membuat mekanisme simbiosis antara protozoa bersilia dan metanogenik terganggu sehingga tidak terbentuk gas metan. Protozoa bersilia diketahui mempunyai mekanisme transfer hydrogeninterspesies yang spesifik dengan hubungan *ecto* dan *endo symbiosis* dengan bakteri metanogen. Bakteri metanogen yang berkaitan dengan protozoa bersilia terutama berasal dari family Methanobacteriacease (Hegati, 1999). Hubungan simbiosis antara bakteri metanogen dan protozoa bersilia sangat penting, bakteri metanogen berperan dalam mencegah terakumulasinya hidrogen melalui mekanisme transfer hidrogen secara interspesies dengan protozoa bersilia yang menyebabkan hanya

sedikit hidrogen yang mampu dikonversi menjadi gas metan (Jordan *et al.* 2003). Vogels *et al.* (1980) menyatakan bahwa hampir semua bakteri yang menempel pada protozoa merupakan metanogen. Dengan berkurangnya populasi protozoa melalui defaunasi, maka populasi bakteri berubah, produksi VFA dialihkan dari asetat dan butirrat ke propionat dan produksi metan berkurang (Hegarty, 1999). Martin *et al.* (2008) menyatakan bahwa dalam pembentukan VFA, propionate membutuhkan  $H_2$ , sedangkan dalam pembentukan asetat dan butirrat menghasilkan  $H_2$ . Hal ini menandakan bahwa pembentukan asetat dan butirrat memicu terbentuknya  $H_2$  sehingga akan dimanfaatkan oleh bakteri metanogen untuk diubah menjadi  $CH_4$ , sedangkan produksi propionate yang tinggi membutuhkan  $H_2$  sehingga pembentukan  $CH_4$  akan menurun.

Estimasi gas metan yang berasal dari perhitungan stoikiometri yang berasal dari konsentrasi asetat, propionate dan butirrat dapat dilihat pada Tabel 9. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan pada penelitian ini tidak berpengaruh pada estimasi gas metan. Nilai konsentrasi tertinggi didapat pada P2 16,76 mMol/l yaitu dan nilai konsentrasi terendah didapat pada P4 14,84 mMol/l. Hasil tersebut berbeda dengan hasil analisa konsentrasi gas metanyang menggunakan metode FID. Menurut Morgavi *et al.*, (2010) menyatakan bahwa hasil yang berbeda mungkin disebabkan karena terdapat hydrogen yang terbentuk dari jalur yang berbeda selain jalur metanogenesis seperti pada proses sintesis polimer mikroba. Czerkawski and Breckenridge, (1975) dalam Jayanegara, Ikhsan dan Toharmat (2013) produksi metana pada kenyataannya lebih rendah daripada persamaan karena beberapa hydrogen dioksidasi untuk menyediakan energi pada sintesis polimer sel (misalnya lemak, asam nukleat dan asam amino) selama pertumbuhan sel dan dalam berbagai reaksi redoks lainnya. Penelitian dilakukan oleh Jayanegara, Ikhsan dan Toharmat (2013) melakukan perbandingan antara hasil penelitian dan estimasi menggunakan komposisi VFA dengan sampel berupa 27 hijauan tropis yang berbeda. Hasil penelitian tersebut

menyatakan bahwa terdapat perbedaan antara gas metan yang berasal hasil penelitian dan estimasi. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena hydrogen menurunkan bias hasil secara signifikan.

Hasil analisa populasi protozoa pada pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Hasil penelitian ini menunjukkan populasi protozoa terbesar terdapat pada P1 yaitu  $2,046^e \times 10^3$  sel/ml cairan rumen yang merupakan pakan lengkap tanpa penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat dan menurun sampai pada P5 dengan nilai  $1,321^a \times 10^3$  sel/ml yang memiliki konsentrasi tepung daun kaliandra terbesar yaitu 20%. Hampir tidak ada perbedaan penurunan yang signifikan antara P2 dengan menggunakan asam miristat tanpa adanya penambahan tepung daun kaliandra dan P3-P5 dengan penambahan asam miristat dan tepung daun kaliandra. Jumlah protozoa sangat beragam dipengaruhi oleh pakan, umur dan jenis hewan inangnya. Secara normal jumlah populasi protozoa bersilia adalah  $10^5$  per ml pada pakan berserat kasar tinggi, dan meningkat menjadi  $10^6$  per ml pada rumen yang telah beradaptasi dengan sumber pakan yang mengandung gula terlarut (Yanuartono, dkk., 2019).

Penelitian dilakukan oleh Mawar, Wiryawan dan Suharti (2018) dengan menggunakan minyak kanola murni sebanyak 4% dari total ransum yang diberikan pada ternak domba menunjukkan bahwa penambahan minyak pada pakan domba dapat menurunkan populasi protozoa dari  $5,41 \log \text{ sel ml}^{-1}$  sampai  $4,9 \log \text{ sel ml}^{-1}$ . Menurut Puastuti (2009) menyatakan bahwa agen defaunasi yang mengandung lemak akan berasosiasi dengan partikel pakan dan mikroba rumen dengan cara menutupi permukaan fisik mikroba. Bakteri rumen memiliki kemampuan lipolysis yang kuat sehingga dengan mudah dapat menguraikan lemak yang menyelimutinya. Berbeda dengan bakteri, protozoa tidak memiliki daya untuk lipolysis, sehingga pada kondisi rumen yang mengandung banyak lemak aktivitas metabolisme dari protozoa akan terganggu yang mengakibatkan protozoa tidak



dapat mempertahankan hidupnya. Penurunan populasi protozoa diharapkan mampu meningkatkan sintesis protein mikroba sehingga mampu memberikan protein yang cukup bagi ternak (Makkar *et al.*, 1995).

Makkar (2003) menyatakan bahwa tanin dapat digunakan sebagai agen defaunasi yang dapat menurunkan populasi protozoa sehingga mampu menekan produksi gas metan di dalam rumen. Sajati (2012) menyatakan adanya ikatan kompleks protein-tanin dapat mengakibatkan tekanan terhadap populasi protozoa di dalam rumen sehingga menyebabkan efek tidak langsung terhadap penurunan jumlah protozoa, mengurangi atau menekan populasi protozoa berarti memberi kesempatan bakteri untuk dapat berkembang biak lebih baik, menurunkan degradabilitas protein dan menurunkan kehilangan energi dalam bentuk metan. Menurut Yanuartono dkk, (2019) menyatakan protozoa memiliki peran yang besar pada fermentasi di dalam rumen, protozoa juga berperan dalam proses pencernaan dan pemecahan materi organik dalam rumen.

Penelitian dilakukan oleh Sugoro dan Yuniarto (2006) dengan menggunakan cairan rumen kerbau yang disuplementasi dengan tanin yang berasal dari serbuk daun akasia secara *in vitro* dengan konsentrasi 0, 1,25, 2,5 dan 5%. Hasil dari penelitian ini menunjukkan suplementasi tanin pada rumen kerbau dapat menurunkan jumlah sel protozoa dan dicapai dengan konsentrasi 2,5% tanin pada inkubasi 6 jam dengan nilai  $4 \times 10^3$  sel/ml dan pada jam ke 24 yaitu  $3,2 \times 10^3$  sel/ml. Penelitian lain dilakukan oleh Wahyuni, Muktiani dan Christianto (2014) dengan penambahan tanin dan saponin pada pakan konsentrat. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan tanin 2% tanpa saponin menunjukkan nilai populasi protozoa  $1,04 \pm 0,14 \times 10^3$ /ml cairan rumen, sedangkan penambahan tanin 0,1% dan saponin 0,6% menunjukkan hasil yang lebih rendah yaitu  $0,78 \pm 0,05 \times 10^3$ /ml. Penurunan populasi protozoa pada konsentrat juga meningkatkan jumlah bakteri yang ada di dalam cairan rumen. Menurut Kurihara (1978) menyatakan bahwa eliminasi Sebagian protozoa dalam cairan rumen dapat

meningkatkan jumlah bakteri amilolitik karena protozoa memakan bakteri untuk sumber nitrogen dan mengubah protein bakteri menjadi protein protozoa.

Penurunan populasi protozoa ini juga berpengaruh pada produksi gas metan. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 10. Pada penelitian ini semakin menurun populasi protozoa pada pakan juga menurunkan konsentrasi gas metan pada pakan. Penelitian dilakukan oleh Ningrat, *et al* (2016) dengan menggunakan tanin yang bersumber dari berbagai tanaman secara *in vitro*. Hasil ini menunjukkan bahwa penurunan nilai populasi protozoa pada pakan seiring dengan penurunan konsentrasi gas metan pada pakan. Penelitian lain dilakukan oleh Bhatta, *et al.*, (2009) dengan menggunakan penggabungan antara tanin kondensasi dan tanin hidrolisa yang dicampurkan pada pakan secara *in vitro*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi tanin kondensasi dan hidrolisa lebih baik dalam menurunkan gas metan dibandingkan dengan menggunakan tanin kondensasi serta penurunan ini sejalan dengan penurunan populasi protozoa dalam pakan perlakuan tersebut. Penurunan populasi protozoa akan berefek pada peningkatan populasi bakteri karena protozoa merupakan predator bagi bakteri untuk memenuhi kebutuhan proteinnya (Ningrat *et al.*, 2016). Hal ini disebabkan karena protozoa memiliki kemampuan yang rendah dalam mensintesis asam amino, sehingga memanfaatkan protein dari bakteri. Protozoa yang terlalu banyak mengganggu keseimbangan rumen karena dengan berkurangnya populasi bakteri maka dapat mengganggu proses pencernaan serat kasar (Hanim, Yusiati dan Alim, 2009).

#### **5.4 Pengaruh Perlakuan Terhadap Total VFA, Proporsi Asam Asetat, Propionat, Butirat dan Rasio Asetat dan Propionat pada Inkubasi 48 Jam Secara *In Vitro***

Hasil analisis dari total VFA, asetat (C2), propionate (C3), butirat (C4) dan perbandingan asetat:propionat (C2/C3) pada pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan tepung daun kaliandra dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Rata-Rata hasil total VFA, asetat (C2), propionate (C3), butirrat (C4) dan perbandingan asetat dan propionat (C2/C3)

Perlakuan	C2 (mMol)	C3 (mMol)	C4 (mMol)	C2/C3 (mMol)	Total VFA (mMol)
P1	34,45	21,80	17,12	1,60	73,36
P2	33,81	18,65	16,69	1,82	69,15
P3	32,35	18,61	16,61	1,73	67,57
P4	30,43	17,77	15,07	1,66	63,27
P5	30,07	19,51	18,39	1,58	67,97

VFA (Volatile Fatty Acid) merupakan produk metabolit yang dihasilkan dari degradasi karbohidrat oleh mikroba rumen. Karbohidrat terdiri dari serat kasar dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) (Ma'rifatunnisa, Tanuwiria dan Hernawan, 2015). Hasil penelitian ini menunjukkan total VFA yang didapat tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) terhadap perlakuan yang diberikan. Konsentrasi VFA tertinggi terdapat pada P1 yaitu 73,36 mMol dan paling rendah terdapat pada P4 yaitu 63,27 mMol. Hasil P2 dengan menggunakan asam miristat tanpa tepung daun kaliandra dapat menurunkan total VFA, tetapi nilainya lebih kecil jika dibandingkan dengan penambahan asam miristat yang dikombinasikan dengan tepung daun kaliandra pada P4.

Bauman *et al.*, (2003) menyatakan bahwa penambahan lemak pada pakan dapat memberikan dampak negative pada mikroba rumen karena menghambat aktivitas mikroba rumen serta menurunkan pencernaan serat, hal ini disebabkan karena lemak melapisi partikel pakan sehingga mencegah pelekatan bakteri pada pakan. padahal lemak diharapkan dapat meningkatkan energi pada pakan tanpa harus tergantung pada produksi VFA. Ma'rifatunnisa, Tanuwiria dan Hernaman (2015) menyatakan menurunnya populasi protozoa menyebabkan aktivitas bakteri terutama bakteri pencernaan karbohidrat terganggu, sehingga bakteri tidak mampu mengubah karbohidrat menjadi VFA dengan optimal. Hal ini didukung oleh Purwanto, Bata dan Rahayu (2019) menyatakan bahwa protozoa merupakan

predator utama bakteri rumen. Bakteri rumen dibutuhkan untuk ternak ruminansia mencerna serat kasar yang akan menghasilkan produk fermentasi rumen berupa VFA dan  $N-NH_3$  yang digunakan untuk produktivitas ternak. Mosoni *et al.*, (2011) Penurunan populasi protozoa berdampak pada penurunan pencernaan serat. Pada penelitian tersebut menyatakan bahwa adanya keterkaitan yang erat antara bakteri dan protozoa dalam pencernaan serat kasar. Keseimbangan bakteri dan protozoa harus dijaga untuk lebih mengoptimalkan pencernaan serat kasar didalam rumen.

Hasil penurunan konsentrasi total VFA pada pakan lengkap berbasis Jerami jagung banyak dipengaruhi oleh kandungan tanin dalam pakan. Menurut Jayanegara, Tjakradidjaja dan sutardi (2006) zat antagonistik dapat menyebabkan terhambatnya penyerapan monosakarida oleh mikroba rumen. Telah diketahui tanin merupakan zat antinutrisi yang dapat menghambat aktivitas bakteri didalam rumen (Fратиwi, 2015). Penyerapan monosakarida yang terhambat menyebabkan proses fermentasi terhambat, sehingga VFA yang merupakan produk fermentasi karbohidrat menjadi rendah (Lenhinger, 1982 dalam Jayanegara, Tjakradidjaja dan sutardi, 2006). Hidratiningrum, Bata dan Santosa (2011) menyatakan faktor yang mempegaruhi konsentrasi VFA adalah jenis mikroba yang ada di dalam rumen, penyerapan dan fermentabilitas dari pakan sumber karbohidrat. Menurut McDonald *et al.*, (2011) dalam Dhia, Kamil dan Tanuwiria (2019) menyatakan bahwa produk VFA total bagi kelangsungan hidup ternak berkisar antara 70-150 mM. VFA total pada penelitian ini menunjukkan masih dalam kisaran normal pada P1 tetapi P2-P5 menunjukkan penurunan yang tidak signifikan. Hal ini disebabkan karena pakan P1 mudah difermentasi oleh mikroba rumen sehingga menghasilkan konsentrasi VFA yang tinggi sedangkan pakan P2-P5 mengandung tanin dan asam miristat sehingga tidak mudah didegradasi mikroba didalam rumen.

Karbohidrat merupakan sumber energi utama yang berasal dari pakan yang mudah difermentasi di dalam rumen untuk menghasilkan VFA (Amri dan

Yurleni, 2014). Black and Kenney (1984) menyatakan karbohidrat didalam rumen hampir sepenuhnya difermentasi menjadi VFA. Mikroba di dalam rumen menghidrolisi selulosa menjadi monosakarida yang kemudian membentuk VFA. VFA mempunyai peran sebagai sumber energi bagi ternak dan sebagai sumber kerangka karbon untuk pembentukan protein mikroba. Konsentrasi VFA di dalam rumen menggambarkan keseimbangan antara kecepatan produksi dan kecepatan pengeluaran untuk masing-masing VFA sebagai proses interkonversi. Kecepatan penyerapan VFA dipengaruhi oleh konsentrasi, tekanan osmotik dan pH rumen. Penelitian dilakukan oleh Bhatta *et al.*, (2009) dengan menggunakan tanin kondensasi dan tanin hidrolisa yang diberikan pada pakan ternak ruminansia. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan tanin kondensasi dan tanin hidrolisa menurunkan total VFA lebih baik daripada hanya penambahan tanin kondensasi saja. Patra (2010) menyatakan kebanyakan suplementasi tanin menurunkan daya cerna pakan, misalnya PK, NDF dan ADF serta cenderung menurunkan total VFA karena tanin berinteraksi dengan molekul makro lain seperti protein dan karbohidrat.

Penurunan total VFA pada pakan lengkap berbasis jerami jagung dapat dipengaruhi karena menurunnya populasi protozoa. Vogelas *et al.*, (1980) menyatakan bahwa protozoa berpengaruh pada pergeseran proporsi VFA menjadi asam asetat dan asam butirat. Pada penelitian ini penambahan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat berpengaruh nyata menurunkan populasi protozoa dalam pakan lengkap. Penelitian dilakukan oleh Bhatta *et al.*, (2009) dengan menggunakan kondensasi tanin dan hidrolisa tanin pada pakan ternak secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penurunan total VFA searah dengan penurunan populasi protozoa dalam penelitian tersebut. Penelitian lain dilakukan oleh Sitoresmi, Yusiati dan Hartadi (2009) dengan menggunakan berbagai macam minyak nabati pada pakan secara *In vitro*. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan minyak nabati yang berbeda

berpengaruh terhadap populasi protozoa dan konsentrasi VFA pada pakan perlakuan.

Hasil penelitian proporsi asam asetat (C2) dari VFA total pada pakan lengkap berbasis jerami jagung yang ditambahkan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil tersebut menyatakan bahwa proporsi C2 pada pakan lengkap tidak berbeda nyata ( $P>0.05$ ). Kandungan C2 tertinggi didapat pada P1 yaitu 34,45 mMol dan terus menurun hingga nilai terendah didapat pada P5 yaitu 30,07mMol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan tanin dan asam miristat dapat menurunkan proporsi C2 pada pakan lebih efektif daripada penambahan asam miristat tunggal pada P2. Penurunan konsentrasi C2 pada pakan selaras dengan penambahan daun kaliandra sebagai sumber tanin yang sekaligus menurunkan populasi protozoa dalam pakan lengkap. Vogels, Hope and Stumm (1980) menyatakan protozoa merupakan agen yang merubah asam asetat dan butirat. Penelitian dilakukan oleh Bhatta *et al.*, (2009) dengan menambahkan tanin pada pakan yang menghasilkan proporsi asam asetat yang menurun selaras dengan penambahan tanin pada pakan yang selaras dengan penurunan populasi protozoa pada penelitian tersebut.

Hasil penelitian proporsi asam propionat (C3) dari total VFA pada pakan lengkap berbasis jerami jagung yang ditambahkan tanin yang berasal dari tepung daun kaliandra dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil tersebut menyatakan bahwa proporsi C3 pada pakan lengkap tidak berbeda nyata ( $P>0.05$ ). Kandungan C3 tertinggi didapatkan pada P1 17,12 mMol dan nilai terendah didapatkan pada P4 17,77 mMol. Hasil tersebut menunjukkan penambahan tanin dan asam miristat pada pakan lengkap menurunkan proporsi C3 lebih baik dibandingkan dengan hanya menggunakan asam miristat saja pada P2. Penelitian dilakukan oleh Anggraeny, Sulistya dan Widyaningrum (2019) dengan kombinasi tanin dan saponin dalam pakan. Hasil penelitian tersebut

menunjukkan penurunan pada nilai C3 dengan penambahan tanin.

Hasil penelitian proporsi asam butirat (C4) dari total VFA pada pakan lengkap berbasis jerami jagung yang ditambahkan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil tersebut menyatakan bahwa proporsi C4 pada pakan lengkap tidak berbeda nyata ( $P>0.05$ ). Kandungan C4 tertinggi didapatkan pada P1 21,80 mMol dan nilai terendah didapatkan pada P4 15,07 mMol. Hasil tersebut menunjukkan penambahan tanin dan asam miristat pada pakan lengkap menurunkan proporsi C4 lebih baik jika dibandingkan dengan P2 yang hanya menggunakan asam miristat tanpa tepung daun kaliandra. Pamungkas *et al.*, (2008) menyatakan C4 memiliki sifat absorbansi dibandingkan dengan C2 dan C3 sehingga proporsinya dalam VFA lebih kecil dibandingkan dengan C2 dan C3. Menurut Vas Soest (1994) dalam Suhartanto (2014) menyatakan 90% asam butirat dirubah menjadi benda keton yang kemudian digunakan untuk menyusun lemak atau digunakan sebagai sumber energi dalam siklus asam sitrat.

Hasil penelitian rasio proporsi asam asetat dan propionate (C2/C3) dari total VFA pada pakan lengkap berbasis jerami jagung yang ditambahkan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil tersebut menyatakan bahwa proporsi C2/C3 pada pakan lengkap tidak berbeda nyata ( $P>0.05$ ). Kandungan C2/C3 tertinggi didapatkan pada P2 1,82 mMol dan nilai terendah didapatkan pada P1 1,60 mMol. Hasil tersebut menunjukkan penambahan tanin dan asam miristat pada pakan lengkap meningkatkan proporsi C2/C3 dari total VFA. Hal ini mengindikasikan bahwa pakan tidak mudah didegradasi oleh mikroba rumen sehingga diharapkan dapat diserap disaluran pasca rumen sehingga dapat dimanfaatkan langsung oleh ternak. Hasil tersebut berbeda dengan pernyataan Wina, Muetzel dan Becker (2005) yang menyatakan bahwa pengaruh utama penambahan tanin terhadap fermentasi rumen adalah pola konversi asam lemak rantai pendek yaitu menurunkan rasio

asetat: propionate (C2/C3). Menurut Yost *et al.*, (1997) menyatakan bahwa rasio proporsi asetat dan propionate maksimal untuk penambahan bobot badan ternak ruminansia adalah 3:1.

### 5.5 Pengaruh Perlakuan Terhadap Konsentrasi Amonia (NH<sub>3</sub>), dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) pada Inkubasi 48 jam Secara *In Vitro*

Hasil analisis dari konsentrasi amonia dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM) pada pakan lengkap berbasis jerami jagung dengan penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin dan asam miristat dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Rata-Rata hasil konsentrasi amonia dan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba (ESPM)

Perlakuan	Amonia (NH <sub>3</sub> ) (mM)	ESPM (g N/Kg BOTR)
P1	6,77	70,21 <sup>b</sup>
P2	6,51	67,05 <sup>b</sup>
P3	6,64	51,47 <sup>a</sup>
P4	6,35	54,68 <sup>a</sup>
P5	6,54	62,41 <sup>ab</sup>

Keterangan: - Superskrip yang berbeda pada ESPM menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Konsentrasi NH<sub>3</sub> merupakan hasil dari degradasi protein pakan di dalam rumen oleh bakteri proteolitik yang sangat penting untuk pertumbuhan mikroba rumen, hal ini karena NH<sub>3</sub> merupakan sumber utama untuk sintesis protein mikroba dan digunakan untuk memenuhi kebutuhan protein mikroba rumen (Dhia, Kamil dan Tanuwiria, 2018). Hasil analisis ragam pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 12. Pada Tabel 12 dapat diketahui bahwa penambahan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat tidak berbeda nyata pada konsentrasi NH<sub>3</sub>. Konsentrasi NH<sub>3</sub> paling tinggi terdapat pada P1 yaitu 6,77 mM dan konsentrasi paling rendah didapat pada P4 yaitu 6,35 mM. Walaupun tidak berbeda nyata pada analisis ragam, tapi penambahan tanin dan asam miristat pada pakan berhasil menurunkan konsentrasi NH<sub>3</sub> dibandingkan dengan P1.



Penambahan asam miristat tunggal tanpa adanya tepung daun kaliandra pada P2 (6,51 mM) mempunyai konsentrasi  $\text{NH}_3$  yang lebih rendah dibandingkan dengan P3 (6,64 mM) yang mengandung tepung daun kaliandra sebesar 15% sebagai sumber tanin. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan asam miristat dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  pada pakan. Penambahan lemak pada pakan diketahui dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Penelitian dilakukan oleh Tiven *et al.*, (2012) dengan menggunakan minyak kelapa sawit mentah yang ditambahkan pada pakan ternak domba. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan minyak kelapa sawit mentah dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  pada ternak. Penambahan lemak pada ternak dapat menghambat kemampuan metabolisme mikroba, karena lemak pada pakan dapat menyelimuti tubuh mikroba sehingga mengganggu produksi enzim untuk mendegradasi pakan. pendapat ini didukung oleh penurunan populasi protozoa yang signifikan pada hasil akhir penelitian ini.

Penelitian dilakukan oleh Onetti *et al.*, (2001) dengan menggunakan jenis lemak dengan level yang berbeda yang diberikan pada ternak sapi perah dengan bahan pakan berupa silase jagung. Hasil penelitian tersebut menyatakan penambahan lemak pada pakan dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  tetapi tidak signifikan bahkan pada penambahan lemak 4% hasilnya sama dengan konsentrasi  $\text{NH}_3$  pakan kontrol tanpa penambahan lemak. Ainunisa, dkk., (2020) melakukan penelitian menggunakan CPO dengan konsentrasi 0%, 4%, 8%, 12% yang ditambahkan pada pakan ternak yang berupa rumput dan ampas tahu sebagai sumber protein tunggal pada pakan. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan CPO pada pakan dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  pada pakan. Penurunan konsentrasi  $\text{NH}_3$  oleh CPO disebabkan oleh protein pakan terlindungi oleh CPO dari proses fermentasi yang dilakukan oleh bakteri proteolitik. CPO merupakan jenis minyak yang memiliki sifat dapat berasosiasi dengan partikel

pakan sehingga pakan terselimuti oleh senyawa tersebut. Akibat dari terselimutinya partikel pakan oleh senyawa tersebut maka enzim proteolitik yang dihasilkan oleh bakteri tersebut sulit menembus protein pakan. Selain itu, minyak dapat menjadi racun bagi bakteri sehingga diduga bakteri rumen khususnya bakteri proteolitik pertumbuhannya menjadi terhambat.

Pada P5 dengan penambahan tepung daun kaliandra 20% hasil konsentrasi  $\text{NH}_3$  lebih rendah dibandingkan dengan P2 yaitu 6,35 mMol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi  $\text{NH}_3$  dengan penambahan tepung daun kaliandra 20% dan asam miristat efektif menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  pada pakan. Hasil penelitian ini sebanding dengan penelitian yang dilakukan oleh Ningrat *et al.*, (2016) dengan menggunakan tanin yang berasal dari daun gambir. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan tanin daun gambir pada pakan tidak berpengaruh nyata pada konsentrasi  $\text{NH}_3$  pada analisis ragam, tetapi dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ .

Tingkat degradabilitas protein pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi konsentrasi  $\text{NH}_3$  (Prayitno, Wahyono dan Pangestu, 2018). Suparwi, Santoso dan Samsi (2017) menyatakan bahwa macam bahan pakan, komposisi kimia bahan pakan dan fraksi karbohidrat nonstruktural dalam bahan pakan sangat mempengaruhi kadar  $\text{NH}_3$ . Dhia, Kamil dan Tanuwiria (2018) menyatakan tingginya konsentrasi  $\text{NH}_3$  secara tidak langsung menunjukkan bahwa semakin besar protein pakan yang didegradasi oleh mikroba rumen sehingga semakin besar pula protein yang terbuang. Suparwi, Santoso dan Samsi (2017) menambahkan bahwa tingginya konsentrasi  $\text{NH}_3$  disebabkan karena kadar protein kasar dan karbohidrat mudah larut.

Penurunan konsentrasi amonia pada penelitian ini disebabkan karena penambahan tanin yang berasal dari daun kaliandra dan asam miristat padapakan lengkap. Min *et al.*, (2003) menyatakan bahwa tanin dapat meningkatkan nilai manfaat pakan sumber protein melalui berkurangnya degradasi protein dalam

rumen. Hal ini akan menyebabkan lebih banyak asam amino (terutama asam amino esensial) yang tersedia untuk diserap di usus halus. Cahyani, Nurwantara, dan Subrata (2012) mengatakan bahwa tanin mampu menurunkan fermentabilitas akibat pembentukan ikatan kompleks tanin protein. Produksi amonia dipengaruhi oleh jumlah degradasi PK dalam rumen. Semakin tinggi degradasi PK dalam rumen akan meningkatkan produksi amonia, demikian pula sebaliknya dengan semakin rendahnya degradasi PK dalam rumen maka produksi amonia rumen menjadi menurun. Penelitian dilakukan oleh Abrar dan Fariani (2018) dengan menggunakan tanin dari tepung biji sorgum dengan konsentrasi tanin 0,15% yang digunakan pada rumput gajah secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menjelaskan bahwa penambahan tanin pada pakan dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Penelitian lain dilakukan oleh Jenny, Surono dan Christiyanto (2012) dengan menggunakan tanin dari ampas teh yang diberikan pada bungkil biji kapuk dengan konsentrasi tanin 0,25, 0,5, 0,75%. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan tanin ampas teh dapat menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Penurunan konsentrasi  $\text{NH}_3$  menunjukkan terjadinya penurunan degradabilitas protein bungkil biji kapuk oleh mikroba rumen. Hal ini terjadi karena ekstrak ampas teh mengandung tanin terkonsentrasi, yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein biji kapuk, sehingga menurunkan kelarutan protein bungkil biji kapuk dan menurunkan degradabilitasnya dalam rumen yang pada akhirnya akan menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$ .

Sintesis protein akan maksimal bila didukung dengan produksi amonia dalam rumen sebesar 4-12 mM (Cahyani, Nurwantara dan Subrata, 2012). Hasil penelitian penambahan tanin daun kaliandra dan asam miristat pada pakan lengkap berbasis jerami jagung memiliki kisaran konsentrasi  $\text{NH}_3$  6,77 – 6,35 mMol. Pada penelitian tersebut diketahui bahwa konsentrasi  $\text{NH}_3$  pada penelitian ini dapat memenuhi kebutuhan ternak untuk melakukan proses sintesis protein sehingga penambahan tanin dan asam miristat pada pakan menurunkan konsentrasi  $\text{NH}_3$

tetapi tidak mengganggu sintesis protein di dalam rumen.

Hasil analisis ESPM pada pakan lengkap berbasis jerami jagung pada penelitian ini menunjukkan perbedaan sangat nyata ( $P < 0,01$ ) pada perlakuan yang diberikan. Hasil analisis menyatakan bahwa nilai ESPM tertinggi terdapat pada P1 yaitu 70,21 g N/Kg BOTR dan nilai terendah didapatkan pada P3 51,47g N/Kg BOTR. Hasil P2 (67,05 g N/Kg BOTR) dengan penambahan asam miristat tanpa ada tepung daun kaliandra mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan P3-P3 dengan penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin. Menurut Schaefer, Davis dan Bryant (1980) menyatakan bahwa populasi bakteri yang lebih banyak didalam rumen akan memberikan kontribusi yang besar bagi sintesis protein mikroba.

Penelitian lain dilakukan oleh Suhartati (2005) dengan menggunakan daun lamtoro yang diproteksi dengan tanin, saponin dan minyak. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa penambahan tanin pada daun lamtoro mempunyai nilai SPM 145,4 mg/20 ml, dengan penambahan saponin mempunyai nilai 161,6 mg/20 ml dan dengan penambahan minyak mempunyai nilai 148,4 mg/20 ml. Semua hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan control yaitu 140 mg/20 ml. Hasil yang tinggi tersebut disebabkan karena daun lamtoro sebagai sumber protein (PK 20,5%) yang baik bagi mikroba meskipun mengalami proteksi. Karsli and Russell (2001) menyatakan pakan campuran hijauan dan konsentrat dapat meningkatkan sintesis protein mikroba karena mempunyai sinkronisasi pelepasan nutrisi yang lebih baik, lingkungan rumen yang lebih baik sehingga spesies bakteri yang hidup lebih beragam dan meningkatkan jumlah serat jenis substrat yang ada di dalam rumen.

Pathak (2008) menyatakan bahwa faktor yang dapat mempengaruhi sintesis protein mikroba adalah ketersediaan dan sinkronisasi antara energi dan senyawa N dalam rumen, sumber N juga harus mencakup asam amino dan peptide selain NPN. Waldi, Suryapratama dan Suhartati (2017) menambahkan

bahwa protein di sintesis dari lima unsur utama yaitu C, H, O, N dan S yang menyebabkan mikroba rumen dapat mensintesis asam amino penyusun sel tubuhnya dari karbohidrat, NPN setara sulfur organik maupun anorganik. Proses sintesis protein mikroba menjadi optimal apabila energi maupun bahan dasar yang dibutuhkan tersedia dalam jumlah yang seimbang dan memadai. Ani, Pujaningsih dan Widiyanto (2015) menyatakan bahwa pertumbuhan mikroba rumen membutuhkan amonia sebagai sumber kerangka karbon dan juga energi. Produk amonia tersebut dimanfaatkan kembali oleh mikroba rumen tergantung pada ketersediaan amonia didalam rumen. Mikroba rumen akan memanfaatkan Kembali amonia yang terbentuk untuk membangun sel tubuhnya. Selain amonia, peptida dan asam amino juga digunakan dalam sintesis protein mikroba. Karsli and Russell (2001) menyatakan efisiensi sintesis protein mikroba rata-rata adalah 14,8 dari kisaran angka 7 sampai 27,9 g MCP/ 100 g dari bahan kering yang dicerna didalam rumen. Menurut Sinclai *et al.*, (1995) menyatakan bahwa pakan dengan campuran hijauan dan konsentrat akan mempunyai nilai efisiensi sintesis protein mikroba yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian pakanhijauan saja.

NRC (1996) dalam Karsli and Russell (2001) menyatakan efisiensi sintesis protein mikroba akan rendah pada ternak yang diberikan pakan konsentrattinggi karena akan mengganggu kestabilan pH rumen (pH menjadi turun) serta pakan ternak yang diberik pakan hijauan berkualitas rendah juga dapat menurunkan efisiensi sintesis protein mikroba karena pencernaan karbohidrat yang lambat. Selain itu, menurut Beever and Cottrill (1994) menyatakan bahwa rasio degradasi nitrogen (N) terhadap BO didalam rumen sangat bervariasi. 10 sampai 70 g N/Kg BO adalah rendah dan nilai optimal pada sintesis protein mikroba adalah 30 sampai 40 g N/Kg BO. Hal ini menunjukkan bahwa didalam rumen, ada saat periode mikroba kekurangan pasokan N untuk melakukan sintesis protein dan ada saat periode mikroba kelebihan pasokan N untuk sintesis protein. Kelebihan pasokan N berkaitan dengan ketersediaan energi di dalam rumen, yang hal ini

dapat mengganggu metabolisme mikroba dan efisiensi. Huber and Kung (1961) menyatakan bahwa faktor yang membatasi penggunaan NPN adalah ketersediaan sumber energi. Sintesis mikroba N akan tinggi ketika karbohidrat nonstruktural yang tersedia di ruminansia dikombinasikan dengan protein yang tersedia pula, dan sintesis mikroba N rendah ketika karbohidrat nonstruktural yang tersedia tidak diimbangi oleh ketersediaan protein.

Penelitian dilakukan oleh Anantasook *et al.*, (2013) dengan menggunakan senyawa sekunder tanaman yang dikombinasikan dengan minyak sawit yang diberikan pada pakan ternak perah. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa pakan kontrol mempunyai nilai efisiensi protein mikroba sebesar 26,9 g/Kg OMDR, hasil tersebut paling rendah jika dibandingkan dengan pakan dengan penambahan senyawa sekunder tanaman dan minyak sawit serat kombinasinya. Hasil tertinggi didapatkan pada perlakuan dengan menggunakan senyawa sekunder tanaman yaitu 31,9 g/Kg OMDR. Pakan dengan penambahan minyak sawit mempunyai nilai estimasi sintesis protein mikroba sebesar 27,1 dan kombinasinya mempunyai nilai estimasi protein mikroba sebesar 30,4 g/Kg OMDR. Penelitian dilakukan oleh Pilajun dan Wanapat (2011) dengan menggunakan minyak kelapa, kulit manggis dan campuran keduanya yang disuplementasikan pada pakan ternak ruminansia. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa pakan kontrol mempunyai nilai estimasi sintesis protein mikroba sebesar 23,9 g N/Kg OMDR, hasil tersebut lebih rendah daripada hasil penambahan minyak kelapa yaitu mempunyai nilai efisiensi 30,8 g N/Kg OMDR, hasil ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penambahan kulit manggis yaitu 26,6 g N/Kg OMDR. Hasil efisiensi tertinggi pada penelitian ini yaitu dengan kombinasi antara minyak kelapa dan kulit manggis yaitu 33,5 g N/Kg OMDR. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan kombinasi antara tanin yang berasal dari kulit manggis dan minyak kelapa dapat meningkatkan efisiensi sintesis protein mikroba.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, yaitu penambahan tepung daun kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) sebagai sumber tanin dan asam lemak tunggal berupa asam miristat pada pakan lengkap berbasis jerami jagung secara *invitro*, dapat disimpulkan bahwa:

1. Penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin dan asam lemak tunggal berupa asam miristat pada pakan lengkap berbasis jerami jagung mampu menurunkan produksi gas, konsentrasi gas metan, populasi protozoa, konsentrasi VFA, NH<sub>3</sub> dan ESPM.
2. Penambahan tepung daun kaliandra sebagai sumber tanin dan asam miristat sebagai asam lemak tunggal terbaik pada penelitian ini adalah P4 yaitu pakan lengkap (40% jerami jagung + (45% konsentrat+ 15% tepung Kaliandra)) + asam miristat 30 g/Kg BK dengan total produksi gas yang rendah, konsentrasi gas metan yang rendah dan NH<sub>3</sub> yang dapat memenuhi kebutuhan ternak.

#### 6.2 Saran

Berdasarkan penelitian diatas, maka disarankan untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pemberian pakan dengan penambahan tepung daunkaliandra dan asam miristat pada ternak untuk lebih mengetahui produktifitas ternak secara akurat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdurachman dan Askar S. 2001. Teknik Penyimpanan Cairan Rumen Untuk Analisis Amonia. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Abqoriyah, R. Utomo dan B. Suwignyo, 2015. Produktivitas Tanaman Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) sebagai Hijauan Pakan pada UMur Pemotongan yang Berbeda. Buletin Peternakan. 39(2): 103-108.
- Addisu, S.2016. Effect of Dietary Tannin Source Feed on Ruminal Fermentation and Production of Cattle, A. Review. Journal of Animal and Feed Reserch.6(2):45-56.
- Ainunisa, N., M. B. Rapsanjani, A. R. Tarmidi dan I. Hernawan. 2020. Proteksi Protein Ampas Tahu dengan Crude Palm Oil (CPO) terhadap Degradasi Mikroba Rumen. Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis. 7(2): 147-151.
- Akinfemi, A., Adesanya, A. O. and Aya, V. E. 2009. Use of an *In vitro* Gas Production Technique to Evaluate Some Nigerian Feedstuffs. American-Eurasian Journal of Scientific Reserch.4(4):240-245.
- Alfaafa, J., Suryahadi, A. Sofyan, H. A. Sukria and L. Istiqomah.2019. Effect of Tannin Supplementation from Uncaria Gambir Extract on Rumen Fermentation, Microbial Protein and *In Vitro* Gas Production. IOP Publishing. 1-5.
- Amri, U. dan Yurleni. 2014. Efektivitas Pemberian Pakan yang Mengandung Minyak Ikan dan Olahan Terhadap Fermentasi Rumen Secara In Vitro. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan. 17(1): 22-31.
- Anantasook, N., M. Wanapat, A. Cherdthong and P. Gunun. 2013. Effect of Plant Containing Secondary Compounds with Palm Oil on Feed Intake, Digestibility, Microbial Protein Synthesis and Microbial Population in dairy Cows. Asian Australas. J. Anim. Sci. 26(6): 820-826.
- Ani, A. S., R. I. Pujaningsih dan Widiyanto. 2015. Perlindungan Protein Mengandung Tanin dan saponin terhadap daya Fermentasi Rumen dan Sintesis Protein Mikroba. Jurnal Veteriner. 16(3): 439-447.
- Anggraeny, Y. N., U. Umiyasih dan D. Pamungkas. 2005. Pengaruh Suplementasi Multinutrien terhadap Performans Sapi Potong yang Memperoleh Pakan Basal Jerami Jagung. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Anggraeny, Y. N., T. A. Sulistya dan Y. widyaningrum. 2019. Pengaruh Ekstrak Daun *Paraserianthes Falcataria* dan Tanin Daun *Samanea Saman* Terhadap Produksi Gas Rumah Kaca dan Karakteristik Fermentasi Rumen Secara *In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. P. 101-109.
- Anonim. 2006. Emission from Livestock and Manure Management. Guidelines for Nasional Greenhouse Gas Inventories. Chapter 10.



- Anonim. 2018. Statistik Peternakan dan Kedokteran Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan: Kementerian Pertanian RI.
- Anonim. 2019. Direktorat Jendral Perkebunan. Sekretariat Direktorat Jenderal Perkebunan. Kementerian Pertanian.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 14. Thed. Association of Analytical Chemist. Washington.
- Atkinson, R.L., Toone, C.D., Ludden, P.A., 2007. Effects of Supplemental Ruminally Degradable Protein Versus Increasing Amounts of Supplemental Ruminally Undegradable Protein on Site and Extent of Digestion and Ruminal Characteristics in Lambs Fed Low-Quality Forage. *J. Anim Sci.* 85:3322–3330.
- Bahar, S. 2016. Teknologi Pengelolaan Jerami Jagung untuk Pakan ternak Ruminansia. *Buletin Pertanian Perkotaan.* 6(2): 25-32.
- Bachruddin, Z.1996. Pengukuran pH dan Asam Lemak Terbang (Vollatil Fatty Acid - VFA) Cairan Rumen dengan Gas Khomatografi (Kursus Singkat Teknik Evaluasi Pakan Ruminansia). Fakultas Peternakan: Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Bauman, D. E., J. W. Perfield, M. J. De Veth and A. L. Lock. 2003. New Perspective on Lipid Digestion and Metabolism in Ruminant. *Proc. Cornell Nutr Conf.* 175-189.
- Bhatta, R., Y. Uyeno, K. Tajima, A. Takenaka, Y. Yabumoto, I. Nonaka, O. Enishi and M. Kurihara. 2009. Different in The Nature of Tannins on In Vitro Ruminal Methane and Volatil Fatty Acid and on Methanogenic Archaea andProtozoa Population. *J. Dairy Sci.* 92: 5512-5522.
- Beauchemin, K.A., Mc Ginn, S. M., Martinez, T. F., and Mc Allister, T, A.2007.Use of Condensed Tannin Extract from Quebracho Tress to Reduce Methane Emission from Cattle.*Journal of Animal Science.*10:1-25.
- Beauchemin, K. A., M. Kreuzer, F. O'Mara and T. A. McAlister. 2008. Nutritional Management for Enteric Methane Abatement: A Review. *Aus. J. Agric.* 48: 21-27.
- Beigh, Y. A., Ganai, A. M., dan Ahmad, H. A. 2017. Prospect of Complete Feed System in Ruminant Feeding. A Review. *Veterinary Word.* 10(4): 424-437.
- Beever and Cottrill.1994. Protein Systems for Feeding Ruminant Livestock: A European Assessment. *J. Dairy Sci.* 77: 2031-2943.
- Buharman, B. 2011. Pemanfaatan Teknologi Pakan Berbahan Baku Lokal Mendukung Pengembangan Sapi Potong di Provinsi Sumatera Barat. *Wartazoa.* 21(3): 133-145.
- Black, J. L. and P.A. Kenney. 1984. Factors Affecting Diet Selection by Sheep. II Height and Desity of Pasture. *Austral. J. agric. Res.* 35:565-578.
- Blumel, M., B. Steingas and K. Becker. 1997. The Relationship Between In vitro Gas Production, In vitro Microbial Biomass Yield and Incorporation and its Implication for the Prediction of Viluntary Feed Intake of Roughages. *Britis Journal of Nutrition.* 77(1): 911-921.

- Dayyani, N., Karkudi, K., dan Zakerian, A. 2013. Special Rumen Microbiology. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(11): 1397-1402.
- Dhia, K. S., K. A. Kamil, U. H. Tanuwiria. 2019. Kecernaan dan Fermentabilitas Substrat Kombinasi Mineral – Fungi dalam Rumen. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 7(2): 217-222.
- Cahyani R.D, L.K Nuswantara, dan A. Subrata. 2012. Pengaruh Proteksi Protein Tepung Kedelai dengan Tanin Daun Bakau terhadap Konsentrasi Amonia, Undegraded Protein dan Protein Total secara *In vitro* (The Effect of Soy Meal Protein Protection by Mangrove Leaf Tannin on Ammonia Concentration, Rumen Undegraded Dietary Protein and Total Protein *In vitro*). *Animal agricultural journal*. 1(1):159-166.
- Chuzaemi, S. 2012. Fisiologi Nutrisi Ruminansia. Universitas Brawijaya Press. Malang
- Chuzaemi, S., Soebarinoto, Mashudi dan P. H. Ndaru. 2021. Ilmu Gizi Ruminansia. Media Nusa Creative. Malang
- Duarte, E. R. F. O. Abrao, I. C. O. Ribeiro, E. A. Vieira, A. C. Nigri, K. L. Ailva, G. F. V. Junior, S. M. P. Barreto and L. C. Geraseev. 2018. Rumen Protozoa of Different Ages of Beef Cattle Raised in tropical Patuses During the Dry Season. *Journal of Applied animal Reserch*. 46(1): 1457-1461.
- Firsoni dan E. Lisanti. 2017. Potensi Pakan Ruminansia dengan Penampilan Produksi Gas Secara *In vitro*. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 19 (3): 136- 144.
- Fitriani. 2017. Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Pakan Komplit Berbasis Tongkol Jagung dengan Penambahan Azola Sebagai Pakan Ruminansia. *Jurnal Galung Tropika*. 6(1): 12-18.
- Fратиwi, Y. 2015. The Potential of Guava Leaf (*Psidium Guajava L.*) for Diarrhea. *J Majority*. 4 (1): 113-119.
- Frutos, P., Raso, M., Hervas, G., Mantecon, A. R., Perez, V., Giraldez. F. J. 2004. Is There Any Detrimental Effect When A Chestnut Hydrolyzable Tannins Extract is Included in The Diet of Finishing Lambs. *Anim Res* 56:127-136.
- Getachew, G., M. Blummel, H. P. S. Makkar and K. Becker. 1998. In Vitro Gas Measuring Techniques for assessment of Nutritional Quality of Feeds: A Review. *Anim. Feed Sci. Technol*. 72: 261-281.
- Getachew, G., G. M. Croveto, M. Fondevila, U. Krishnamoorthy, B. Singh, M. Spanghero, H. Steingass, P.H. Robinson, M.M. Kailas. 2002. Laboratory Variation of 24 H *in vitro* Gas Production and Estimated Metabolizable Energy Values of Ruminant Feed. *Animal Feed Science and Technology*. 102 (1): 169-180.

- Gemeda, B. S. and Hassen, A. 2015. Effect of Tannin and Species Variation on *In vitro* Digestibility, Gas and Methane Production of Tropical Browse Plant. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 28(2):188-199.
- Gogoi, J., K. Rajamanickam, V. Leela. 2018. Morphological Identification of Rumen Protozoal Population in domestic Ruminants of Chennai. *Journal of Veterinary Science and Technology.* 7(1): 12-16.
- Gonzales, A. R. C., M. E. B. Burraza, J. D. Viveros, and A. C. Martines. 2014. Rumen Microorganisms and Fermentation. *Arch. Med. Vet.* 46(1): 349-361.
- Hanim, C., L. M. Yusiati, dan S. Alim. 2009. Effect of Saponin as Defaunating Agent on *In Vitro* Ruminal Fermentation of Forage and Concentrate. *J. Pengembangan Peternakan Tropis.* 34: 231-235.
- Hartono, E. S. dan Silitonga, R. F. 2018. Ekstraksi Asam Miristat Asal Biji Pala (*Myristica fragrans houtt*) dan Limbah Industri Olahannya. *Journal of Agro-based Industry.* 35(1): 38-45
- Hasan, S., A. Mujnisa, P. I. Khaerani, Sema and A. Natsir. 2020. Potential of Complete Feed Formulated from Local Raw Materials on Beef Cattle Performance. *Eurasian Journal of Bioscience.* 14: 1-6.
- Harvatine, K, J. and M. S. Allen. 2005. The Effect of Production Level on Feed Intake, Milk Yield, and Endocrine Responses to Two Fatty Acid Supplements in Lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 88: 4018-4027.
- Hayati, E. K, A. G. Fasyah dan L. Sa'adah. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurnal Kimia.* 4 (2): 193-200.
- Haryanto, B dan A. Thalib. 2009. Emisi Metana dari Fermentasi Entrik: Kontribusinya secara Nasional dan Faktor Faktor yang Mempengaruhinya pada Ternak. *Wartazoa.* 19(4). 157-166.
- Hegarty, R. S. 1999. Reducing Rumen Methane Emissions Through Elimination of Rumen Protozoa. *Aust. J. Agric.* 50:1321-1328.
- Hidratiningrum, N., M. Bata dan S. A. Santosa. 2011. Produk Fermentasi Rumen dan Produksi Protein Mikroba Sapi Lokal yang Diberi Pakan Jerami Amoniasi dan Beberapa Bahan Pakan Sumber Protein. *Agripet.* 11(2): 29-35.
- Huber J. T. and L. Kung Jr. 1961. Protein and NonProtein Nitrogen Utilization in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 64: 1170-1178.
- Indriani N, T.R Sutardi, dan Suparwi. 2013. Fermentasi Limbah Soun dengan Menggunakan *Aspergillus niger* ditinjau dari Kadar Volatile Fatty Acid (VFA) Total dan Amonia (NH<sub>3</sub>) Secara *In vitro*. *Jurnal Ilmian Peternakan.* 1(3):804-812.
- Irina, I., Oleynikova, A. K. Ulyana, M. A. Tomilova, and G. M. Shaidorova. 2019. Prospects for The Use of "Protected Fats" in cattle feed Additive. *Eurasian Journal of Bioscience.* 13(1): 987-991.

- Ishak, A. B. L., M. Takdir dan Wardi. 2019. Estimasi Emisi Gas Rumah Kaca (GRK) dari Sektor Peternakan Tahun 2016 di Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 21(1): 51-58.
- Jayanegara, A., S. Tjakradidjaja dan T. Sutardi. 2006. Fermentabilitas dan Kecernaan *In Vitro* Ransum Limbah Agroindustri yang Disuplementasi Kromium Anorganik dan Organik. *Media Peternakan*. 56:54-62.
- Jayanegara, A. 2008. Reducing Methane Emissions from Livestock: Nutritional Approaches. *Proceedings of Indonesian Student Scientific Meeting (ISSM), Institute for Science and Technology Studies (ISTECS) European Chapter 13-15 May 2008, Delft, the Netherlands:18-21.*
- Jayanegara, A. dan A. Sofyan. 2008. Penentuan Aktivitas Tanin Beberapa Hijauan secara *in vitro* dengan Menggunakan 'Hohenheim Gas Test' dengan Polietilen Glikol sebagai Determinan. *Media Peternakan*.31(1): 44- 52.
- Jayanegara, A. 2008d. Methane Reduction Effect of Polyphenol Containing Plants, Simple Phenols and Purified Tannins in *In Vitro* Rumen Fermentation System. Master Thesis. University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Jayanegara, A., A. Sofyan, H. P. S. Makkar, dan K. Becker. 2009. Kinetika Produksi Gas, Kecernaan Bahan Organik dan Produksi Metana *In vitro* Pada Hay dan Jerami yang Disuplementasi Hijauan Mengandung Tanin. *Media Peternakan*. 32(2): 120-129.
- Jayanegara, A., Ikhsan and T. Toharmat. 2013. Assessment of Methane Estimation from Volatile Fatty Acid Stoichiometry in The Rumen *In Vitro*. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric*. 38(2): 103-109.
- Jordan, E., Kenny, D., Hawkins, M., Malone, M., Lovett, D. K. and O'Mara, F. P. 2006. Effect of Refined Soy Oil or Whole Soybeans on Intake, Methane Output, and Performance of Young Bulls. *J. Anim. Sci*. 84:2418-2428.
- Jenny, I., Surono dan M. Christiyanto. 2012. Produksi Amonia, Undegraded Protein dan Protein Total secara *In Vitro* Bungkil Biji Kapuk yang Diproteksi dengan Tanin Alami. *Animal Agricultural Journal*. 1(1): 277-284.
- Karim, I.I. 2014. Kandungan ADF, NDF, Selulosa, Hemiselulosa dan Lignin Silase Pakan Komplit Berbahan Dasar Jerami Padi dan Beberapa Level Biomassa Murbei (*Morus alba*). Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar.
- Karsli, M. A. and J. R. Russell. 2001. Effect of Some Dietary Factors on Ruminant Microbial Protein Synthesis. *Turk J. Vet. Aanim. Sci*. 25(1): 681- 686.
- Kurniawati, A. 2007. Teknik Produksi Gas *In-vitro* untuk Evaluasi Pakan Ternak. Volume Produksi Gas dan Kecernaan Bahan Pakan. *J. Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 3 (1): 40-49.
- Karto, A. P. Kusumadewi. Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu Pengeringan Terhadap Kadar Tanin Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia Lamk.*). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 1(1): 38-47.
- Karsli, M. A. 2000. Effect of Some Dietary Factors on Ruminant Microbial Protein Synthesis. *Turk. J. Vet. Anim Sci*. 25: 681-686.

- Kumar, S., Choudhury, P. K., Dolores Carro, M., Griffith, G. W., Dagar, S. S., Puniya, M., Puniya, A. K. 2014. New aspects and strategies for methane mitigation from ruminants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(1), 31-44.
- Lawa, E. D. W., Marjuki, Hartutik and Chuzaemi, S..2017. Effect of White Kabesak (*Acacia Leucophloea* RoxB) Leaves Level in the Diet on Feed Intake and Body weight Gain of Kacang Goat. *JITAA*.42(2).255-262.
- Lawa, E. D. W., Chuzaemi, S. Hartutik and Marjuki.2020. white Kabesak (*Acacia Leucophloea* RoxB) Leaves Utilization in Concentrate on Fermentation Product and *In Vitro* Gas Prduction. *Journal of Tropical Life Science*. 10(3):235-241.
- Legrand, P and Rioux, V. 2010. The Complex and Important Cellular and Metabolic Fuctions of Saturated Fatty Acid. *AOCS*. 45: 941-946.
- Machmuller, A. dan M. Kreuzer. 1997. Methane Suppression by Coconut Oil and associated Effect on Nutrient and energy Balance in sheep. *Canadian Journal of Animal Science*. 6(94): 65-79.
- Machmuller A, Ossowski DA, Kreuzer M.2000. Comparative Evaluation of The Effects of Coconut Oil, Oilseeds and Crystalline Fat on Methane Release, Digestion and Energy Balance in Lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 85: 41–60.
- Macqueen, D. J. 1993a. Calliandra series Racemosae: Taxonomic information, OFI seed collections, trial design. Oxford Forestry Institute. Oxford, UK. <http://www.nzdl.org/gsd/mod?e=d-00000-00---off-0hdl--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-en-50---20-about---00-0-1-00-0--4 ---0-0-11-10-0utfZz-8-00&a=d&c=hdl&cl=CL1.3&d=HASH01c80496ecbd184652a2bf98.11>
- Makkar, H. P. S., Blummel, M., and Becker, K. 1995. Formation of Complexes Between Polyvinyl Dones on Pholythilene Glicoses and Tanin and their Implication in Gas Production and True Digestibility. *In Vitro Technques. British Journal of Nutrition* (1995). 73: 893-913.
- Makkar, H. P. S. 2003. Effect and Fate of Tannins in Ruminant Animal, Adaptation to Tannins, and Strategies to Overcome Detrimental Effect of Feeding Tannin-Rich Feeds. *Small Ruminant Reserch*. 49: 241-256.
- Makkar, H. P. S. 2001. Aplication of The In vitro Gas Method in The Evaluatiion of Feed Resources and Enhancement of Nutritional Value of Tannin-Rich Tree/Browse Leaves and Agro-Industrial by-Products. *Animal Production and Healt Section*.1 (1): 23-42.
- Makkar, H. P. S., G. Francis and K. Becker. 2007. Bioactivity of Phytochemicals in Some Lesser Know Plant and Their Effect and Potential Application in Livestock and Aqualculture Production Systems. *Animal* 1: 1371-1391.
- Ma'rifatunnisa, S., U. H. Tanuwiria, I. Hernaman. 2015. Pengaruh Pergantian Rumput Lapang oleh Limbah Penyulingan Daun Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi* Powell) pada Ransum Sapi Potong Terhadap Konsentrasi NH<sub>3</sub> dan VFA *In vitro*. Alumni Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Tahun 2015.

- Maruapey, A. 2012. Pengaruh Pupuk Kalium terhadap Pertumbuhan dan Produksi Produksi Berbagai Jagung (*Zea Mays Ceratina. L*). Jurnal Ilmian Agribisnis dan Peikanan. 5(2): 33-46.
- Martin, C., M. Doreau, D. P. Morgavi. 2008. Methan Mitigation in Ruminants: from Rumen Microbes to Animal. Livestock and Global Climate Change Conference, Hammamet, Tunisia.
- Maulinda, L., Z. A. Nasrul dan Nurbaity. 2017. Hidrolisis Asam Lemak dari Buah sawit sisa sortiran. Jurnal teknologi Kimia. 6(2): 1-15.
- Mayangsari N. S., A. Subrata dan M. Christiyanto. 2013. Pengaruh Proteksi Protein Ampas Kecap dengan Tanin Terhadap Konsentrasi Amonia, Produksi Protein Total dan Pesentase Rumen Undegraded Dietary Protein secara *In-vitro*. Animal Agriculture Journal. 2 (1): 261-268.
- Mawar, Wiryawan, I. K. G., dan Suharti, S. 2018. Karakteristik Fermentasi Rumen dan Keseimbangan Nitrogen Domba yan Diberi Minyak Kanola Murni dan Terenkapsulasi. Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis. 6(3): 358-366.
- McAllister, T. A., T. Martinez, H. D. Bae, A. D. Muir, L. J. Yanke, and G. A. Gones. 2005. Characterization of Condensed Tannins Purified from Legume Forages: Chromophore Production, Protein Precipitation and Inhibition of Cellulose Digestion by Fibrobacter Succinogens. J. Chem. Ecol. 31:2049-2068.
- Mc Sweeney, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial Interactions with Tannins: Nutritional Consequences for Ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 91: 83-93.
- Min, B. R., G. T. Attwood, K. Reilly, W. Sun, J. S. Peters, T. N. Barry, & W. C. McNabb. 2002. *Lotus Corniculatus* Condensed Tannins Decrease *In vivo* Populations of Proteolytic Bacteria and Effect Nitrogen Metabolism in The Rumen of Sheep. Can. J. Microbiol. 48: 911-921.
- Min, B. R., T. N. Barry, G. T. Attwood and W. C. McNabb. 2003. The Effect of Condensed Tannin on the Nutrition and Health of Ruminants Fed Fresh Temperate Forages: A review. Anim Feed Sci and Tech. 106:3-19.
- Mizeck, G., G. Chagunda, J. F. Flockhart and D. J. Roberts. 2010. The effect of Forage Quality on Predicted Enteric Methane from Dairy Cows. International Journal of Agricultural Sustainability. 8(4).
- Muchlas, M., S. Chuzaemi and Mashudi. 2020. Evaluation of Chemical Composition and Lipid Components in Maize Straw Based Complete Feed Diets Supplementation by Condensed Tannin and Myristic Acid. IOP Conf. Series. Materials Science and Engineering 811.
- Muchlas, M., S. Chuzaemi and Mashudi. 2020. Evaluation of Nutrient Connect and In Vitro Gas Production of Complete Feed Based on Corn Stover (*Zea mays*) Supplemented by Mimosa Powder and Myristic Acid. Livest. Anim. Res. 18(2): 191-199.

- Mukharji, T., A. Srivastava, M. Srivastava. 2014. An In Vitro Trial to Study the Effect of Inclusion of Different Levels of Coconut Oil on Sheep rumen Methanogenesis and Fermentation Processes. *UK J Pham and Biosci.* 2(6): 49-59.
- Muhadjir, F. 2018. Karakteristik Tanaman Jagung. Balai Penelitian Tanaman pangan Bogor.
- Muslim, G., J.E. Sihombing, S. Fauzan, A. Abrar dan A. Fariani. 2014. Aktivitas Proporsi Berbagai Cairan Rumen dalam Mengatasi Tannin dengan Teknik *In Vitro*. *Jurnal Peternakan Sriwijaya.* 3(1): 25-36.
- Muslimah, A. P., R. Istiawati, A. Budiman, B. Ayuningsih dan I. Hernawan. 2020. Kajian *In Vitro* Ransum Sapi Potong yang Mengandung Bungkil Tengkawang Terhadap Fermentabilitas dan Kecernaan. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu.* 8(1): 21-26.
- Morgavi, D. P., E. Forano, C. Martin and C. J. Newbold. 2010. Microbial Ecosystem and Methanogenesis in Ruminants. *Animal.* 4(7): 1024-1036.
- Moss, A. R., Journy, J. P., Newbold, J. 2000. Methane Production by Ruminants: Its Contribution to Global Warming. *Ann. Zootech.* 49: 231-253.
- Mosoni, P., C. Martin, E. Forano, and G. V. Morgavit. 2011. Long-term Defaunation Increased the Abundance of Cellulolytic Ruminococci and Methanogens but does not Affect The Bacterial and Methanogen Diversity in The Rumen of Sheep. *J. Anim. Sci.* 89:783-791.
- Ningrat, R. W. S., M. Zain, Erpomen and H. Suryani. 2017. Effect of Doses and Different Sources of Tannins on *In Vitro* Ruminal Methane, Volatile Fatty Acids Production and in Bacteria and Protozoa Populations. *Asian Journal of Animal Science.* 11(1): 47-53.
- Ngamsaeng, A., Wanapat. M. 2006. Evaluation of Local Tropical Plants By In Vitro Rumen Fermentation and Their Effects on Fermentation End- Products. *ResearchGate.* 1-25.
- Ngwa AT, Nsahlai IV, Iji PA, 2002. Effect of Supplementing Veld Hay with A Dry Meal or Silage from Pods of *Acacia Sieberiana* with or without Wheat Bran on Voluntary Intake, Digestibility, Excretion of Purine Derivatives, Nitrogen Utilization and Weight Gain in South African Merino sheep. *Live. Prod. Sci.* 77:253–264.
- NRC. 1996. Nutrient Requirement of Beef Cattle. Fifth Revised Edition. National Academy of Science. Washington, D.C.
- Odongo, N. E., Or-Rashid, M. M., Kebreab, E., France, J. and McBride, B. W. 2007. Effect of Supplementing Myristic Acid in Dairy Cow Rations on Ruminal Methanogenesis and Fatty Acid Profile in Milk. *J. Dairy Sci.* 90:1851-1858.
- O'Donovan, and Brooker J. D., 2001. Effect of Hydrolysable and Condensed Tannins on Growth, Morphology and Metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (*S. caprinus*) and *Streptococcus bovis*. 147:1025-1033.
- Oliveira, S. G. D., Berchielli, T. T., Pedreira, M. D.S., Primavesi, O., Frighetto, R. And Lima, M. A. 2007. Effect of Tannin Levels in Sorghum Silage and Concentrate Supplementation on Apparent Digestibility and Methane

- Emission in Beef Cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 135:236-248.
- Onetti, S. G., R. D. Shaver, M. A. McGuire, and R. R. Grummer. 2001. Effect of Type and Level of Dairy Fat on Rumen Fermentation and Performance of Dairy Cows Fed Corn Silage-Based Diets. *J. Dairy Sci.* 84:2751-2759.
- Oskov, E. R. and McDonald, Y. 1979. The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Determining the Digestibility of Feeds in the Rumen. *Journal Agricultural Science. Cambridge* 92: 499-593.
- Palmaquist, D. L. and Jenkins, T. C. 1980. Fat in Lactation Rations: Review. *J. Dairy sci.* 63: 1-14.
- Pamungkas, D., Mariyono, R. Antari dan T. A., Sulistya. 2013. Imbangan Pakan Serat dengan Penguat yang Berbeda dalam Ransum terhadap Tampilan Sapi Peranakan Ongole Jantan. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*:107-115.
- Pasue, I., E. J. Saleh dan S. Bahri. 2019. Analisis Lignin, Selulosa dan Hemiselulosa Jerami Jagung Hasil di Fermentasi *Trichoderma Viride* dengan Masa Inkubasi yang Berbeda. *Jambura Journal of Animal Science*. 1(2): 62-68.
- Patra, A. K. 2010. Meta Analyses of Effect of Phytochemicals on Digestibility and Rumen Fermentation Characteristics Associated with Methanogenesis. *J. Sci. Food Agric.* 90: 2700-2708.
- Pathak, A. K. 2008. Various Factors Affecting Mikrobial Protein Synthesis in the Rumen. *Veterinary Word*. 1(6): 186-189.
- Permana, H., S. Chuzaemi, Marjuki dan Mariyono. 2014. Pengaruh Pakan dengan Level Serat Kasar Berbeda Terhadap Konsumsi, Kecernaan dan Karakteristik VFA pada Sapi Peranakan Ongole. *Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya*.
- Pilajun, R., M. Wanapat. 2011. Effect of Coconut Oil and Mangosteen Peel Supplementation on Ruminal Fermentation, Microbial Population and Microbial Protein synthesis in swamp Buffaloes. *Livestock Science*. 141:148-154.
- Piluzza G, Sulasand L and Bullitta S. 2013. Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: areview. *John Wiley & Sons Ltd. Grass and Forage Science*. 69: 32-48.
- Pina, D.S., Valadares Filho, S.C., Tedeschi, L.O., Barbosa, A.M., Valadares, R.F.D. 2009. Influence of Different Levels of Concentrate and Ruminally Undegraded Protein on Digestive Variables in Beef Heifers. *J. Anim Sci.* 87:1058-1067.
- Prayitno, R. S., E. Wahyono dan E. Pangestu. Pengaruh suplementasi Sumber Protein Hijauan Leguminosa terhadap Produksi Amonia dan Protein Total Ruminansia secara *In Vitro*. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 20(2): 116-123.
- Puastuti. W. 2009. Manipulasi Bioproses dalam Rumen untuk Meningkatkan Penggunaan Pakan Berserat. *Wartazoa*. 19(4): 180-190.



- Puchala, R., B.R. Min, A.L. Goetsch and T. Sahlu. 2005. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.* 83: 182-186.
- Purbowati, E., E. Rianto, W. S. Dilaga, C. M. S. Lestari, dan R. Adiwiranti. 2014. Karakteristik Cairan Rumen, Jenis dan Jumlah Mikrobial dalam Rumen Sapi Jawa dan Peranakan Ongole. *Buletin Peternakan.* 38(1): 21-26.
- Purwanto, T. M. Bata dan s. Rahayu. 2019. Kadar VFA dan N-NH<sub>3</sub> Domba Lokal yang Diberi Pakan Mengandung Ekstrak Bunga Waru (*Hibiscus tiliaceus*) dengan Bahan Pembawa yang Berbeda Secara *In Vitro*. *Journal of Animal Science and Technology.* 1(2): 137-145.
- Pooli, D. N. Y., M. R. Waani dan A. F. Pendong. 2020. Kecernaan Protein Kasar dan Lemak Kasar pada sapi Perah Peranakan FH (Friesian Holstein) yang Diberi Pakan Lengkap Berbasis Tebon Jagung. *Zootec.* 40(2): 482- 492.
- Reynolds, C. K., and N. B. Kristensen. 2008. Nitrogen Recycling Through the Gut and The Nitrogen Economy of Ruminants: An Asynchronous Symbiosis. *J. Anim. Sci.* 86:293–305.
- Sajati, G. 2012. Pengaruh Ekstraksi dan Proteksi dengan Tanin Pada Tepung Kedelai Terhadap Produksi Gas Total dan Metan Secara *In vitro*. *Indonesia Jurnal Of Food Technology.* 1 (1): 39-55.
- Sasongko, W. T., L.M. Yusiati, Z. Bachruddin dan Mugiono. 2010. Optimalisasi Pengikatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumin. 34 (3): 154-158.
- Silanikove, N., A. Perevolotsky, and F. D. Provenza. 2001. Use of Tannin-Binding Chemicals to Assay for Tannins and Their Negative Post-Ingestive Effects in Ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 69-81.
- Sitoresmi, P. D., L. M. Yusiati dan H. Hartadi. 2009. Pengaruh Penambahan Minyak Kelapa, Minyak Biji Bunga Matahari dan Minyak Kelapa Sawit Terhadap Penurunan Produksi Metan di dalam Rumen Secara *In Vitro*. *Buletin Peternakan.* 33(2): 96-105.
- Setyawati, I., I. G. N. A. D. Putra, dan N. G. K. Roni. 2017. Histologi tubulus semeniferus dan kadar testosteron tikus yang diberi pakan imbuhan tepung daun kaliandra dan kulit nanas. *Jurnal Veteriner.* 18 (3) : 369-377.
- Sopiawati, T. dan T. A. Andriany. 2013. Pengukuran Gas Rumah Kaca dengan Gas Chromatography (GC) dan Infrared Gas Analyzer (IrGA). Balai Penelitian Lingkungan Pertanian (BALINGTAN).
- Sugoro, I dan I. Yuniarto. 2006. Pertumbuhan Protozoa dalam Cairan Rumen Kerbau yang Disuplementasi Tanin Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmu aplikasi Isotop dan Radiasi.* 2(2): 48-58.
- Suhartanto, B., R. Utomo, Kustantinah, I. S. Budisatria, L. M. Yusiati dan B. P. Widyobroto. 2014. Pengaruh Penambahan Formaldehid pada Pembuatan *Undegraded Protein* dan Tingkat Suplementasinya pada Pelet Pakan Lengkap terhadap aktivitas Mikrobial Rumen secara *In Vitro*. *Buletin Peternakan.* 38(3): 141-149.

- Suharti, S., A. R. Nasution, D. N. Aliyah dan N. Hidayat. 2015. Potensi Minyak Kanola dan Flaxseed terproteksi Sabun Kalsium untuk Mengoptimalkan Fermentasi dan Mikroba Rumen Sapi Potong Secara In Vitro. Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indov. 1(1):89-92.
- Suhartati, F. M. 2005. Proteksi Protein Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) menggunakan Taninn, Saponin, Minyak dan Pengaruhnya terhadap Ruminant *Undegradable Dietary Protein* (RUDP) dan Sintesis Protein Mikroba. Animal Production. 7(1): 52-58.
- Sukmawan, A., Liman, dan Erwanto. 2009. Pengaruh Penambahan Konsentrat dengan Kadar Protein Kasar yang Berbeda pada Ransum Basal terhadap Kecernaan Protein dan Kecernaan Serat Kasar Kambing Boerawa Pasca Sapih. Jurnal Universitas Lampung. 1-6.
- Suparwi, D. Santoso dan M. Samsi. 2017. Kecernaan bahan Kering dan Bahan Organik, kadar Amonia dan VFA Total *In Vitro* Suplemen Pakan Domba. Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers. 18 November 2017. Purwokerto.
- Suybeng, B., E. Charmley, C. P., Gardiner, B. S. M., Aduli and A. E. O. M., Aduli. 2019. Methane Emissions and the Use of Desmanthus in Beed Cattle Production in Nothern Australia, Review. Animal Journal.9(1): 2-18.
- Stefanut, L. C., L. ognean, S. Niculescu and P. Bolfa, 2015. Morphological Particularities of Population of Rumen Protozoa in Domestic Ruminants. Bulletin UASVM Veterinary Medicine. 72(1): 67-76.
- Stergiadis, S., M. Allen, X. J. Chen, D. Wills and T. Yan. 2015. Prediction of nutrient digestibility and energy concentrations in fresh grass using nutrient composition. Journal of Dairy Science.98(5): 3257–3273.
- Stewart, E. K.2018. Environmental and Animal Benefit when Beef Cattle Consume Condensed and Hydrolysable Tannins.Agriculture.01:1-4.
- Tambun, R., D. G. Ferani, A. Afrina, J. A. A. Tambun, I. dan A. A. Tarigan. 2019. Fatty Acid direct Production Palm Kernel Oil. Mater. Sci. Eng. 1-6.
- Tavendale, M. H., L. P. Meagher, D. Pacheco, N. Walker, G. T. Attwood and S. Sivakumaran. 2005. Methane production from *in vitro* rumen incubation with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Anim. Feed Sci. Technol. 123/124: 403-419.
- Thaariq, S. M. H. 2017. Pengaruh Pakan Hijauan dan Konsentrat Terhadap Daya Cerna pada Sapi Aceh Jantan. Genta Mulia. 3(2): 78-89.
- Tiven, N. C., L. M. Yusiati, Rusman and U. Santoso. 2012. Effect of Crude Palm Oil Protection on Fermentation Parameter and Rumen Microbial Activity of Male Local Lamb. Animal Production. 14(3): 141-146.
- Umiyah, U. dan E. Wina. 2008. Pengolahan dan Nilai Nutrisi Limbah Tanaman Jagung sebagai Pakan Ternak Ruminansia. Wartazoa. 18(3): 27-37.
- Usman, Y. 2013. Pemberian Pakan Serat Sisa Tanaman Pertanian (Jerami Kacang Tanag, Jerami Jagung, Pucuk Tebu) terhadap Evolusi pH, N-NH<sub>3</sub> dan VEA di dalam Rumen sapi. Agripet. 13(2): 53-58.

- Vlaming, J.B. 2008. Quantifying Variation in Estimated Methane Emission from Ruminants Using the SF6 Tracer Fechnique. A Thesis of Doctor of Phylosophy in Animal Science. Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Vogels, G. D. Hope, W. F. and Stumm, C. K. 1980. Association of Methanogenic Bacteria with Rumen Ciliates. *Applied and Environmental Microbiology*. 40(3):608-612.
- Wahyuni, I.M.D., Muktiani dan M. Cristianto. 2014. Penentuan Dosis Tanin dan Saponin untuk Defaunasi dan Peningkatan Fermentabilitas Pakan. *JITP*. 3 (3): 133-140.
- Waldi, L., W. suryapratama dan F. M. Suhartati. 2017. Pengaruh Penggunaan Bungkil Kedelai dan Bungkil Kelapa dalam Ransum Berbasis Indeks sinkronisasi Energi dan Protein terhadap Sintesis Protein Mikroba Rumen sapi Perah. *Journal of Livestock Science and Production*. 1(1): 1-12.
- Wattanaklang, B., Abrar, A., and Cherdthong, A. 2016. Nutritional Value of Fermentaed Maize Stover as Feed for Ruminant. *Jurnal Peternakan sriwijaya*. 5(1): 44-51.
- Widarta, i. W. R., A. A. I. S. Wiadnyani. 2019. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Aktivitas Antooksidan Daun Alpukat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 8(3):80-86
- Widyobroto B.P., S.P.S. Budhi dan A. Agus. 2007. Pengaruh Aras Undegraded Protein dan Energy Terhadap Kinetik Fermentasi Rumen dan Sintesi Protein Mikroba pada Sapi. *Journal Indonesian Tropic Animal Agriculture*. 32(3):194-200.
- Wina, E. Muetzel and Becker. 2005. The Impact of Saponin or Saponin-Contain Plant Materials on Ruminant Production- A Review. *J. Agric. Food Chem*. 53: 8093-8105.
- Wina, E dan I. W. R. Susana. 2013. Manfaat Lemak terproteksi untuk Meningkatkan Produksi dan Reproduksi Ternak Ruminansia. *WARTAZOA*. 23(4): 176-185.
- Yogianto, A. Sudarman, E. Wina and A. Jayanegara. 2014. Supplementation Effect of Tannon and Saponin Extracts to Diets with Different Forage to Concentrate Ratio on In Vitro Rumen Fermentation and Methanogenesis. *J.Indonesia Trop. Anim. Agric*. 39(3):144-151.
- Yanuartono., Nururrozi, A., Indarjulianto, S., dan Purnamaningsih, H. 2019. Peran Protozoa pada Pencernaan Ruminansia dan Dampak Terhadap Lingkungan. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*. 20(1): 16-28.
- Yost, W. M., J. W. Young, S, P, Schmidt and A. D. McGilladr. 1997. Gluconeogenesis in Ruminants: Propionic Acid Production from a High-Grain Diet Fed to Cattle. *J. Nutr*. 107: 2036-2043.

## Lampiran 1. Prosedur penetapan kadar bahan kering udara (AOAC, 1995)

Prosedur:

1. Kertas ditimbang (A g) dan ditambah sampel sebanyak 300-500 g, kemudian kertas + sampel ditimbang (B g).
2. Kertas dan sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60-70°C sampai diperoleh berat konstan.
3. Sampel dikeluarkan dari oven dan diangin-anginkan selama 2-3 jam kemudian ditimbang (C g). Hasil pengamatan dihitung berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Kadar BK udara} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan: A = Berat kertas (g)

B = Berat kertas + sampel sebelum dioven (g)

C = Berat kertas + sampel setelah dioven (g)

## Lampiran 2. Prosedur analisis kandungan Bahan Kering (BK) menurut petunjuk AOAC (1995)

### Prinsip

Pemanasan dengan suhu 105°C, air yang terkandung dalam suatu bahan pakan akan menguap seluruhnya. Bahan yang tertinggal setelah penguapan air disebut bahan kering.

### Alat – alat

1. Cawan porselin atau *alumunium disk (al-disk)*
2. Eksikator
3. Oven 105°C
4. Penjepit
5. Timbangan analitis

### Prosedur

1. Cawan porselin dimasukkan kedalam oven dan pada suhu 105°C selama 24 jam kemudian didinginkan ke dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang (a g).
2. Sampel sebanyak ±1 g dimasukkan kedalam cawan porselin dan ditimbang bersama-sama (b g).
3. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam dan setelah kering didinginkan dalam eksikator dan ditimbang kembali (c g).

Hasil pengamatan dihitung berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Kadar Air} = \frac{b - a}{c - a} \times 100\%$$

Kadar bahan kering = 100% - kadar air

Keterangan: a = berat cawan kosong (g)

b = berat cawan + sampel sebelum dioven (g)

c = berat cawan + sampel setelah dioven (g)

### Lampiran 3. Prosedur analisis kandungan Bahan Organik (BO) menurut petunjuk AOAC (1995)

#### Prosedur

1. Sampel dari analisis bahan kering dimasukkan kedalam tanur selama 4 jam pada suhu 600°C.
2. Tanur dimatikan dan dibiarkan agak dingin kemudian tanur dibuka lalu sampel diambil dan dimasukkan kedalam eksikator selama 30 menit, kemudian ditimbang (c g). Rumus yang digunakan adalah :

$$\text{kadar abu} = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

$$\% \text{Bahan Organik} = \frac{100\% - (\text{kadar abu})}{100} \times \text{BK}$$

$$\text{BO} = \% \text{BO} \times \text{BK}$$

Keterangan :  
a = berat cawan kosong (g)  
b = berat cawan + sampel sebelum dioven (g)  
c = berat cawan + sampel setelah ditanur (g)

#### Lampiran 4. Prosedur analisis kandungan Protein Kasar (PK) menurut petunjuk AOAC (1995)

##### Prinsip

Asam sulfat pekat dengan katalisator dapat memecah ikatan N organik dalam bahan makanan menjadi ammonium sulfat, kecuali ikatan N=N; NO; NO<sub>2</sub>. Ammonium sulfat dalam suasana basa akan melepaskan NH<sub>3</sub> yang kemudian disuling (destilasi). Hasil sulingan ditampung dalam *beaker glass* yang berisi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 yang telah diberi indikator campuran. Setelah selesai destilasi, larutan penampung di titrasi dengan NaOH 0,1 N.

##### Bahan kimia

1. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat
2. Katalisator
3. *Aquadest*
4. NaOH 40%
5. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N
6. Indikator (2 *gmethyl red* + *methyl blue* per liter etanol 96%)
7. NaOH 0,1 N
8. Batu didih

##### Alat-alat

1. Timbangan analitis
2. Labu *Kjeldahl*
3. Dispenser atau gelas ukur 5 ml
4. *Erlenmeyer* 300 ml
5. *Beaker glass* 300 ml
6. Alat Destilasi
7. Buret 50 ml
8. Pipet

## Prosedur

### 1. Destruksi

- a. Ditimbang kertas minyak, misal berat a g. Diambil sampel kira-kira 0,3 g untuk bahan yang mengandung protein rendah atau 0,2 g untuk bahan yang mengandung protein tinggi, tuangkan dalam kertas minyak dan timbang kembali, misal berat b g. Masukkan sampel (tidak dengan kertas minyak) dalam labu *kjeldahl*.
- b. Ditambahkan 1,4 g katalisator dan batu didih kemudian tambahkan 5 ml  $H_2SO_4$  pekat (didalam lemari asam) dengan menggunakan dispenser.
- c. Didestruksi sampai warna hijau. Biarkan menjadi dingin.
- d. Ditambahkan 60 ml *aquadest* (dibagi 4 kali), kocok dan masukkan larutan kedalam *erlenmeyer* 300 ml.

### 2. Destilasi

- a. *Beaker glass* diisi  $H_2SO_4$  0,1 N sebanyak 25 ml dengan menggunakan dispenser. Lalu ditambahkan 3 tetes indikator *mix*, warna menjadi ungu. Kemudian diletakkan *beaker glass* dibawah alat destilasi (ujung alat destilasi harus masuk kedalam cairan penampungan, agar tidak ada  $NH_3$  yang hilang).
- b. Untuk destilasi, ditambahkan 20 ml NaOH 40% dalam *erlenmeyer*. Hasil dstruksi Kemudian segera dipasang alat destilasi (agar tidak ada  $NH_3$  yang hilang).
- c. Destilasi dihentikan apabila volume larutan dalam *erlenmeyer* sudah 100 ml.

### 3. Titrasi

- a. *Beaker glass* yang berisi hasil silangan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna berubah menjadi hijau jernih. Misal jumlah NaOH untuk titrasi c ml.
- b. Kemudian dibuat blanko dengan cara yang sama tetapi tidak memakai sampel (misal titrasi perlu d ml NaOH 0,1 N). Perhitungan:



$$\text{Protein Kasar} = \frac{(d - c) \times n \text{ NaOH} \times 0,014 \times 6,25}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = Berat kertas minyak

b = Berat kertas minyak dan sampel

c = Berat NaOH untuk titrasi sampel

d = Jumlah NaOH untuk titrasi blanko

## Lampiran 5. Prosedur analisis kandungan Serat Kasar (SK) menurut petunjuk AOAC (1995)

### Prinsip

Serat kasar merupakan senyawa yang tidak larut jika direbus berturut-turut dalam larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,3 N selama 30 menit dan NaOH 1,5 N selama 25 menit. Tujuan penambahan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  untuk menguraikan senyawa N dalam pakan, penambahan NaOH untuk menguraikan / penyabunan senyawa lemak dalam pakan sehingga mudah larut. Sisa bahan pakan yang tidak dicerna setelah proses perebusan kemudian ditimbang dan diabukan. Perbedaan berat residu pertama dan berat residu setelah diabukan menunjukkan jumlah serta yang terdapat suatu bahan pakan.

### Bahan kimia:

1.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,3 N
2. HCl 0,3 N
3. NaOH 0,1 N
4. Aseton
5. Pasir bersih dan batu mendidih
6. EDTA
7. *Aquadest* panas

### Alat-alat:

1. Timbangan analitis
2. *Beaker glass* khusus serat kasar
3. alat untuk mendidihkan
4. Cawan filtrasi dan alat filtrasi
5. Eksikator
6. Oven 105°C
7. Tanur 550°-600°C

### Prosedur

1. Kertas minyak ditimbang (a) (g) lalu ditambahkan sampel kira-kira 1 g kemudian timbang kembali (b) (g).
2. Sampel dituangkan ke dalam *beaker glass* khusus analisis SK lalu ditambahkan 50 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,3 N dan dididihkan selama 30 menit.
3. Ditambahkan 25 ml NaOH 1,5 N lalu dididihkan selama 25 menit kemudian ditambahkan EDTA 0,5 g lalu dididihkan selama 5 menit.

4. Larutan dalam *beaker glass* tadi dituangkan ke dalam cawan filtrasi atau *filtrasi crucible* sambil dibersihkan dengan *aquadest* panas.
5. Ditambahkan 50 ml HCl 0,3 N lalu didiamkan selama 1 menit lalu dihisap dengan pipa vacum, kemudian dimasukkan 50 ml *aquadest* panas setelah dihisap dengan pompa vacum.
6. Ditambahkan 50 ml aseton dan diamkan selama 1 menit lalu dihisap sampai kering. Selanjutnya *crucible* dimasukkan kedalam oven 140°C selama 1,5 jam kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam lalu ditimbang (c) ( g)
7. Setelah dimasukkan ke dalam tanur 550°C selama 2 jam lalu setelah 2 jam dikeluarkan dari tanur dan dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam kemudian ditimbang (d g)

Perhitungan % SK :

$$\text{Serat Kasar} = \frac{c - d}{b - a}$$

## Lampiran 6. Prosedur pengukuran kadar lemak kasar (LK) (AOAC, 1995).

Alat :

1. Alat ekstraksi *Goldfish*
2. *Beaker glass* khusus untuk lemak
3. Selongsong S (alat porselin)
4. Gelas ukur
5. Oven vacuum 80 °C
6. Timbangan analitis
7. Eksikator
8. Penjepit
9. Kertas *Whatman*

Bahan:

1. N-hexan
2. Sampel penelitian

Prosedur Kerja:

1. Dimasukkan *beaker glass* dalam oven selama satu jam dan diletakkan ke dalam eksikator selama 1 jam.
2. Ditimbang kertas saring *whatman* (berat A).
3. Diambil sampel 1,3 gram, ditimbang beserta kertas saring *whatman* (berat B).
4. Dibungkus sampel dengan kertas *whatman*, kemudian dimasukkan kedalam selongsong S.
5. Diambil beaker glass khusus lemak dari eksikator, ditimbang (berat C)
6. Diisi *beaker glas* dengan n-hexan sebanyak 50 ml menggunakan gelas ukur.
7. Dipasang ke alat ekstraksi *Goldfish* dan diekstraksi selama 4 jam.
8. Diambil selongsong S dengan sampel dan ganti dengan labu khusus untuk mengumpulkan *N-hexan* lagi sampai dengan N-hexan tinggal sedikit.
9. Dimasukkan *beaker glas* berisi lemak ke dalam oven vacuum 80°C selama 1,5 jam.
10. Dimasukkan *beaker glas* berisi lemak ke dalam eksikator selama 1 jam.
11. Ditimbang. (berat D)

$$\text{Rumus: Kadar Lemak} = \frac{D \times C}{B \times A} \times 100\%$$

**Lampiran 7. Prosedur Analisis Kandungan *Acid Detergent Fiber* (ADF)  
(Van Soest, 1994)**

**Alat :**

1. Timbangan Analitik
2. Beaker Glass Khusus SK
3. Kompor
4. Cawan Krusibel
5. Eksikator
6. Oven 105°C
7. Tanur 550-600°C

**Bahan :**

1. Larutan ADF
2. Aceton

**Prosedur :**

1. Ditimbang sampel sebanyak 0.5
2. Dimasukkan ke dalam gelas beaker 500 mL
3. Ditambahkan sebanyak 100 mL larutan ADF
4. Dipanaskan selama 5 sampai 6 menit sampai mulai panas kemudian dihitung waktu pemanasannya selama 60 menit sambil di reflux dengan aliran air.
5. Setelah 60 menit pendidihan Bahan larutan disaring secara pelan-pelan menggunakan cawan krusibel
6. Sampel dibilas dengan aquades panas 150 ml dan dengan aseton 40 ml kemudian dapat dikeringkan.
7. Gelas penyaring dikeringkan minimal selama delapan jam pada oven suhu 105 °C
8. Setelah ditimbang akan didapatkan berat kering residu NDF, kemudian sampel dibakar dalam tanur 550 °C cukup selama tiga jam, lalu dipindahkan ke dalam oven sampai suhunya kembali menjadi 105 °C kemudian ditimbang. Bahan yang tersisa pada gelas penyaring adalah abudari dinding sel.

**Lampiran 8. Prosedur Analisis Kandungan *Neutral Detergent Fiber* (NDF)  
(Van Soest, 1994)**

**Alat :**

1. Timbangan Analitik
2. Beaker Glass Khusus SK
3. Kompor
4. Cawan Krusibel
5. Eksikator
6. Oven 105°C
7. Tanur 550-600°C

**Bahan :**

1. Larutan NDF
2. Aceton

**Prosedur :**

1. Ditimbang sampel sebanyak 0.5
2. Dimasukkan ke dalam gelas beaker 500 mL
3. Ditambahkan sebanyak 100 mL larutan NDF
4. Dipanaskan selama 5 sampai 6 menit sampai mulai panas kemudian dihitung waktu pemanasannya selama 60 menit sambil di reflux dengan aliran air.
5. Setelah 60 menit pendidihan Bahan larutan disaring secara pelan-pelan menggunakan cawan krusibel
6. Sampel dibilas dengan aquades panas 150 ml dan dengan aseton 40 ml kemudian dapat dikeringkan.
7. Gelas penyaring dikeringkan minimal selama delapan jam pada oven suhu 105 °C
8. Setelah ditimbang akan didapatkan berat kering residu NDF, kemudian sampel dibakar dalam tanur 550 °C cukup selama tiga jam, lalu dipindahkan ke dalam oven sampai suhunya kembali menjadi 105 °C kemudian ditimbang. Bahan yang tersisa pada gelas penyaring adalah abu dari dinding sel

## Lampiran 9. Prosedur pengukuran produksi gas *in vitro* (Makkar et al., 1995)

### Alat-alat:

Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik, piston, *syringe*, slang berklip, termos, gelas ukur, kain penyaring, pipet tetes, tabung *erlenmayer*, termometer, pemanas, tabung CO, magnetik stirer, dispenser dan inkubator.

### Bahan:

Cairan rumen, vaselin, aquades, larutan *buffer*, larutan makro mineral, larutan mikro mineral, resazurin dan larutan reduktor.

1. Sampel pakan ( $\pm 500$  mg) di timbang dan di masukan ke dalam gelas *syringe* yang berskala 100 ml, diusahakan tidak mengotori dinding *syringe*.
2. Dimasukan piston yang telah diolesi vaseline ke dalam *syringe* dan menyambung ujung *syringe* dengan selang plastik dan di tutup dengan klip.
3. Di buat campuran *buffer*

Tahapan pembuatan campuran *buffer* yaitu:

- 125 ml larutan makro mineral (5,2 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + 6,2  $\text{KH}_2\text{HPO}_4$  + 0,6 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 2,22 NaCl dilarutkan dengan *aquades* sampai volume 100 ml)
- 0,08 ml larutan mikro mineral (13,2 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  + 10 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  + 1 g  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0,8 g  $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dilarutkan dengan *aquades* sampai volume 100 ml)
- 251 ml larutan *buffer* (35 g  $\text{NaHCO}_3$  + 4 g  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  dilarutkan dengan *aquades* sampai volume 1000 ml)
- 0,34 ml larutan resazurin (100 mg resazurin dilarutkan dengan *aquades* sampai volume 100 ml)
- 20,6 ml larutan reduktor (3,7 ml NaOH 1 N + 0,58 g  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 47,5 ml *aquades*) larutan reduktor ini harus dipreparasi segar, yaitu beberapa saat sebelum pengambilan cairan rumen
- Memasukkan 376 ml *aquades* kedalam *erlenmeyer* dipanaskan sampai suhu  $39^\circ\text{C}$  kemudian dimasukkan larutan-larutan tersebut

diatas, diaduk dengan *magnetic stirrer* dan mengalirkan gas CO<sub>2</sub>. Larutan yang berwarna kebiru-biruan akan berubah warna menjadi pink kemudian tidak berwarna.

4. Cairan rumen di keluarkan dari termos dan disaring sampai dengan volume 227 ml, dan hanya boleh di masukan ke dalam *erlenmeyer* apabila indikator sudah tidak berwarna. Gas CO<sub>2</sub> tetap dialirkan setelah cairan rumen di campurkan, kemudian dipanaskan pada temperature tetap 39<sup>0</sup> (perbandingan buffer dan cairan rumen 2:1)
5. Campuran cairan buffer dan cairan rumen sebanyak 50 ml dimasukkan dalam setiap syringe yang berisi sampel dengan menggunakan dispenser.
6. Klip pada selang yang telah terpasang pada *syringe* dan catat volumenya (VO<sub>2</sub>), kemudian *syringe* ditempatkan pada waterbath suhu 39<sup>0</sup>. Pembuatan blanko untuk koreksi dengan cara diatas hanya saja tanpa ditambahkan substrat didalam *syringe*. Diinkubas selama 48 jam

Perhitungan produksi gas pada setiap periode inkubasi dihitung dengan rumus:

$$\text{Produksi gas (ml/500 mg BK)} = \{(V_t - V_o) - V_b\} \times \text{FK}$$

Keterangan:

V<sub>t</sub>-V<sub>o</sub> = Pertambahan volume gas

V blanko = Volume blanko

FK = Faktor koreksi

Produksi gas secara *in vitro* yang meliputi total produksi gas, laju produksi gas (nilai c), produksi gas dari fraksi yang tidak mudah larut namun dapat difermentasikan (nilai b). Nilai produksi gas ditentukan dengan persamaan menurut Oskov dan Mc. Donald (1979) sebagai berikut:

$$Y = b(1 - e^{-ct})$$

Keterangan:

Y = Produksi gas pada saat t jam (ml/500mg BK)

b = Potensi produksi gas (ml/500mg BK)

c = Laju produksi gas (ml/jam)



t = Waktu inkubasi (jam)

e = Eksponensial

**Lampiran 10. Prosedur Pengukuran Konsentrasi Amonia (NH<sub>3</sub>) dari Supernatan *In Vitro* Produksi gas Inkubasi 48 Jam (Conway, 1957)**

**Prinsip :**

Amonia (NH<sub>3</sub>) akan menguap apabila bereaksi dengan Natrium Karbonat (NaCO<sub>3</sub>), kemudian ditangkap oleh asam borat (H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>) berindikator Metil Merah dan Brom Kresol, kemudian dilakukan titrasi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005N sampai warna semula, banyaknya H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk merubah warna merupakan indikasi banyaknya kandungan NH<sub>3</sub>.

**Alat-alat :**

Cawan Conway, pipet ukur, beaker glass, buret dan PH meter

**Bahan-bahan :**

Supernatan, Vaseline, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4% berindikator metil merah dan brom kresol hijau, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005N.

**Prosedur :**

1. *Syringe* yang berisi sampel dari *in vitro* produksi gas inkubasi 48 jam direndam dalam air es ±10 menit dengan tujuan untuk menghentikan aktifitas mikroba
2. Sampel dimasukan dalam tabung fermentor *disentrifuge* pada kecepatan 8000 rpm selama 15 menit
3. Supernatan dari residu produksi gas inkubasi 48 jam dimasukan dalam botol, kemudian ditetesi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat sebanyak 5 tetes untuk menghentikan proses fermentasi mikroba serta mengikat N.
4. Sebelumnya cawan Conway dan tutupnya telah diolesi Vaseline
5. Kemudian sebanyak 1 ml cairan supernatan dimasukan kedalam salah satu ujung alur cawan, sedangkan ujung yang lain dimasukan 1ml NaCO<sub>3</sub> jenuh
6. Pada bagian tengah cawan masukan 1 ml larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> berindikator Metil Merah dan brom kresol hijau ber pH 5,2
7. Cawan Conway ditutup dengan cepat dan rapat lalu cawan dimiringkan dengan harapan larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh dapat bercampur dengan supernatant

8. Setelah disimpan selama 24 jam dalam suhu kamar, dilakukan titrasi pada larutan  $\text{H}_3\text{BO}_3$  dengan menggunakan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,005N hingga warna berubah dari biru menjadi merah (seperti warna semula).

**Kadar  $\text{NH}_3$  (mg/L cairan rumen) dihitung dengan rumus:**

$$\text{Kadar NH}_3 \text{ Mm cairan rumen} = \frac{\text{ml H}_2\text{SO}_4 \times \text{H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{ml Sampel} \times \text{BK\%}} \times 100$$

Keterangan :

ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  = Titrasi  $\text{H}_2\text{SO}_4$

N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  = Normalitas  $\text{H}_2\text{SO}_4$

MI Sampel = Banyaknya sampel yang digunakan

### **Lampiran 11. Prosedur Perhitungan Populasi Protozoa (Ogimoto dan Imai, 1981)**

Perhitungan populasi protozoa (Dehority, 1984) dilakukan pada counting chamber dengan larutan garam formalin (formal saline). Larutan formal saline dibuat dari campuran formalin 4% ditambah dengan CaCL fisiologis 0,9% dalam 100 ml larutan. Sampel cairan rumen yang berasal dari inkubasi produksi gas 48 jam dicampur dengan larutan formal saline dengan perbandingan 1:1 atau sebanyak 10 ml sampel cairan rumen ditambah 10 ml larutan formal saline. Kemudian sebanyak 1 ml campuran tersebut ditempatkan pada Sedgewick Rafter Counting Chamber yang berukuran 50 × 20 mm dengan kedalaman 1 mm sehingga luas area counting chamber-nya adalah 1.000 mm<sup>3</sup>. Perhitungan populasi protozoa dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbearan 10 kali. Populasi protozoa dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Protozoa/ml cairan rumen} = C \times FP$$

Keterangan :

C = Jumlah protozoa terhitung dalam counting chamber

FP = Faktor pengencer cairan rumen dengan formal saline

**Lampiran 12. Prosedur Pengukuran Gas Metan dari inkubasi produksi gas 48 jam (Sopiawati dkk, 2013);**

Pengujian gas metan dilakukan dengan Flame Ionization Detector (FID) yang terdiri dari hydrogen atau air flame dan collector plate, sampel yang keluar dari column dilewatkan ke flame yang akan menguraikan molekul organik dan menghasilkan ion-ion. Ion-ion tersebut dihimpun pada biased electrode (*collectore plate*) dan menghasilkan sinyal elektrik. Sinyal elektrik tersebut akan diimplementasikan kedalam bentuk peak.

Alat yang dapat digunakan untuk mengukur besarnya emisi GRK adalah kromatografi gas (GC) dan infrared gas analyzer (IrGA). Hasil analisa berupa area atau luasan (tanpa satuan) dan konsentrasi (ppm/ppb) yang diimplementasikan dalam bentuk peak pada kromatogram. Hasil tersebut bisa dihitung ke dalam bentuk fluks atau emisi dengan menggunakan rumus perhitungan;

$$F = \frac{dc}{dt} \times \frac{V_{ch}}{A_{ch}} \times \frac{mW}{mV} \times \frac{273,2}{(273,2+T)}$$

Keterangan :

- F = Fluks gas CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (mg/m<sup>2</sup>/menit)
- Dc/dt = Perbedaan konsentrasi CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O per waktu (ppm/menit)
- Vch = Volume Boks (m<sup>3</sup>)
- Ach = Luas Boks (m<sup>2</sup>)
- mW = Berat Molekul CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (g)
- mV = Volume Molekl CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (22,41 l)
- T = Temperatur rata-rata selama pengambilan contoh gas (°C)

Penggunaan alat ukur yang tepat dan bisa menghasilkan data yang valid serta dapat dipertanggung jawabkan sangat penting dalam menentukan hasil

pengukuran. Untuk itu, penggunaan alat seperti GC dan IrGA harus dilakukan secara benar dan tepat sesuai dengan SOP (Standart Operasional Prosedure)

**Lampiran 13. Prosedur Analisis Konsentrasi VFA (mmol/l) (Bachrudin, 1996);**

Analisa VFA parsial dilakukan dengan menggunakan gas kromatografi (GC), VFA parsial supernatant yang berasal dari produksi gas inkubasi 48 jam dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{VFA parsial} = \frac{\text{Luas sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{Konsentrasi}$$

Keterangan :

BM = Bobot molekul dari asetat, propionate dan butirat

#### Lampiran 14. Prosedur Pengukuran Efisiensi Sintesis Protein Mikroba Rumen dari Supernatan Produksi Gas Inkubasi 48 jam (Blummel *et al*, 1997)

Bahan;

1. Larutan supernatant
2. Air es
3. Aseton
4. Larutan Neutural Detergent Solution

Alat:

1. Kertas saring Watman bebas abu Ø 125 mm
2. Tabung *syringe*
3. Oven 105°C
4. Tanur 550°C
5. Filter crucible no.1 (Porositas 0,01 mm)
6. Timbangan analitis

Prosedur pengukuran *apparent degradability* adalah sebagai berikut:

1. Tabung *syringe* berisi substrat yang telah diinkubasi selama 48 jam direndam dalam air es selama 15 menit untuk menghentikan proses fermentasi secara serentak.
2. Dua tabung disaring dengan Kertas saring Watman bebas abu Ø 125 mm untuk menentukan kandungan BK.
3. Residu hasil penyaringan dimasukkan ke dalam cawan dan dioven pada suhu 105°C selama 4 jam, kemudian ditimbang untuk menentukan kandungan BK. Selanjutnya residu dimasukkan ke dalam tanur 550°C selama 4 jam dan ditimbang untuk menentukan kandungan BO.

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

$$\% \text{ KCBO} = \frac{((BO \text{ Sampel } (g) - BO \text{ Residu } (g)) - BO \text{ Blanko } (g))}{BO \text{ Sampel } (g)} \times 100\%$$

*Apparent degradability* = BK Substrat yang diinkubasi – BK residu yang telah disentrifuge



Prosedur pengukuran *true degradability* adalah sebagai berikut:

1. Tabung *syringe* berisi substrat yang telah diinkubasi 48 jam dimasukkan ke dalam beaker glass khusus dan ditambahkan larutan NDS sebanyak 100 ml.
2. Sampel *direflux* selama 60 menit, dihitung sejak larutan mendidih.
3. Larutan dimasukkan ke dalam *filter crucible* no. 1 (porositas 0,01 mm) dicuci dengan air panas sesedikit mungkin dan ditambahkan aseton sebanyak 75 ml.
4. Residu yang telah diberi larutan NDS dioven pada suhu 105°C selama 4 jam, kemudian ditimbang untuk menentukan kandungan BK.

Tre degradability = Berat BK substrat yang diinkubasi – berat BK residu yang telah *direflux* larutan NDS

Biomassa mikroba (mg) = Berat BK residu *apparent undegradability* – Berat BK residu *true undegradability*

5. Kandungan N mikroba diasumsikan 7%

Produksi N mikorba (a N/Ka BOTR)=

$$\frac{\text{Biomassa mikorba (g)} \times \text{N Mikroba (\%)}}{\text{BOTR (kg)}} \times 1000$$

$$\text{BOTR (kg)} = \frac{\text{KCBO(\%)} \times \text{BO sampel (g)}}{100}$$

### **Lampiran 15. Analisis Total Tanin dengan Metode Spektrofotometri**

1. Ditimbang sampel sebanyak  $\pm 50$  mg, ekstraksi dengan 10 ml diethyl ether selama 20 jam, kemudian disaring
2. Diuapkan sisa diethyl ether
3. Ditambahkan aquadest ke dalam sampel hingga Volume 10 ml
4. Diambil 1 ml larutan sampel, ditambahkan dengan 0,1 ml reagen folin ciocalteu dan vortex, ditunggu selama 5 menit
5. Ditambahkan dengan 2 ml natrium carbonat 20% dan vortex, ditunggu selama 5 menit
6. Addkan dengan aquadest hingga volume 10 ml, diencerkan sebanyak 5 kali
7. Dibaca absorbansi pada  $\lambda$  760 nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar menurut chanwitheesuk *et al* (2004)

## Lampiran 16. Analisis Tanin Kondensasi (Porter *et al.*, 1986)

### Reagen

1. Reagen Butanol-HCl (butanol HCL 95: 5 v / v): dibuat dengan campuran 950ml n-butanol dengan 50 ml HCL pekat (37%)
2. Ferric reagen (2% ferric ammonium sulfate dalam 2 N HCL): dibuat dengan campuran 16,6 ml HCL pekat hingga 100 ml dengan air suling untuk membuat 2 N HCL. Larutkan 2,0 g besi amonium sulfat dalam volume 2 N HCL. Reagen ini harus disimpan dalam botol gelap.

### Prosedur:

1. Diambil 0,5 ml ekstrak tanin yang sudah diencerkan dengan acetone 70% dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
2. Ditambahkan 3,0 ml reagen butanol-HCL dan 0,1 ml reagen besi ke dalam tabung reaksi
3. Dilakukan vortex pada tabung reaksi, ditutup mulut tabung dengan marmar kaca dan dimasukkan tabung reaksi ke dalam blok pemanas pada suhu 97 hingga 100°C (atau dalam pemanas air mendidih) selama 60 menit
4. Dilakukan pendinginan pada tabung reaksi dan dicatat absorbansi pada 550 nm
5. Dikurangi dengan blanko yang sesuai, yang biasanya merupakan absorbansi campuran yang tidak dipanaskan
6. Tanin terkondensasi (% dalam bahan kering) sebagai setara leucocyanidin dan dihitung dengan rumus:

$$(A_{550 \text{ nm}} \times 78.26 \times \text{Faktor pengenceran}^*) / (\% \text{ bahan kering})$$

Rumus ini mengasumsikan bahwa leucocyanidin  $E^{1\%, 1\text{cm}, 500 \text{ nm}}$  yang efektif adalah 460

\*Faktor pengenceran sama dengan 1 jika tidak ada aseton 70% yang ditambahkan dan ekstrak dibuat dari 200 mg sampel dalam pelarut 10 ml. Dimana 70% aseton ditambahkan (misalnya untuk mencegah absorbansi melebihi 0,6) faktor pengencerannya adalah:

$$0,5 \text{ ml} / (\text{volume ekstrak yang diambil})$$

**Lampiran 17. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 2 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	14,24	11,97	16,18	42,39	14,13	2,107154
P2	13,02	10,94	14,41	38,37	12,79	1,746396
P3	12,97	10,35	12,52	35,84	11,95	1,40094
P4	13,70	11,98	13,41	39,09	13,03	0,920815
P5	12,94	10,33	12,18	35,45	11,82	1,342398
Total	66,87	55,57	68,70	191,14	63,71	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{191,14^2}{3 \times 5} = 2435,63$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 14,24^2 + 11,97^2 + 16,18^2 + \dots + 12,18^2 - 2435,63$$

$$= 34,70$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{66,87^2 + 55,57^2 + 68,70^2}{5} - 2435,63 = 20,22$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=1}^r y_{ij})^2}{r} - FK$$

$$= \frac{42,39^2 + 38,37^2 + 35,84^2 + 39,09^2 + 35,45^2}{3} - 2435,63 = 10,50$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan} = 34,70 - 20,22 - 10,50$$

$$= 3,98$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	20,22	10,11	20,35	4,46	8,65
Perlakuan	4	10,50	2,63	5,28	3,84	7,01
Galat	8	3,98	0,50			
Total	14	34,71				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat nyata (P<0,05)

### Lampiran 17. Lanjutan

#### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 5% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,50}{3}} \\ &= 0,869 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 5%**

P	2	3	4	5
<b>JND 5%</b>	3,261	3,398	3,475	3,521
<b>JNT 5%</b>	1,327	1,383	1,414	1,433

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	11,817	a
P3	11,947	a
P2	12,790	ab
P4	13,030	ab
P1	14,130	b

**Lampiran 18. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 4 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	22,60	22,71	27,90	73,21	24,40	3,028702
P2	20,10	19,25	24,02	63,37	21,12	2,544334
P3	20,55	18,63	23,65	62,83	20,94	2,533009
P4	22,30	21,35	25,43	69,08	23,03	2,134861
P5	20,78	18,60	22,67	62,05	20,68	2,036721
Total	106,33	100,54	123,67	330,54	110,18	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{330,54^2}{3 \times 5} = 7283,78$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 22,60^2 + 22,71^2 + 27,90^2 + \dots + 22,67^2 - 7283,78 = 92,86$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{106,33^2 + 100,54^2 + 123,67^2}{5} - 7283,78 = 57,95$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{73,21^2 + 63,37^2 + 62,83^2 + 69,08^2 + 62,05^2}{3} - 7283,78 = 31,33$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 92,86 - 57,95 - 31,33$$

$$= 3,59$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	57,95	28,97	64,55	4,46	8,65
Perlakuan	4	31,33	7,83	17,45	3,84	7,01
Galat	8	3,59	0,45			
Total	14	92,86				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata (P<0,01)

### Lampiran 18. Lanjutan

#### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,45}{3}} \\ &= 0,869 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	1,835	1,910	1,956	1,988

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	20,68	a
P3	20,94	a
P2	21,12	a
P4	23,03	b
P1	24,40	b

**Lampiran 19. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 6 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	31,74	28,90	37,14	97,78	32,59	4,185754
P2	26,93	26,31	33,01	86,25	28,75	3,70227
P3	27,62	24,85	31,06	83,53	27,84	3,111018
P4	30,13	28,37	32,83	91,33	30,44	2,246449
P5	27,84	25,35	29,76	82,95	27,65	2,211131
Total	144,26	133,78	163,80	441,84	147,28	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{441,84^2}{3 \times 5} = 13014,8$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 31,74^2 + 28,90^2 + 37,14^2 + \dots + 29,76^2 - 13014,8 = 153,22$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{144,26^2 + 133,78^2 + 163,80^2}{5} - 13014,8 = 92,86$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{97,78^2 + 86,25^2 + 83,53^2 + 91,33^2 + 82,95^2}{3} - 13014,8 = 92,86$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 153,22 - 92,86 - 92,86$$

$$= 8,83$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel
					0,05 0,01
Kelompok	2	92,86	46,43	42,08	4,46 8,65
Perlakuan	4	51,54	12,88	11,68	3,84 7,01
Galat	8	8,83	1,10		
Total	14	153,22			

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata ( $P < 0,01$ )



### Lampiran 19. Lanjutan

#### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{21,10}{3}} \\ &= 0,61 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	2,878	2,995	3,066	3,113

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	27,65	a
P3	27,84	a
P2	28,75	a
P4	30,44	ab
P1	32,59	b

**Lampiran 20. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 8 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	38,79	37,57	43,31	119,67	39,89	3,023971
P2	33,24	35,04	38,58	106,86	35,62	2,716836
P3	33,64	34,37	36,63	104,64	34,88	1,558878
P4	35,61	36,22	39,31	111,14	37,05	1,983692
P5	33,33	33,20	35,01	101,54	33,85	1,009571
Total	174,61	176,40	192,84	543,85	181,28	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{543,85^2}{3 \times 5} = 19718,2$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 38,79^2 + 37,57^2 + 43,31^2 + \dots + 35,01^2 - 19718,2 = 113,62$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{174,61^2 + 176,40^2 + 192,84^2}{5} - 19718,2 = 40,39$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=1}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{119,67^2 + 106,86^2 + 104,64^2 + 111,14^2 + 101,54^2}{3} - 19718,2 = 65,80$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 113,62 - 40,39 - 65,80$$

$$= 7,43$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	40,39	20,19	21,74	4,46	8,65
Perlakuan	4	65,80	16,45	17,71	3,84	7,01
Galat	8	7,43	0,93			
Total	14	113,62				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata (P<0,01)

## Lampiran 20. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,93}{3}} \\ &= 0,56 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	2,641	2,745	2,814	2,857

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	38,85	a
P3	34,88	ab
P2	35,62	ab
P4	37,05	b
P1	39,89	c

**Lampiran 21. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 12 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	52,25	52,43	55,48	160,16	53,39	1,815112
P2	45,19	49,72	50,21	145,12	48,37	2,767713
P3	46,33	47,62	48,22	142,17	47,39	0,965764
P4	48,52	49,72	51,79	150,03	50,01	1,654177
P5	44,70	46,15	46,57	137,42	45,81	0,981139
Total	236,99	245,64	252,27	734,90	244,97	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{734,90^2}{3 \times 5} = 36005,2$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 52,25^2 + 52,43^2 + 55,48^2 + \dots + 46,57^2 - 36005,2 = 131,51$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{236,99^2 + 245,64^2 + 252,27^2}{5} - 36005,2 = 23,48$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{160,16^2 + 145,12^2 + 142,17^2 + 150,03^2 + 137,42^2}{3} - 36005,2 = 100,34$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 131,51 - 23,48 - 100,34$$

$$= 7,69$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	23,48	11,74	12,22	4,46	8,65
Perlakuan	4	100,33	25,08	26,10	3,84	7,01
Galat	8	7,69	0,96			
Total	14	131,51				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata (P<0,01)

## Lampiran 21. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,96}{3}} \\ &= 0,57 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	2,686	2,795	2,862	2,906

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	45,81	a
P3	47,39	ab
P2	48,37	ab
P4	50,01	b
P1	53,39	c

**Lampiran 22. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 24 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	74,06	82,16	83,53	239,75	79,92	5,118069
P2	65,03	79,36	77,48	221,87	73,96	7,787659
P3	65,31	74,95	76,04	216,30	72,10	5,905514
P4	68,48	75,06	77,69	221,23	73,74	4,744073
P5	65,48	72,04	70,94	208,46	69,49	3,513194
Total	338,36	383,57	385,68	1107,61	369,20	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{1107,61^2}{3 \times 5} = 81786,7$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 74,06^2 + 82,16^2 + 83,53^2 + \dots + 70,94^2 - 81786,7 = 489,92$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{338,36^2 + 383,57^2 + 385,68^2}{5} - 81786,7 = 285,84$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{239,75^2 + 221,87^2 + 216,30^2 + 221,23^2 + 208,46^2}{3} - 81786,7 = 176,78$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 489,92 - 285,84 - 176,78$$

$$= 27,29$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	285,84	142,92	41,89	4,46	8,65
Perlakuan	4	176,78	44,20	12,95	3,84	7,01
Galat	8	27,29	3,41			
Total	14	489,91				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata (P<0,01)

## Lampiran 22. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{3,41}{3}} \\ &= 1,07 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	5,060	5,267	5,392	5,475

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	69,49	a
P3	72,10	a
P4	73,74	a
P2	73,96	a
P1	79,92	b

**Lampiran 23. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 36 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	82,94	90,41	94,78	268,13	89,38	5,987256
P2	74,22	88,50	89,72	252,44	84,15	8,61836
P3	74,47	85,72	88,56	248,75	82,92	7,451579
P4	77,87	83,60	90,17	251,64	83,88	6,154779
P5	74,10	81,14	83,43	238,67	79,56	4,862349
Total	383,60	429,37	446,66	1259,63	419,88	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{1259,63^2}{3 \times 5} = 105777,8$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 82,94^2 + 90,41^2 + 94,78^2 + \dots + 83,43^2 - 105777,8 = 603,92$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{383,60^2 + 429,37^2 + 446,66^2}{5} - 105777,8 = 424,69$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{268,13^2 + 252,44^2 + 248,75^2 + 251,64^2 + 238,67^2}{3} - 10577,8 = 149,57$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 603,92 - 424,69 - 149,57$$

$$= 29,65$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	424,69	212,35	57,29	4,46	8,65
Perlakuan	4	149,57	37,39	10,09	3,84	7,01
Galat	8	29,65	3,71			
Total	14	603,92				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata ( $P < 0,01$ )



### Lampiran 23. Lanjutan

#### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{3,71}{3}} \\ &= 1,11 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	5,274	5,499	5,620	5,707

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	79,56	a
P3	82,92	a
P4	83,88	a
P2	84,15	ab
P1	89,38	b

**Lampiran 24. Data Analisis Statistik Kinetika Produksi Gas Inkubasi 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	87,77	97,02	96,32	281,12	93,71	5,148872
P2	86,79	95,14	90,96	272,90	90,97	4,176132
P3	83,32	92,34	90,41	266,07	88,69	4,749507
P4	82,17	89,66	92,02	263,86	87,95	5,140774
P5	80,77	87,47	84,97	253,21	84,40	3,388826
Total	420,83	461,64	454,69	1337,16	445,72	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{1337,16^2}{3 \times 5} = 119199,3$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 87,77^2 + 97,02^2 + 96,32^2 + \dots + 84,97^2 - 119199,3 = 353,49$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{420,83^2 + 461,64^2 + 454,69^2}{5} - 119199,3 = 190,69$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{281,12^2 + 272,90^2 + 266,07^2 + 263,86^2 + 253,21^2}{3} - 119199,3 = 144,65$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 353,49 - 190,69 - 144,65$$

$$= 18,15$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	190,6875	95,34373	42,01667	4,46	8,65
Perlakuan	4	144,6531	36,16329	15,93666	3,84	7,01
Galat	8	18,1535	2,269188			
Total	14	353,4941				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata ( $P < 0,01$ )

## Lampiran 24. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2,269}{3}} \\ &= 0,869 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	4,126	4,295	4,397	4,465

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	84,404	a
P4	87,953	ab
P3	88,692	abc
P2	90,966	bc
P1	93,705	c

**Lampiran 25. Data Analisis Statistik Nilai b dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	89,62	103,89	99,26	292,76	97,59	7,28
P2	88,14	104,32	95,79	288,25	96,08	8,09
P3	84,12	101,44	96,54	282,10	94,03	8,93
P4	83,44	94,46	96,37	274,27	91,42	6,98
P5	82,14	94,57	89,91	266,62	88,87	6,28
Total	427,46	498,68	477,86	1404,00	468,00	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{1404,00^2}{3 \times 5} = 131414,00$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 89,62^2 + 103,89^2 + 99,26^2 + \dots + 89,91^2 - 131414,00 = 720,69$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{427,46^2 + 498,68^2 + 477,86^2}{5} - 131414,00 = 536,44$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{292,76^2 + 288,25^2 + 282,10^2 + 274,27^2 + 266,62^2}{3} - 131414,00 = 148,00$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 720,69 - 536,44 - 148,00$$

$$= 36,24$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	536,4392	268,2196	59,19829	4,46	8,65
Perlakuan	4	148,0043	37,00106	8,166441	3,84	7,01
Galat	8	36,24694	4,530868			
Total	14	720,6904				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan sangat berbeda nyata ( $P < 0,01$ )

## Lampiran 25. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{4,53}{3}} \\ &= 0,869 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
<b>JND 1%</b>	4,745	4,939	5,056	5,134
<b>JNT 1%</b>	5,831	6,069	6,213	6,309

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	88,87	a
P4	91,42	abc
P3	94,03	abc
P2	96,08	bc
P1	97,59	c

**Lampiran 26. Data Analisis Statistik Nilai c dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	0,0703	0,0589	0,0701	0,199384	0,066461	0,006511
P2	0,0534	0,0536	0,0639	0,170881	0,05696	0,005974
P3	0,0607	0,0523	0,0603	0,173347	0,057782	0,004748
P4	0,0690	0,0621	0,0653	0,196365	0,065455	0,003438
P5	0,0625	0,0556	0,0619	0,180021	0,060007	0,003807
Total	0,32	0,28	0,32	0,92	0,31	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{0,92^2}{3 \times 5} = 0,056$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 0,0703^2 + 0,0589^2 + 0,0701^2 + \dots + 0,0619^2 - 0,056 = 0,00048$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{0,32^2 + 0,28^2 + 0,32^2}{5} - 0,056 = 0,00018$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{0,199^2 + 0,171^2 + 0,173^2 + 0,196^2 + 0,180^2}{3} - 0,056 = 0,00023$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan} = 0,00048 - 0,00018 - 0,00023 = 0,00008$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	0,000178	8,88E-05	9,296356	4,46	8,65
Perlakuan	4	0,00023	5,76E-05	6,030986	3,84	7,01
Galat	8	7,64E-05	9,55E-06			
Total	14	0,000484				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

## Lampiran 26. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

#### • Perhitungan JND 5% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{9,55E-06}{3}} \\ &= 0,00178 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 5%**

P	2	3	4	5
<b>JND 5%</b>	3,261	3,398	3,475	3,521
<b>JNT 5%</b>	0,00582	0,00606	0,0062	0,00628

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P2	0,05696	a
P3	0,05778	b
P5	0,06001	bc
P4	0,06545	cd
P1	0,06646	d

**Lampiran 27. Data Analisis Statistik Konsentrasi Amonia (NH<sub>3</sub>) dari ResiduProduksi Gas 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	6,16	7,78	6,38	20,32	6,77	0,88016
P2	6,30	7,05	6,19	19,54	6,51	0,465496
P3	6,60	7,20	6,12	19,92	6,64	0,537847
P4	6,48	6,48	6,10	19,06	6,35	0,218205
P5	6,79	6,79	6,04	19,63	6,54	0,435866
Total	32,34	35,30	30,83	98,47	32,82	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{98,47^2}{3 \times 5} = 646,40$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 6,16^2 + 7,78^2 + 6,38^2 + \dots + 6,04^2 - 646,40 = 3,32$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{32,34^2 + 35,30^2 + 30,83^2}{5} - 646,40 = 2,06$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{20,32^2 + 19,54^2 + 19,92^2 + 19,06^2 + 19,63^2}{3} - 646,40 = 0,29$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 3,32 - 2,06 - 0,29$$

$$= 0,97$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	2,064838	1,032419	8,50039	4,46	8,65
Perlakuan	4	0,289857	0,072464	0,596631	3,84	7,01
Galat	8	0,971644	0,121455			
Total	14	3,326338				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)



**Lampiran 28. Data Analisis Statistik Nilai Populasi Protozoa dari Residu Produksi Gas Inkubasi 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	2080,00	2040,00	2020,00	6140,00	2046,67	30,5505
P2	1890,00	1823,00	1789,00	5502,00	1834,00	51,39066
P3	1650,00	1643,00	1537,00	4830,00	1610,00	63,31666
P4	1433,00	1421,00	1338,00	4192,00	1397,33	51,73329
P5	1376,00	1345,00	1242,00	3963,00	1321,00	70,14984
Total	8429,00	8272,00	7926,00	24627,00	8209,00	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{24627,00^2}{3 \times 5} = 40432608,6$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 2080^2 + 2040^2 + 2020^2 + \dots + 1242^2 - 40432608,6 = 1123998,40$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{8429^2 + 8272^2 + 7926^2}{5} - 40432608,6 = 26491,6$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{6140^2 + 5502^2 + 4830^2 + 4192^2 + 3963^2}{3} - 40432608,6 = 1093637,07$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 1123998,40 - 26491,6 - 1093637,07$$

$$= 3869,73$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	26491,6	13245,8	27,38339	4,46	8,65
Perlakuan	4	1093637	273409	565,2261	3,84	7,01
Galat	8	3869,73	483,717			
Total	14	1123998				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01)

## Lampiran 28. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{483,717}{3}} \\ &= 12,698 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	60,252	62,7154	64,201	65,191

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P5	1321	a
P4	1397,33	b
P3	1610	c
P2	1834	c
P1	2046,67	d

**Lampiran 29. Data Analisis Statistik Nilai Efisiensi Sintesis Protein Mikroba dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	60,69	78,73	71,21	210,64	70,21	9,061222
P2	59,22	69,01	72,92	201,14	67,05	7,058781
P3	49,13	54,41	56,30	159,84	53,28	3,715441
P4	45,80	62,56	55,69	164,04	54,68	8,426184
P5	50,93	67,88	68,42	187,23	62,41	9,945241
Total	265,77	332,59	324,54	922,89	307,63	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{922,89^2}{3 \times 5} = 56782,3$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 60,69^2 + 78,73^2 + 71,21^2 + \dots + 68,42^2 - 56782,3 = 1295,97$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{265,77^2 + 332,59^2 + 324,54^2}{5} - 56782,3 = 532,30$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{210,64^2 + 201,14^2 + 159,84^2 + 164,04^2 + 187,23^2}{3} - 56782,3 = 664,68$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 1295,97 - 523,30 - 664,68$$

$$= 98,99$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	532,294	266,147	21,5077	4,46	8,65
Perlakuan	4	664,678	166,17	13,4284	3,84	7,01
Galat	8	98,9961	12,3745			
Total	14	1295,97				

Kesimpulan: F hitung perlakuan > F tabel 1% maka perlakuan tersebut menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01)

## Lampiran 29. Lanjutan

### ➤ Uji Jarak Berganda Duncan

- Perhitungan JND 1% :

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{12,3745}{3}} \\ &= 2,03097 \\ UJBD_a &= R_{(p,v,a)} \times SE \end{aligned}$$

**Tabel Nilai Kritis UJBD 1%**

P	2	3	4	5
JND 1%	4,745	4,939	5,056	5,134
JNT 1%	9,63	10,03	10,27	10,43

**Tabel Kodifikasi**

Perlakuan	Rataan	Notasi
P3	53,28	a
P4	54,68	a
P5	62,41	ab
P2	67,05	b
P1	70,21	b

**Lampiran 30. Data Analisis Statistik Konsentrasi Gas Metan dari Produksi Gas Inkubasi 48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	33211,70	33272,53	71401,36	137885,59	45961,86	22031,3
P2	28126,04	37066,67	25262,28	90454,99	30151,66	6157,375
P3	31378,54	31097,39	47292,60	109768,53	36589,51	9270,214
P4	28261,81	31109,38	32797,23	92168,42	30722,81	2292,291
P5	24473,82	31070,20	78574,55	134118,57	44706,19	29515,72
Total	145451,91	163616,17	255328,02	564396,09	188132,03	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{564396,09^2}{3 \times 5} = 21236196678$$

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK \\ &= 33211,70^2 + 33272,53^2 + 71401,36^2 + \dots + 78574,55^2 - 21236196678 \\ &= 3643947624,94 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{kelompok} &= \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK \\ &= \frac{145451,91^2 + 163616,17^2 + 255328,02^2}{5} - 21236196678 = 1387584311 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{perlakuan} &= \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=1}^r y_{ij})^2}{r} - FK \\ &= \frac{137885,59^2 + 90454,99^2 + 109768,51^2 + 92168,42^2 + 134118,57^2}{3} \\ &\quad - 21236196678 = 672629415,2 \end{aligned}$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 3643947624,94 - 1387584311 - 672629415,2$$

$$= 1583733898,82$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	1387584311	693792155,5	3,504	4,46	8,65
Perlakuan	4	672629415,2	168157353,8	0,849	3,84	7,01
Galat	8	1583733898,81	197966737,4			
Total	14	2865609259				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

**Lampiran 31. Data Analisis Statistik Nilai VFA dari Produksi Gas Inkubasi  
48 Jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	78,20	82,02	59,87	220,09	73,36	11,84063
P2	66,63	71,50	69,32	207,45	69,15	2,439447
P3	78,95	72,93	50,82	202,70	67,57	14,8121
P4	83,10	74,75	31,97	189,82	63,27	27,42908
P5	80,40	67,02	56,49	203,91	67,97	11,98328
Total	387,28	368,22	268,47	1023,97	341,32	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{1023,97^2}{3 \times 5} = 69900,97$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 78,20^2 + 82,02^2 + 59,87^2 + \dots + 56,49^2 - 69900,97 = 2679,81$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{387,28^2 + 368,22^2 + 268,47^2}{5} - 69900,97 = 1628,61$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{220,09^2 + 207,45^2 + 202,70^2 + 189,82^2 + 203,91^2}{3} - 69900,97 = 156,80$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 2679,81 - 1628,61 - 156,80$$

$$= 36,24$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	1628,61	814,305	7,283	4,46	8,65
Perlakuan	4	156,803	39,2007	0,351	3,84	7,01
Galat	8	894,396	111,799			
Total	14	2679,81				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)

**Lampiran 32. Data Analisis Statistik Nilai Asetat dari Konsentrasi VFA berdasarkan Produksi Gas Inkubasi 48 jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	33,96	40,79	28,59	103,34	34,45	6,114543
P2	33,31	34,72	33,39	101,42	33,81	0,791981
P3	38,93	35,02	23,11	97,06	32,35	8,240233
P4	41,20	36,35	13,75	91,30	30,43	14,65028
P5	34,07	30,13	26,02	90,22	30,07	4,025299
Total	181,47	177,01	124,86	483,34	161,11	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{483,34^2}{3 \times 5} = 15574,5$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 33,96^2 + 40,79^2 + 28,59^2 + \dots + 26,02^2 - 15574,5 = 719,38$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{181,47^2 + 177,01^2 + 124,86^2}{5} - 15574,5 = 396,28$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{103,34^2 + 101,42^2 + 97,06^2 + 91,30^2 + 90,22^2}{3} - 15574,5 = 45,88$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 719,38 - 396,28 - 45,88$$

$$= 277,22$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	396,28	198,14	5,71	4,46	8,65
Perlakuan	4	45,881	11,4702	0,33	3,84	7,01
Galat	8	277,22	34,6525			
Total	14	719,381				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)



**Lampiran 33. Data Analisis Statistik Nilai Propionat dari Konsentrasi VFA dari Produksi Gas Inkubasi 48 jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	25,76	22,58	17,06	65,40	21,80	4,402136
P2	19,70	19,43	16,83	55,96	18,65	1,584813
P3	22,32	19,40	14,10	55,82	18,61	4,167029
P4	23,95	19,34	10,01	53,30	17,77	7,101932
P5	25,81	17,07	15,65	58,53	19,51	5,501963
Total	117,54	97,82	73,65	289,01	96,34	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{289,01^2}{3 \times 5} = 5568,45$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 25,76^2 + 22,58^2 + 17,06^2 + \dots + 15,65^2 - 5568,45 = 268,54$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{117,54^2 + 97,82^2 + 73,65^2}{5} - 5568,45 = 193,29$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{65,40^2 + 55,96^2 + 55,82^2 + 53,30^2 + 58,53^2}{3} - 5568,45 = 28,62$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 268,54 - 193,29 - 28,62$$

$$= 46,63$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	193,29	96,65	16,58	4,46	8,65
Perlakuan	4	28,62	7,15	1,22	3,84	7,01
Galat	8	46,63	5,83			
Total	14	268,54				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)

**Lampiran 34. Data Analisis Statistik Nilai Butirat dari Konsentrasi VFA dari Produksi Gas Inkubasi 48 jam**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	18,48	18,65	14,22	51,35	17,12	2,510027
P2	13,62	17,35	19,10	50,07	16,69	2,798982
P3	17,70	18,51	13,61	49,82	16,61	2,626601
P4	17,95	19,06	8,21	45,22	15,07	5,969676
P5	20,52	19,82	14,82	55,16	18,39	3,10859
Total	88,27	93,39	69,96	251,62	83,87	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{251,62^2}{3 \times 5} = 4220,84$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 18,48^2 + 18,65^2 + 14,22^2 + \dots + 14,82^2 - 4220,84 = 720,69$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{88,27^2 + 93,39^2 + 69,96^2}{5} - 4220,84 = 60,70$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=1}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{51,35^2 + 50,07^2 + 49,82^2 + 45,22^2 + 55,16^2}{3} - 4220,84 = 16,94$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 720,69 - 60,70 - 16,94$$

$$= 71,97$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	60,70	30,35	3,37	4,46	8,65
Perlakuan	4	16,94	4,23	0,47	3,84	7,01
Galat	8	71,97	8,99			
Total	14	149,6				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

**Lampiran 35. Data Analisis Statistik Nilai Estimasi Produksi Gas Metan**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	15,59	19,61	13,86	49,06	16,35	2,94697
P2	15,02	17,22	18,04	50,28	16,76	1,56065
P3	18,46	17,83	11,97	48,25	16,08	3,581006
P4	19,13	18,66	6,72	44,52	14,84	7,035848
P5	16,44	16,79	13,33	46,57	15,52	1,903957
Total	84,65	90,11	63,92	238,67	79,56	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{238,67^2}{3 \times 5} = 3797,66$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 15,59^2 + 19,61^2 + 13,86^2 + \dots + 13,33^2 - 3797,66 = 160,88$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{84,65^2 + 90,11^2 + 63,92^2}{5} - 3797,66 = 76,37$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{49,06^2 + 50,28^2 + 48,25^2 + 44,52^2 + 46,57^2}{3} - 3797,66 = 6,74$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan}$$

$$= 160,88 - 76,37 - 6,74$$

$$= 77,77$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	76,3731	38,186	3,92	4,46	8,65
Perlakuan	4	6,7386	1,684	0,173	3,84	7,01
Galat	8	77,77104	9,721			
Total	14	160,8828				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

**Lampiran 36. Data Analisis Statistik Nilai Perbandingan Asetat dan Propionat**

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-Rata	SD
	1	2	3			
P1	1,32	1,81	1,68	4,80	1,60	0,252709
P2	1,69	1,79	1,98	5,46	1,82	0,149417
P3	1,74	1,81	1,64	5,19	1,73	0,084047
P4	1,72	1,88	1,37	4,97	1,66	0,258666
P5	1,32	1,77	1,66	4,75	1,58	0,233073
Total	7,79	9,04	8,34	25,17	8,39	

$$FK = \frac{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r (y_{ij})^2}{t \times r} = \frac{25,17^2}{3 \times 5} = 42,24$$

$$JK_{total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - FK = 1,32^2 + 1,81^2 + 1,68^2 + \dots + 1,66^2 - 42,24 = 0,55$$

$$JK_{kelompok} = \frac{\sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^t y_{ij})^2}{t} - FK = \frac{7,79^2 + 9,04^2 + 8,34^2}{5} - 42,24 = 0,16$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{\sum_{i=1}^t (\sum_{j=i}^r y_{ij})^2}{r} - FK = \frac{4,80^2 + 5,46^2 + 5,19^2 + 4,97^2 + 4,75^2}{3} - 42,24 = 0,12$$

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{kelompok} - JK_{perlakuan} = 0,55 - 0,16 - 0,12 = 0,27$$

Tabel analisis ragam

SK	db	JK	KT	F hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Kelompok	2	0,15705	0,07853	2,31	4,46	8,65
Perlakuan	4	0,11562	0,02891	0,85	3,84	7,01
Galat	8	0,27191	0,03399			
Total	14	160,8828				

Kesimpulan: F hitung perlakuan < F tabel 5% maka perlakuan tersebut menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )