

PENGARUH EKSTRA DAUN ENTEROLOBIUM SE-
CARA IN-VITRO TERHADAP RASIO MASSA
BAKTERI DAN PROTOZOA RUMEN

R. Bahaudin., C. Hendratno., Titin. M
Nuniek, L. dan Aryanti.

**PENGARUH EKSTRAK DAUN ENTEROLOBIUM SECARA IN-VITRO
TERHADAP RASIO MASSA BAKTERI DAN PROTOZOA RUMEN**

R. Bahaudin *., C. Hendratno *., Titin, M *.,
Nuniek, L *. dan Ariyanti *.

ABSTRAK

**PENGARUH EKSTRAK DAUN ENTEROLOBIUM SECARA IN-VITRO
TERHADAP RASIO MASSA BAKTERI DAN PROTOZOA RUMEN.** Telah
dila kukan penelitian secara in-vitro untuk mempelajari
pengaruh tingkatan ekstrak daun enterolobium terhadap
pertumbuhan massa mikroba cairan rumen . Empat tingkatan
ekstrak daun enterolobium yaitu 0, 0,025, 0,050 dan 0,075
g digunakan sebagai perlakuan A, B, C dan D, dengan empat
tingkatan waktu inkubasi yaitu 3, 6, 9 dan 12 jam setelah
inkubasi, dan tiga ulangan untuk semua perlakuan. Rancan-
gan penelitian adalah faktorial yang dilaksanakan secara
rancangan acak lengkap dengan ukuran 4 X 4 X 3. Parameter
yang diamati adalah pH, kadar amonia dan VFA, dan rasio
mikroba cairan rumen. Hasil menunjukkan bahwa tingkatan
ekstrak daun enterolobium, tingkat waktu inkubasi dan
interaksi keduanya tidak berpengaruh terhadap semua param-
eter.

ABSTRACT

**EFFECT OF ENTEROLOBIUM LEAF EXTRACT IN-VITRO ON RUMEN
MASS BACTERIAL AND PROTOZOA RATIO.** The in-vitro experi-
ment has been done to study the effect of enterolobium
leaf extract levels on microbial mass growth in rumen
fluid. Four levels of enterolobium leaf extract that are
0, 0.025, 0.050 and 0.075 g as A, B, C and D treatments
were used in this experiment with, four levels of incuba-
tion time that are 3, 6, 9 and 12 hours after incubation,
and three replication for all treatments. The experimen-
tal design was factorial with completely randomized
design : 4 X 4 X 3. The observed parameters were pH, VFA
and amonia concentration, and rumen fluid microbes ratio.
The results indicated that enterolobium leaf extract
levels, time incubation levels and its interaction did not
influence to all parameters.

* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Batan

PENDAHULUAN

Ruminansia mampu memakan bahan yang kaya serat kasar dan mampu memecahnya menjadi produk-produk yang dapat diasimilasi di dalam rumen. Hal ini dapat berlangsung melalui fermentasi pakan dalam rumen oleh bakteri dan protozoa.

Di dalam rumen spesies-spesies bakteri dan protozoa memfermentasi polimer-polimer tanaman yang dikonsumsi hewan/ternak dan akan menghasilkan produk-produk seperti selulosa, hemiselulosa dan pati. Pada fermentasi tersebut protozoa sangat tidak menguntungkan karena protozoa juga memfermentasi (memakan) bakteri untuk memenuhi kebutuhan protozoa akan asam amino (nitrogen).

Aktivitas fermentasi bakteri lebih efektif dibanding protozoa karena bakteri mempunyai jumlah yang lebih besar (10^{10}) dari protozoa (10^5) dan bakteri aktif 1 jam setelah hewan makan sedangkan protozoa aktif bila asam amino telah tersedia dalam rumen. Sifat protozoa yang merugikan tersebut harus ditanggulangi agar tidak memakan bakteri, untuk mempertahankan jumlah bakteri atau mendapatkanimbangan populasi yang meningkatkan fermentasi pakan dalam rumen.

Untuk mendapatkanimbangan populasi mikroba di dalam rumen adalah dengan cara mempengaruhi pertumbuhan mikroba rumen terutama populasi protozoa rumen. Hal tersebut dapat dilakukan karena ternak masih dapat hidup normal walaupun tanpa adanya protozoa dalam rumen. Salah satu cara adalah

melalui pemberian bahan pakan yang mengandung zat-zat kimia (seperti tannin, saponin dan alkaloid lainnya) yang bersifat mempengaruhi pertumbuhan mikroba rumen (1, 2).

Baik populasi bakteri maupun populasi protozoa akan dipengaruhi oleh sifat-sifat tannin, tetapi bakteri memiliki keunggulan sifat dari protozoa. Bakteri memiliki sifat unggul dari protozoa antara lain jumlah (10^{10}) lebih besar dari jumlah protozoa (10^5), bakteri terhadap lingkungan lebih cepat berhadaptasi dari protozoa, dan bakteri lebih aktif berkembang dari protozoa, karena sifat-sifat tersebut bila mikroba rumen dipengaruhi maka beberapa waktu kemudian di dalam rumen bakteri lebih dominan dari pada protozoa.

Dilaporkan oleh SCHULTES (3) dan ALRASJID, dkk. (4) bahwa zat-zat kimia tersebut terdapat dalam hijauan *Enterolobium Cyclocapium* GRISEB, dan senyawa kimia tanin tidak larut dalam air serta bersifat fenolik. Dari hasil analisis Laboratorium Kimia Biologi Pair-Batan Jakarta, ternyata zat tanin yang terkandung dalam hijauan *enterolobium* adalah 65 ppm dan protein kasar 18 persen.

Menurut BAHAUDIN, dkk. (5) pemberian daun *enterolobium* 150, 200 dan 250 g/ekor/hari secara langsung kepada kambing (yang mendapat makanan basal berupa rumput lapangan + 150 g UMMB formula I) terdapat penekanan terhadap pertumbuhan mikroba rumen terutama pertumbuhan protozoa rumen. Dilaporkan juga bahwa perbedaan tingkat pemberian

daun enterolobium terlalu kecil (150, 200 dan 250 g) sehingga tidak menimbulkan perbedaan antara perlakuan.

Sebelum pemberian daun enterolobium dengan jumlah yang banyak dan langsung kepada ternak ruminansia dirasa perlu melakukan penelitian secara in-vitro. Untuk dapat melakukan penelitian secara in-vitro tersebut harus meng-ekstrak daun enterolobium. Tujuan penelitian ini adalah memanfaatkan daun enterolobium dalam pakan ternak ruminansia sebagai hijauan anti protozoa, agar tercapai keseimbangan populasi mikroba rumen yang menghasilkan fermentasi pakan yang optimal.

BAHAN DAN METODE

Ekstrak daun enterolobium (20 persen) diperoleh dengan mengekstrak daun enterolobium yang dilakukan di Laboratorium Kimia Biologi PAIR-BATAN Jakarta. Cara mendapatkan ekstrak daun enterolobium dilakukan metode ekstraksi biasa yaitu dengan cara merendam daun enterolobium dengan alkohol (ethanol p.a) selama 24 jam, kemudian disaring dengan saringan pacum pump. Hasil saringan diuapkan dengan menggunakan penguapan alkohol, setelah alkohol menguap sisanya adalah ekstrak daun enterolobium.

Tingkatan ekstrak daun enterolobium yang akan dipergunakan dalam penelitian in-vitro adalah 0, 0.025, 0.050, dan 0.075 g/25 ml media sampel. Tingkatan tersebut sama dengan 0, 200, 400 dan 600 g (berturut-turut 0, 40, 80 dan 120 g ekstrak) daun enterolobium yang diberikan langsung kepada kambing dengan volume rumen 10 liter. Tingkatan tersebutlah yang akan diteliti lanjut secara langsung pada kambing jantan PE.

Setiap hari seekor kerbau yang diberi makan dengan rumput lapangan + 350 g UMMB (formula I) dipergunakan sebagai donor cairan rumen. Cairan rumen diambil dengan vakum pump melalui fistula dan disaring dengan 4 lapis kain kassa. Pengambilan cairan rumen dilakukan pada 3 jam setelah hewan makan yaitu pada saat pertumbuhan mikroba rumen sedang memuncak.

Formula I UMMB yang dipergunakan sesuai dengan formulasi UMMB dalam penelitian yang dilakukan oleh SESANGKA, dkk. (6). Sedangkan komposisi media sampel cairan rumen sebagai perlakuan A, B, C dan D disajikan pada Tabel 1.

Penelitian ini berbentuk percobaan faktorial yang dilaksanakan dengan rancangan acak lengkap : 4 paket ekstrak daun enterolobium (0,000; 0,025; 0,050 dan 0,075 g), 4 tingkatan waktu inkubasi (3, 6, 9 dan 12 jam setelah inkubasi) dan 3 ulangan untuk semua perlakuan kombinasi, jadi banyaknya percobaan adalah $4 \times 4 \times 3$.

Parameter yang diamati adalah pH, kadar amonia dan VFA, dan rasio mikroba media cairan rumen. Penentuan pH, kadar amonia dan VFA, dan rasio mikroba cairan rumen dilakukan seperti penelitian terdahulu (7). Estimasi rasio mikroba dilakukan dengan menggunakan teknik inkorporasi radioisotop ^{14}C ke dalam sel mikroba. Radioisotop yang digunakan dalam

bentuk senyawa kimia glukosa- ^{14}C . Prosedur penggunaan radio isotop adalah menurut prosedur dari MULYANI (8).

HASIL DAN PEMBAHASAN.

lh 16

Karakteristik media sampel untuk semua parameter dicantumkan pada Tabel 2. 3, 4 dan 5. Tingkatan ekstrak daun enterolobium dan interaksi dari tingkatan ekstrak dan waktu inkubasi kurang memberikan respon perbedaan pada setiap parameter. Semua parameter terlihat mempunyai pola yang sama. Media sampel baik yang tidak diberi maupun yang diberi ekstrak daun enterolobium pada 3 jam inkubasi memperlihatkan kadar amonia, dan angka rasio mikroba yang paling tinggi bila dibandingkan dengan kadar amonia, dan angka rasio mikroba pada 12 jam inkubasi sehingga terdapat perbedaan yang nyata pada tingkat $P < 0,05$.

pH CAIRAN RUMEN MEDIA SAMPEL. pH cairan media sampel dapat dilihat pada Tabel 2. Baik tingkatan ekstrak daun enterolobium, tingkatan waktu inkubasi maupun interaksi dari keduanya tidak berpengaruh terhadap pH media sampel. Nilai pH untuk semua perlakuan dan waktu inkubasi berkisar antara 6,70 - 6,99; hal tersebut masih mendukung

pertumbuhan mikroba. Menurut HUNGATE (9) bahwa mikroba rumen akan berkembang secara normal pada pH antara 5,5 - 7,0, dengan demikian mikroba dalam media sampel masih hidup sampai 12 jam inkubasi. Aktivitas mikroba kurang terlihat pada semua parameter

(Tabel 2, 3, 4 dan 5), hal ini mungkin disebabkan karena volume perlakuan yang digunakan masih belum seimbang dengan volume media sampel.

KADAR AMONIA MEDIA SAMPEL. Tingkatan ekstrak daun enterolobium dan interaksi antar perlakuan dan waktu inkubasi tidak berpengaruh pada kadar amonia media sampel. Pada 3 jam inkubasi kadar amonia adalah yang paling tinggi dari pada setiap waktu inkubasi lainnya. Hal ini terjadi karena pada saat tersebut bakteri rumen sedang berkembang dengan pesat sehingga hasil fermentasi pakan dan jumlah bakteri meningkat. Sedangkan 12 jam setelah inkubasi adalah saat protozoa berkembang dan memanfaatkan nitrogen yang tersedia termasuk bakteri yang merupakan salah satu faktor penyebab jumlah bakteri dan kadar amonia berkurang.

Hal ini ditunjukkan oleh hasil fermentasi seperti kadar amonia (Tabel 3) dan kadar VFA (Tabel 4). Hal tersebut ditunjukkan pula oleh angka rasio mikroba yang tinggi pada 3 jam inkubasi yaitu 1,5 , kalau massa bakteri yang tinggi ditunjukkan oleh hasil fermentasi yang tinggi (Tabel 3). Kadar amonia media sampel untuk semua perlakuan cenderung turun dari 3 jam sampai 12 jam setelah inkubasi. Hal ini terjadi mungkin karena protozoa telah memanfaatkan hasil fermentasi, sehingga kadar amonia cenderung berkurang sampai saat 12 jam inkubasi (9, 10). Sedangkan bahan pakan yang baru tidak terdapat lagi pada media sampel sampai 12 jam inkubasi. Pengaruh ekstrak masih belum terlihat

hal tersebut mungkin karena penggunaan ekstrak masih belumseimbang dengan volume media sampel. Namun tingkatan waktu inkubasi mempengaruhi kegiatan mikroba media sampel pada tingkat $P < 0,05$.

KADAR ASAM LEMAK MUDAH TERBANG (VFA). Tingkatan ekstrak daun enterolobium tidak mempengaruhi kadar VFA cairan media sampel. Kadar VFA sangat dipengaruhi oleh hasil

fermentasi karbohidrat pakan (11). Kadar VFA media sampel kelihatan belum maksimal, hal ini mungkin aktivitas bakteri terutama protozoa kurang pesat memfermentasi karbohidrat. Protozoa akan aktif bila asam amino tersedia banyak dalam media sampel dan tidak adanya zat tanin yang terkandung pada ekstrak daun enterolobium. Terutama protozoa sangat peka dengan perubahan-perubahan ekosistem lingkungan rumen (11). Tidak maksimalnya kadar VFA bisa juga karena sifat tanin yang terkandung dalam ekstrak daun enterolobium (12, 13) yaitu mencegah terdegradasinya protein sehingga kebutuhan protozoa akan asam amino tidak terpenuhi. Hal tersebut dapat dilihat dari angka rasio mikroba yang menunjukkan bahwa masih tingginya massa bakteri yaitu 1.2 pada 12 jam setelah inkubasi (Tabel 5).

RASIO MIKROBA (B/P) MEDIA SAMPEL. Angka rasio berasal dari angka cacahan radioisotop C^{14} yang terinkorporasi kedalam sel mikroba (bakteri dan protozoa), semakin besar angka rasio

semakin besar angka pertumbuhan populasi bakteri. Tingkatan ekstrak daun enterolobium tidak berpengaruh terhadap angka rasio mikroba media sampel (Tabel 5). Pada 3 jam inkubasi angka rasio mikroba terlihat paling tinggi dan secara statistik berbeda nyata pada tingkat $P < 0,05$. Pada 9 - 12 jam inkubasi angka rasio mikroba media sampel tidak terlihat adanya perubahan walaupun saat tersebut adalah saat protozoa bertumbuh dengan pesat (14, 15). Hal ini mungkin karena sifat tanin ekstrak daun enterolobium sehingga aktivitas mikroba sangat berkurang. Pada Tabel 5 terlihat pada 6 jam inkubasi angka ratio mikroba media sampel yang tidak diberi ekstrak (A) adalah 1,4 sedangkan yang diberi ekstrak (B, C dan D) adalah 1,3; 1,2; dan 1,2 secara sidik ragam tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa protozoa belum berperan karena massa bakteri masih tinggi yaitu 1.2 dan dapat dilihat pada kadar VFA yang tidak meningkat (Tabel 3). Kadar VFA merupakan hasil fermentasi karbohidrat oleh mikroba terutama protozoa (16) sedangkan angka rasio mikroba menunjukkan bahwa protozoa belum berkembang sehingga kadar VFA belum berkembang pula.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sementara :

Penggunaan ekstrak daun enterolobium (in-vitro) dengan

tingkatan 0,000; 0,025; 0,050 dan 0,075 g/25 ml media sampel tidak nampak mempengaruhi pertumbuhan mikroba media sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH.

lh 16

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Patuan, S. atas bantuannya melakukan pembakaran biologis dan sekaligus melakukan pencacahan $^{14}\text{CO}_2$ yang berasal dari sel mikroba dan penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Edi Irawan Kosasih dan Sdr. Adul bin Eboh atas bantuannya memelihara hewan sebagai donor media sampel.

DAFTAR PUSTAKA

1. SCHANDERL, S.H., Tannin and related fenolics., in Food Sci. and technology A series of monographs, 2 nd ed (Joslyn, M.A., eds)., Academic Press, London (1973) 701 - 704.
2. KUMAR, R., Tannin : Their Adverse Role in Ruminant Nutrition., Review, J. Agric. Food Chem, 32 (1984) 447.
3. SCHULTES, R.E., ``Toxist Plant``, The Encyclopedia of Biochemistry , Reinheld Puplicing Corporation (1987) 799.

4. ALRASJID, H. dan SUDAKSONO., Keterangan tentang enterolobium cyclocarpium griseb., Laporan no.117, Lembaga Penelitian Kehutanan Bogor, Dektorat Kehutanan - Deptan ,Bogor (1974).
5. BAHAUDIN, R., HENDRATNO, C., SYAMSI, A. dan ARIYANTI., Studi Pengaruh Daun Enterolobium pada Ekosistem Rumen Kambing PE., Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam bidang Pertanian, Peternakan dan Biologi - Batan, Jakarta (1993) 751.
6. SESANGKA, B.H., HIBRAHIM GOBEL., T. MARYATI., N. LELANINGTIYAS. dan C. HENDRATNO., Pemberian Secara Bertingkat Terhadap Nilai Biologis Pakan., Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam bidang Pertanian, Peternakan dan Biologi - Batan, Jakarta (1993) 729.
7. BAHAUDIN, R., Pengaruh Penambahan Molase blok dalam Ransum Terhadap Ratio Bakteri dan Protozoa Rumen Kambing., Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam bidang Pertanian, Peternakan dan Biologi - Batan, Jakarta (1991) 671.
8. MULYANI, D., Penggunaan Treacer ^{32}P dan ^{125}I dalam Penelitian Nutrisi dan Reproduksi Kambing Peranakan Etawah di Pair - Batan Jakarta., Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam - IPB, Bogor (1992).
9. HUNGATE, R.E., The Rumen and It`s Microbes., Academic Press New York (1966).
10. LENG, R.A., The Microbial Interaction in the Rumen., Proc. of the Symposium Held at University of Western Australia, Australia (1984) 1171.
11. COLEMAN, G.S. and LAURIE, J.I., The Metabolism of Starch, Glucosa, Amino acid, Purin, Pyrimidin and Bactery by Tree Epidinium spp Isolated from Rumen., J. of General Microbiology, 85 (1977) 244.
12. PRITCHARD, D.A., MARTIN, P.R. and O`ROURKE, P.K., The Role of Condensed Tannin in the Nutritional Value of Mulga (Acacia aneura) for sheep., Aust. J. Agric. Res., 43 (1992) 739 - 746.
13. KUMAR, R. and SINGH, M., Tannin : Their Adverse Role in Ruminant Nutrition ., J. Agric. Food Chem, 32 (1984) 447 -453.
14. PURSER, D.B. and MOIR, R.J., Variation in Rumen Volume and Asosiated Effect as Factor Influencing Metabolism

and Protozoa Concentration in the Rumen of sheep., Aust. J. Agric. Res., 16 (1965) 516.

15. CHURCH, D.C., Digestive Physiology and Nutrition of Ruminant., Volume 2. Oxford Press Inch, 1427 SE Strak, Porland Oregon (1979).
16. COLEMAN, G.S., The Metabolism of Starch, Glucosa, Amino acid, Purin, Pyrimidin and Bactery by the Rumen Ciliata Entodinium Simplex., J. of General Microbiology ., 71 (1972) 117.

Tabel 1. Komposisi Media Sampel

Macam	Macam perlakuan			
	A	B	C	D
Cairan rumen (ml)	25	25	25	25
Ekstrak daun - enterolobium (mg)	0	25	50	75
Rumput halus (mg)	10	10	10	10
Glukosa- ¹⁴ C (ul enceran)	100	100	100	100

Tabel 2. Perubahan pH cairan rumen sebagai akibat pemberian ekstrak daun enterolobium secara in-vitro

Para- meter	Perla- kuan ekstrak	Waktu inkubasi (jam)				Rata- rata
		3	6	9	12	
pH cairan- rumen	A	6,95	6,80	6,85	6,82	6,85
	B	6,92	6,82	6,99	6,94	6,91
	C	6,95	6,90	6,85	6,88	6,89
	D	6,70	6,84	6,83	6,68	6,76
Rata-rata		6,88	6,84	6,88	6,83	—
BNT				5 %	1 %	
Pengaruh perlakuan ekstrak (p.e)				t.n	t.n	
Pengaruh waktu inkubasi (w.i)				t.n	t.n	
Pengaruh interaksi (p.e) X (w.i)				t.n	t.n	
Koefisien Keragaman (KK) = 1,5 %						

Tabel 3. Perubahan kadar amonia cairan rumen sebagai akibat pemberian ekstrak daun enterolobium secara in-vitro (mg/100 ml cairan rumen).

Para- meter	Perla- kuan ekstrak	Waktu inkubasi (jam)				Rata- rata
		3	6	9	12	
Amonia cairan rumen	A	16,93	15,25	15,77	15,74	15,92
	B	16,25	15,07	15,79	15,01	15,53
	C	16,66	16,27	16,21	15,80	16,24
	D	16,69	16,69	16,41	15,70	16,39
Rata-rata		16,63	15,84	16,04	15,62	—
BNT				5 %	1 %	
Pengaruh (p.e)				t.n	t.n	
Pengaruh (w.i)				0,46	0,62	
Pengaruh (p.e) X (w.i)				t.n	t.n	
KK = 10,16 %						

Tabel 4. Perubahan kadar VFA cairan rumen sebagai akibat pemberian ekstrak daun enterolobium secara in-vitro (mmol/100 ml cairan rumen).

Para- meter	Perla- kuan ekstrak	Waktu inkubasi (jam)				Rata- rata
		3	6	9	12	
VFA cairan rumen	A	6,13	5,55	5,38	5,45	5,60
	B	6,76	6,15	5,39	5,58	6,00
	C	6,66	6,73	5,54	5,39	6,10
	D	6,76	6,15	5,45	5,37	5,90
Rata-rata		6,60	6,10	5,40	5,40	—
BNT			5 %	1 %		
Pengaruh (p.e)			t.n	t.n		
Pengaruh (w.i)			0,36	0,48		
Pengaruh (p.e) X (w.i)			t.n	t.n		
KK = 5,45 %						

Tabel 5. Perubahan ratio mikroba (B/P) cairan rumen sebagai akibat pemberian ekstrak daun enterolobium secara in-vitro.

Para- meter	Perla- kuan kuan	Waktu inkubasi (jam)				Rata- rata
		3	6	9	12	
Ratio cairan rumen	A	1,5	1,4	1,3	1,2	1,4
	B	1,5	1,3	1,3	1,2	1,3
	C	1,5	1,2	1,2	1,2	1,3
	D	1,5	1,2	1,2	1,2	1,3
Rata-rata		1,5	1,3	1,2	1,2	—
BNT			5 %	1 %		
Pengaruh (p.e)			t.n	t.n		
Pengaruh (w.i)			0,25	0,34		
Pengaruh (p.e) X (w.i)			t.n	t.n		
KK = 22,74 %						