

SUPLEMETASI VITAMIN E DALAM CAIRAN RUMEN *IN VITRO*: ANALISIS PARAMETER FERMENTASI**VITAMIN E SUPPLEMENTATION IN *IN VITRO* RUMINAL FLUID: ANALYSIS OF FERMENTATION PARAMETERS****Firman Nasiu^{1*}, Lies Mira Yusiati², dan Supadmo²**¹Fakultas Peternakan, Univesitas Halu Oleo, Kendari, 93232²Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281

Submitted: 30 April 2016, Accepted: 15 June 2016

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh vitamin E terhadap parameter fermentasi dengan sistem fermentasi *in vitro* menggunakan cairan rumen kambing Bligon jantan. Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi terdiri atas 65% rumput raja, 20% bekatul, dan 15% bungkil kacang kedelai dengan penambahan 3% *capsulated crude palm oil* (CCPO). Sistem fermentasi secara *in vitro* dibagi dalam 3 kelompok perlakuan: tanpa suplementasi vitamin E sebagai kelompok pertama (R0), suplementasi vitamin E 200 mg per kg bahan kering pakan sebagai kelompok kedua (R1), dan suplementasi vitamin E 400 mg sebagai kelompok ketiga (R2). Semua kelompok diinkubasi selama 48 jam menggunakan metode Menke dan Steingass. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi vitamin E sampai level 400 mg tidak berpengaruh terhadap parameter fermentasi (VFA, NH₃, dan pH) cairan rumen.

(Kata kunci: *In vitro*, Parameter fermentasi, Vitamin E)**ABSTRACT**

The aim of this study was to examine the effect of vitamin E on fermentation parameters by using an *in vitro* fermentation system with ruminal fluid from male Bligon goats. Substrats used in fermentation process comprised of 65% of king grass, 20% of rice bran, and 15% of soybean meal, with additional 3% of *capsulated crude palm oil* (CCPO). Treatments of an *in vitro* fermentation were divided into 3 groups, those are group without vitamin E supplementation (R0), group with 200 mg per kg DM vitamin E supplementation (R1), and 400 mg vitamin E supplementation (R2). All groups were incubated for 48 hours according to Menke and Steingass method. Results showed that vitamin E supplementation at the level of 400 mg did not affect fermentation parameters (VFA, NH₃, and pH) on ruminal fluid.

(Key words: *Fermentations parameters, In vitro, Vitamin E*)**Pendahuluan**

Vitamin E diketahui dapat memperbaiki kinerja ternak ruminansia (Macit *et al.*, 2003). Vitamin E merupakan antioksidan biologis potensial yang diperoleh hanya melalui makanan. Fungsi utama vitamin E adalah sebagai antioksidan pemutus rantai produksi radikal bebas dalam sel membran (Channon dan Trout, 2002) dan untuk memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil dari PUFA yang telah mengalami peroksidasi (Murray *et al.*, 1996). Penyerapan vitamin E dari saluran pencernaan dapat

diperbaiki dengan adanya lemak. Sebagai sumber lemak pakan dapat digunakan minyak sawit terproteksi (*capsulated crude palm oil*-CCPO) (Tiven, 2011). Oleh karena itu suplementasi minyak dalam ransum diharapkan akan meningkatkan penyerapan vitamin E, menghasilkan konsentrasi vitamin E yang lebih tinggi dalam sel darah merah (Aharoni *et al.*, 2005). Secara normal, konsentrasi vitamin E yang tertinggi adalah di dalam plasma, hati, dan jaringan lemak.

Gangguan absorpsi lemak akan menimbulkan defisiensi vitamin E karena tokoferol larut dalam lemak makanan dan dibebaskan serta diserap selama proses

* korespondensi (*corresponding author*):

Telp. +62 811 409 2627

E-mail: firman_nasiu@yahoo.com

pencernaan lemak (Murray *et al.*, 1996). Lebih lanjut dinyatakan, vitamin E diangkut dalam darah oleh lipoprotein melalui penyatuan ke dalam kilomikron yang mendistribusikan vitamin tersebut ke jaringan yang mengandung lipoprotein lipase kemudian ke hati, dan melalui pengeluaran dari hati di dalam lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL). Vitamin E disimpan dalam jaringan adiposa.

Vitamin E diketahui tidak mengalami degradasi di dalam rumen (Leedle *et al.*, 1993; McDiarmid *et al.*, 1994) sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan di dalam proses metabolisme sel tubuh. Han dan Owens (1999) menyatakan bahwa vitamin E dalam bentuk *α-tocopherol* tidak mengalami degradasi di dalam rumen dan *α-tocopheryl acetate* tidak secara ekstensif berubah menjadi *α-tocopherol*. Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh vitamin E terhadap parameter fermentasi cairan rumen *in vitro* sehingga dapat memberikan informasi mengenai penggunaan vitamin E pada ternak ruminansia.

Materi dan Metode

Pengujian *in vitro*

Minyak sawit kasar (*crude palm oil-CPO*) dicampur secara merata dengan susu bubuk afkir dengan perbandingan 1 : 2. Susu bubuk afkir ini berfungsi sebagai sumber protein yang akan berikatan dengan formaldehid untuk melindungi lemak. Campuran CPO dan susu bubuk afkir ditambahkan formaldehid teknis 37% dengan level 2% (Tiven, 2011) dari berat campuran tersebut kemudian dicampur kembali secara merata sehingga membentuk CPO yang terkapsulasi (*Capsulated Crude Palm Oil-CCPO*).

Analisis parameter fermentasi secara *in vitro* dilakukan terhadap ransum yang mengandung CCPO pada level vitamin E yang berbeda. Sebanyak 27 botol fermentor dibagi dalam 3 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 9 botol. Masing-masing botol sebagai fermentor diisi dengan rumput gajah, bekatul, bungkil kedelai dengan jumlah total 300 mg yang kemudian ditambahkan CCPO 3% dari bahan kering pakan. Kelompok 1 tidak diisi dengan vitamin E, sedangkan kelompok 2 dan 3 masing-masing diisi dengan vitamin E sebanyak 0,06 mg (200 mg per kg bahan kering) dan 0,12 mg (400 mg per kg bahan kering pakan) (Karami *et al.*,

2011). Pada semua botol fermentor ditambahkan 30 ml campuran cairan rumen kambing Bligon dan buffer, kemudian botol fermentor ditutup dan diklem. Botol fermentor diinkubasi pada suhu 39°C selama 48 jam dalam keadaan anaerob sesuai metode Menke dan Steingass (1988) yang telah dimodifikasi oleh Ranilla *et al.* (2001).

Pengujian parameter fermentasi

Pengujian parameter fermentasi rumen dilakukan dengan menuang cairan fermentasi dari dalam botol fermentor ke dalam tabung reaksi dan disentrifus dengan kecepatan 500 g selama 15 menit untuk memisahkan partikel pakan. Filtrat yang diperoleh dari hasil sentrifugasi ini digunakan untuk penentuan kadar NH₃ (Weatherburn, 1967), total VFA (metode gas *chromatography*), dan pH (Abreu *et al.*, 2004).

Analisis data

Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan ANOVA dengan rancangan acak lengkap pola searah program SPSS versi 17.0 (Chicago, IL, USA). Perbedaan antar perlakuan diuji lanjut dengan Duncan's New Multiple Range Test.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh suplementasi vitamin E terhadap parameter fermentasi cairan rumen dapat dilihat pada Tabel 1.

Amonia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa level vitamin E yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap rerata kadar NH₃ cairan fermentasi yang ditunjukkan dengan kadar NH₃ pada perlakuan tanpa suplementasi vitamin E, vitamin E 200 mg dan vitamin E 400 mg masing-masing sebesar 47,09 mg/100ml, 54,61 mg/100 ml dan 52,17 mg/100 ml. Salah satu faktor yang mempengaruhi konsentrasi NH₃ dalam cairan fermentasi adalah kecepatan proses degradasi protein pakan. Konsentrasi NH₃ rumen bervariasi tergantung pada jumlah protein pakan, laju degradasi protein dan waktu setelah pemberian pakan. Di dalam rumen protein mengalami hidrolisis menjadi peptida dan asam amino oleh aktifitas enzim mikroba. Selanjutnya asam amino oleh aktifitas mikroba mengalami deaminasi menghasilkan NH₃ (Hungate, 1966).

Bakteri dan protozoa merupakan mikrobia proteolitik yang berperan penting dalam proses degradasi protein pakan di

Tabel 1. Kadar NH₃, VFA, dan pH cairan rumen fermentasi dengan level vitamin E yang berbeda (rerata±SD)
(NH₃ content, VFA, and pH of fermentation ruminal fluid with different level of vitamin E (average±DS))

Parameter fermentasi (fermentation parameters)	Level vitamin E (mg/kg BK) (level of vitamin E (mg/kg DM))			Tingkat signifikansi (signification level)
	0	200	400	
NH ₃ (mg/100 ml) (NH ₃ (mg/100 ml))	47,09±9,04	54,61±5,15	52,17±11,81	ns
VFA (mM/L) (VFA (mM/L)) :				
Asetat (acetate)	8,16±1,48	9,18±0,49	10,04±0,27	ns
Propionat (propionate)	2,65±0,35	3,02±0,31	3,15±0,23	ns
Butirat (butyrate)	0,97±2,00	1,66±0,96	1,08±0,07	ns
Total VFA (total of VFA)	11,79±1,86	13,86±1,43	14,27±0,49	ns
Rasio C2:C3 (C2:C3 ratio)	3,07±0,20	3,05±0,24	3,20±0,15	ns
pH (pH)	6,54±0,16	6,55±0,16	6,55±0,16	ns

^{ns} Tidak berbeda nyata (non significant different).

dalam rumen. Bakteri dan protozoa menghasilkan enzim protease, peptidase, dan deaminase untuk mendegradasi protein menjadi asam amino, peptida, dan akhirnya menjadi amonia (Chuzaeami dan Bruchem, 1990). Stern *et al.* (2006) menyatakan bahwa degradasi protein dalam rumen merupakan hasil dari aktifitas mikrobia tergantung pada tipe protein, laju aliran rumen, pH rumen, substrat yang dapat difermentasi, dan spesies flora rumen yang dominan. Diperkirakan bakteri dan protozoa proteolitik banyak terdapat pada cairan fermentasi.

Hasil penelitian cairan fermentasi pada suplementasi vitamin E menunjukkan kadar NH₃ masih dalam batas normal untuk pertumbuhan mikrobia sebagaimana yang dinyatakan oleh Satter dan Slyter (1972) bahwa kadar NH₃ sampai 80 mg/100 ml tidak mengganggu pertumbuhan mikrobia rumen, dengan demikian dapat dinyatakan bahwa penambahan vitamin E dalam cairan rumen *in vitro* tidak mengganggu produksi NH₃ oleh mikrobia rumen.

Volatile fatty acid (VFA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa level vitamin E yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap rerata kadar VFA (asetat, propionat, dan butirat), total VFA, maupun rasio C2:C3 cairan fermentasi yang ditunjukkan dengan konsentrasi total VFA cairan fermentasi pada perlakuan tanpa suplementasi vitamin E, vitamin E 200 mg, dan vitamin E 400 mg masing-masing sebesar 11,79 mM, 13,86 mM, dan 14,27 mM. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan vitamin E dalam cairan rumen *in vitro* tidak mengganggu produksi VFA oleh mikrobia rumen. McDonald *et al.* (2002) menyatakan bahwa

konsentrasi VFA dalam rumen antara 0,2-1,5 g/100 ml (10-70 mM/L).

Rasio asetat:propionat:butirat pada perlakuan tanpa suplementasi vitamin E, suplementasi vitamin E 200 mg, dan suplementasi vitamin E 400 mg berturut-turut adalah 69,27:22,48:8,25; 66,21:21,82:11,97; dan 70,35:22,06:7,59. Proporsi asetat:propionat tersebut masih berada dalam kisaran hasil penelitian Bergman *et al.* (1965) yang menunjukkan bahwa proporsi asetat:propionat:butirat cairan rumen domba berturut-turut berkisar antara 63 - 70%:17 - 21%:11 - 16%. Proporsi asetat yang lebih tinggi dibandingkan dengan propionat disebabkan karena pakan dalam cairan fermentasi banyak mengandung serat dengan adanya bahan pakan hijauan sebanyak 65% dari total pakan dibandingkan dengan konsentrat sebanyak 35%. Pakan yang kaya akan glukosa meningkatkan produksi propionat sementara pakan yang kaya serat meningkatkan produksi asetat (Dijkstra, 1994). Selanjutnya dinyatakan bahwa proporsi relatif VFA yang diproduksi dipengaruhi oleh sejumlah faktor termasuk komposisi substrat, ketersediaan substrat dan laju depolimerisasi, dan spesies mikrobia yang ada.

Konsentrasi total VFA pada cairan fermentasi juga dipengaruhi oleh nilai pH yang tetap stabil sekitar 6,54-6,55. Erfle *et al.* (1982) menyimpulkan produksi VFA menurun ketika pH rumen turun dari 7 ke 5, karena enzim yang penting untuk memecah serat tidak dapat berfungsi secara efektif pada pH di bawah 6 dan laju pertumbuhan bakteri fibrolitik menurun secara nyata pada pH yang rendah (Russel dan Wilson, 1996). Sung *et al.*

(2007) menyatakan bahwa produksi VFA pada pH 6,2 dan 6,8 lebih tinggi dibandingkan pada pH 5,7. Mouriño *et al.* (2001) menyatakan bahwa pH merupakan faktor yang paling penting yang dapat mempengaruhi fermentasi selulosa di dalam rumen dan bakteri selulolitik dapat bekerja optimal pada pH di atas 6. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan vitamin E dalam cairan rumen *in vitro* tidak mengganggu produksi VFA.

Bakteri selulolitik tidak dapat bekerja optimal pada pH yang rendah (Russel dan Wilson, 1996). Bakteri merupakan mikrobia pencerna serat kasar yang utama di dalam rumen. Bakteri fibrolitik *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, dan *Ruminococcus albus*, secara umum diketahui sebagai organisme utama yang bertanggungjawab terhadap degradasi dinding sel tanaman di dalam rumen (Wang dan McAllister, 2002). Untuk dapat mendegradasi selulosa maka bakteri mengekskresikan enzim selulase. Enzim selulase mendegradasi selulosa melalui aksi sinergi dari aktivitas tiga enzim yaitu endoglukanase yang juga disebut *carboxymethyl cellulase (CMCase)* (*endo-1,4-β-D-glucanase*), eksoglukanase (yang juga disebut sebagai *cellobiohydrolase*) (*exo-1,4-β-D-glucanase*), dan β-glukosidase (*1,4-β-D-glucosidase*) (Li *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2008 *cit.* Gori dan Malana, 2010). Selanjutnya dinyatakan bahwa konsentrasi VFA dipengaruhi oleh aktivitas CMCase yang berperan penting dalam degradasi selulosa karena merupakan enzim utama dari enzim kompleks selulase yang berperan dalam mencerna selulosa.

Derajat keasaman (pH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa level vitamin E yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap rerata nilai pH cairan fermentasi. Nilai pH dalam cairan fermentasi yang rerata berkisar 6,54 - 6,55 tersebut ternyata masih dalam batas untuk pertumbuhan mikrobia yang optimal. Hal tersebut memperlihatkan bahwa penambahan vitamin E dalam cairan rumen *in vitro* tidak mengganggu derajat keasaman cairan rumen. Nilai pH rumen bervariasi, pakan yang mengandung banyak biji-bijian akan menyebabkan penurunan pH sampai di bawah 5,0 dan pakan berserat dapat menyebabkan kenaikan pH sampai di atas 7,0 (Erfle *et al.*, 1982). Krause *et al.* (2002) menyatakan, nilai pH rumen

dipengaruhi oleh konsentrasi serat dalam pakan. Nilai pH rumen dapat mempengaruhi produksi NH₃ dan VFA dalam rumen karena aktivitas mikrobia rumen dapat dipengaruhi oleh pH. Stern *et al.* (2006) menyatakan degradasi protein dalam rumen merupakan hasil dari aktifitas mikrobia yang dapat dipengaruhi oleh pH rumen. Sementara itu Erfle *et al.* (1982) menyimpulkan produksi VFA menurun ketika pH rumen turun dari 7 ke 5, karena enzim yang penting untuk memecah serat tidak dapat berfungsi secara efektif pada pH di bawah 6 dan laju pertumbuhan bakteri fibrolitik menurun secara nyata pada pH yang rendah (Russel dan Wilson, 1996).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa suplementasi vitamin E sampai dengan level 400 mg per kg bahan kering pakan tidak berpengaruh terhadap parameter fermentasi (NH₃, VFA, dan pH) di dalam cairan rumen *in vitro*.

Daftar Pustaka

- Abreu, A., J. E. Carulla, C. E. Lascano, T. E. Diaz, M. Kreuzer, and H. D. Hess. 2004. Effect of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenum nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. *J. Anim. Sci.* 82: 1392-1400.
- Aharoni, Y., A. Orlov, A. Brosh, R. Granit, and J. Kanner. 2005. Effect of soybean oil supplementation of high forage fattening diet on fatty acid profiles in lipid depots of fattening bull calves, and their levels of blood vitamin E. *Anim. Feed Sci. Tech.* 119: 191-202.
- Bergman, E. N., R. S. Reid, M. G. Murray, J. M. Brockway, and F. G. Whitelaw. 1965. Interconversions and production of volatile fatty acids in the sheep rumen. *Biochem. J.* 97: 53-58.
- Channon, H. A. and G. R. Trout. 2002. Effect of tocopherol concentration on rancidity development during frozen storage on a cured and uncured processed pork product. *Meat Sci.* 62: 9-17.
- Chuzaeami, S. dan J. V. Bruchem. 1990. *Fisiologi Nutrisi Ruminansia*. Universitas Brawijaya, Malang.

- Dijkstra, J. 1994. Production and absorption of volatile fatty acid in the rumen. *Livest. Prod. Sci.* 39: 61-69.
- Erfle, J. D., R. J. Boila, R. M. Teather, S. Mahadevan, and F. D. Sauer. 1982. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 8:1457-1464.
- Gori, M. I. and M. A. Malana. 2010. Production of carboxymethyl cellulase from local isolate of *Aspergillus* species. *Pak. J. Life Soc. Sci.* 1: 1-6.
- Han, H. and F. N. Owens. 1999. Degradation of tocopherol and tocopheryl acetate by ruminal contents *in vitro*. *Anim. Sci. Res. Rep.* 119-125.
- Hungate, R. E. 1966. *The Ruminant and Its Microbes*. Agricultural Experimental Station, University of California. Academic Press. New York, San Fransisco, London.
- Karami, A., A. R. Alimon, A. Q. Sazili, Y. M. Goh, and M. Ivan. 2011. Effects of dietary antioxidants on the quality, fatty acid profile, and lipid oxidation of *longissimus* muscle in Kacang goat with aging time. The American Meat Science Association.
- Krause, K. M., D. K. Combs, and K. A. Beauchemin. 2002. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *J. Dairy Sci.* 85: 1947-1957.
- Leedle, R. A., J. A. Z. Leedle, and M. D. Butine. 1993. Vitamin E is not degraded by ruminal microorganism : assessment with ruminal contents from a steer fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 71: 3442-3450.
- Macit, M., V. Aksakal, E. Emsen, M. I. Aksu, M. Karaoglu, and N. Esenbuga. 2003. Effects of vitamin E supplementation on performance and meat quality traits of Morkaraman male lambs. *Meat Sci.* 63: 51-55.
- McDiarmid, R. E., W. Majak, and K. J. Cheng. 1994. Procedure for analysis of α -tocopherol acetate in bovine ruminal fluid. *Can. J. Anim. Sci.* 74: 391-392.
- McDonald, P., R. A. Edwards, S. F. D. Greenhalgh, and C. A. Morgan. 2002. *Animal Nutrition*. 6th ed. Pearson Education Limited.
- Menke, K. H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- Mouriño, F., R. Akkarawongsa, and P. J. Weimer. 2001. Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 84: 848-859.
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes, and V. W. Rodwell. 1996. *Biokimia Harper (Harper's Biochemistry)* Edisi 24, diterjemahkan oleh dr. Andry Hartono, D.A.N. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Ranilla, M. J., M. D. Carro, S. Lopez, C. J. Newbold, and R. J. Wallace. 2001. Influence of nitrogen source on the fermentation of fibre from barley straw and sugarbeet pulp by ruminal microorganism *in vitro*. *Br. J. Nutr.* 86: 717-724.
- Russel, J. B. and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 8: 1503-1509.
- Satter, L. D. and L. L. Slyter. 1972. Effect of ammonia concentration on ruminal microbes *in vitro*. *J. Anim. Sci.* 35: 237-280.
- Stern, M. D., A. Bach, and S. Calsamiglia. 2006. *New Concepts in Protein Nutrition of Ruminants*. 21st Annual Southwest Nutrition & Management Conference, February 23-24, 2006.
- Sung, H. G., Y. Kobayashi, J. Chang, A. Ha, I. H. Hwang, and J. K. Ha. 2007. Low ruminal pH reduces dietary fiber digestion via reduced microbial attachment. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2: 200-207.
- Tiven, N. C. 2011. *Kajian minyak sawit kasar yang diproteksi dengan formaldehid sebagai aditif pakan untuk meningkatkan kualitas daging domba*. Disertasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wang, Y. and T. A. McAllister. 2002. Rumen microbes, enzymes, and feed digestion- a review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 11: 1659-1676.

- Weatherburn, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 39: 971-974.
- Li, Y. H., M. Ding, J. Wang, G. J. Xu, F. Zhao. A novel thermoacidophilic endoglucanase, Ba-EGA, from a new cellulose-degrading bacterium, *Bacillus* sp. AC-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70: 430-436.