

AKTIVITAS ENZIM CARBOXY METHIL CELLULASE DAN PRODUKSI VOLATILE FATTY ACID PADA FERMENTASI SELULOSA OLEH MIKROBIA RUMEN SECARA IN VITRO

Nafiatul Umami, Zaenal Bachruddin dan Hari Hartadi¹

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan arang aktif (AA) pada fermentasi mikrobial rumen secara *in vitro*. Penelitian dilakukan dalam dua tahap yaitu, Tahap I menggunakan substrat kertas saring dengan level AA yang berbeda yaitu 0%; 0,3%; 0,6%; 0,9% dan keempat perlakuan diamati pH dan aktivitas enzim *carboxy methyl cellulase* (CMC-ase)nya pada jam ke-24, 96 dan 144. Tahap II menggunakan kadar AA terbaik untuk empat macam perlakuan: perlakuan I 10% kertas saring dan 90% glukosa, perlakuan II 20% kertas saring dan 80% glukosa, perlakuan III 30% kertas saring dan 70% glukosa dan perlakuan IV 90% kertas saring dan 10% glukosa, pengambilan sampel pada jam ke-0 dan ke-6. Variabel yang diamati adalah nilai pH, aktivitas enzim CMC-ase dan produksi *volatile fatty acid* meliputi asetat (C₂), propionat (C₃) dan butirat (C₄). Data yang diperoleh dari rancangan acak lengkap pola tersarang dianalisis dengan menggunakan analisis variansi, perbedaan variabel karena perlakuan diuji dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara rerata aktivitas enzim CMC-ase tertinggi pada penambahan AA 0,3% menunjukkan hasil tertinggi dari aktivitas CMC-ase secara rerata dengan pengaruh yang nyata P<0,05 pada inkubasi jam ke-96 dari tiap perlakuan, dan pada tahap kedua dengan AA 0,3% aktivitas tertinggi pada perlakuan II glukosa 80% dimana aktivitas CMC-ase 93,67 mgD-glukosa/ mg prot alb. Kadar *volatile fatty acid* (VFA) terutama rasio C₂ dan C₃ berturut-turut 3,28, 3,27, 8,36 dan 16,29 menunjukkan perbedaan yang nyata P<0,05 perlakuan I, II dengan perlakuan III, IV. Terlihat bahwa dengan penambahan glukosa menyebabkan semakin kecilnya rasio C₂:C₃. Hal ini dikarenakan semakin meningkatnya produksi propionat (C₃).

(Kata kunci: Arang aktif, Fermentasi mikrobial rumen, *In vitro*, pH, CMC-ase, *Volatile fatty acid*)

Buletin Peternakan 30 (2) : 60 - 68, 2006

¹ Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ACTIVITIES OF CARBOXY METHYL CELLULASE AND VOLATILE FATTY ACID PRODUCTION ON *IN VITRO* CELLULOSE FERMENTATION BY RUMEN MICROBIA

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of activated charcoal (AC) addition in the medium on the rumen microbial fermentation with *in vitro* method. The first study had used filter paper as carbon source with different levels of AC namely 0%AC, 0.3%AC, 0.6%AC and 0.9%AC. The variables of this study were pH value and CMC-ase activity. The second study used the best level of AC from the first study and using filter paper and glucose of four different levels as carbon sources. The respective levels were namely I 10% filter paper and 90% glucose, II 20% filter paper and 80% glucose, III 30% filter paper and 70% glucose and IV 90% filter paper and 10% glucose. Each treatment was done in 3 replications. The variables being measured in this study were pH values, CMC-ase activity and volatile fatty acid (VFA) production. The obtained data were analyzed by analysis of variance following completely randomized design and the different variable values affected by treatments were analysed by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT). The result of the first study showed that CMC-ase activities was highest ($P < 0.05$) with addition of 0.3% AC. On the second study, addition of 0.3% AC caused the highest CMC-ase activity when level of glucose was 80% with 20% filter paper as the substrate (83.67 mg D-glucose/mg prot alb.). The statistical analysis resulted no significant effect between glucose levels on ruminal fermentation acidity (pH). The volatile fatty acid especially $C_2:C_3$ ratio showed that I, II differed ($P < 0.05$) with III, IV i.e. 3.2800, 3.2729, 8.3607 and 16.2960. The numbers showed that glucose addition decrease ratio of $C_2:C_3$ due to the increase of propionate (C_3) production.

(Key words: Activated charcoal, Rumen microbial fermentation, *In vitro*, pH, CMC-ase, Volatile fatty acid)

Pendahuluan

Serbuk arang aktif (AA) merupakan *feed additive* termasuk kategori senyawa sederhana yang tidak mempunyai nilai nutrisi. Peranan dari AA adalah mampu mengabsorpsi senyawa organik dan anorganik dan partikel yang bersifat koloidal. Arang aktif ini merupakan suatu senyawa amorf yang mempunyai luas permukaan yang besar. Luas permukaan yang besar tersebut disebabkan adanya makropori dan mikropori pada arang aktif (Gray yang disitasi Witanti, 1992) dan mempunyai daya serap yang lebih besar dibanding arang yang tidak diaktivasi (Kirk Orthner yang disitasi Witanti, 1992).

Kumpulan ion C^+ yang ada dalam arang aktif akan mengikat H^+ yang banyak dihasilkan dari hidrolisis pati yang terkandung dalam konsentrat menjadi asam laktat. Pemberian pakan dengan kandungan

konsentrat tinggi akan menyebabkan konsentrasi ion H^+ meningkat sehingga akan menyebabkan penurunan pH, akan tetapi dengan penambahan AA maka akan terjadi pengikatan ion H^+ oleh ion C^+ sehingga pH rumen tetap stabil (Garillo *et al.*, 1994).

Proses pemanfaatan pakan menjadi nutrisi yang tersedia bagi ternak sangat didukung oleh kegiatan mikrobial rumen (Kuswandi, 1993). Cairan rumen mengandung bakteri yang mampu menghasilkan enzim untuk memanfaatkan selulosa, hemiselulosa dan pati (Tillmanet *et al.*, 1991). Proses degradasi fermentatif atau pencernaan mikrobial pakan sebagian besar terjadi di rumen (Sutardi, 1978; Church, 1988). Produk fermentasi di rumen dapat berupa asam format, asam asetat, asam propionat, asam butirat, asam laktat, hidrogen, CO_2 dan etanol (Lowe, 1986 yang disitasi oleh Kurniawati, 1999). Pada ruminansia, karbohidrat akan

mengalami fermentasi secara anaerobik sehingga mengakibatkan jumlah produksi yang terbesar adalah VFA terutama asam asetat, asam propionat dan asam butirat, VFA yang diproduksi oleh aktivitas mikroorganisme menyediakan energi total yang terbesar yaitu lebih dari 14% dari kebutuhan energi untuk maintenance (Church and Ponds, 1982). Ranjham dan Pathak (1979) yang disitasi Kurniawati (1999) menyatakan bahwa adanya produk fermentasi yang berupa asam lemak volatil yang bersifat asam akan menyebabkan pH rumen turun, absorpsi asam lemak volatil oleh dinding rumen akan turut mengatur pH rumen agar tetap pada kondisi yang optimal untuk berlangsungnya proses enzimatik dan terfermentasi oleh mikrobial. Banyak sedikitnya VFA, CO₂ dan gas metan dipengaruhi oleh macam ransum yang diberikan. Ternak yang banyak mendapat pakan hijauan maka VFA yang terbanyak adalah asam asetat (50-65%), disusul asam propionat (18-25%) dan terakhir asam butirat (12-20%). Pada keadaan pakan dengan konsentrat tinggi maka komposisi asetat turun sedangkan propionat naik (Tillman *et al.*, 1991).

Tinggi rendahnya pH cairan rumen merupakan salah satu faktor yang menentukan baik tidaknya proses fermentasi didalam rumen (Irianta, 1997). Nilai pH rumen sangat besar pengaruhnya terhadap kelangsungan hidup mikrobial rumen (Davies, 1982).

Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi dan aktivitas enzim selulase antara lain jenis dan kadar substrat, temperatur, pH dan inhibitor dari produk akhir (Enary, 1983 yang disitasi oleh Kurniawati, 1999). Produksi enzim selulase akan terjadi apabila mikrobial selulolitik tumbuh pada media yang mengandung substrat selulosa atau derivatnya. Proses pemecahan selulosa oleh aktivitas enzim selulase sangat dipengaruhi oleh struktur fisik dari substrat. Bentuk kristal pada umumnya lebih sulit daripada bentuk amorf (Church, 1988).

Proses degradasi selulosa secara biologis selalu menggunakan beberapa enzim selulase sebagai biokatalisator. Enzim selulase merupakan nama umum bagi semua enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik dalam selulosa, selodekstrin, selobiosa dan derivatif selulosa yang lain. Nama sistematik enzim selulase adalah β -1,4-glukan 4-glukanohidrolase (EC.3.2.1.4.). Enzim selulase sesungguhnya merupakan suatu enzim kompleks yang terdiri dari beberapa enzim yang bekerja secara bertahap atau bersama-sama menguraikan selulosa menjadi glukosa. Enzim selulase terdiri dari tiga komponen aktif, yaitu enzim ekso β -(1,4) glukanase atau enzim C₁, endo β -(1,4) glukanase atau sering disebut enzim Carboxymethyl Cellulase (CMC-ase) atau enzim C_x dan enzim β -glukosidase (Lehninger, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan karbohidrat nonstruktural dan arang aktif (AA) terhadap pH, aktivitas enzim selulase, dan imbalanced C₂:C₃ pada fermentasi selulosa oleh mikrobial rumen sapi secara *in vitro*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian arang aktif (AA) sebagai buffer terhadap fermentasi selulosa oleh mikrobial rumen sapi secara *in vitro*, sehingga diharapkan mampu mempertahankan kondisi biokimia fermentasi oleh mikrobial rumen yang meliputi pH, aktivitas enzim selulase dan imbalanced C₂:C₃.

Materi dan Metode

Penelitian ini meliputi dari dua tahap. Tahap pertama adalah pembuatan fermentasi mikrobial rumen dengan kadar substrat sama, yaitu: 100% kertas saring dan kadar arang aktif yang berbeda yaitu 0%, 0,3%, 0,6% dan 0,9% dari total substrat yang diberikan dalam rancangan acak lengkap masing-masing replikasi tiga kali. Kemudian dilihat aktivitas enzim CMC-ase dan nilai pH pada lama inkubasi 24, 96 dan 144 jam. Tahap kedua

penggunaan AA hasil terbaik percobaan tahap pertama dengan substrat kertas saring dan glukosa dengan imbang sebagai berikut: I) 90% glukosa dan 10% kertas saring, II) 80% glukosa dan 20% kertas saring, III) 70% glukosa dan 30% kertas saring dan IV) 10% glukosa dan 90% kertas saring dengan rancangan acak lengkap, masing-masing tiga replikasi. Variabel yang diamati meliputi nilai pH, aktivitas CMC-ase serta kadar *volatile fatty acid* (VFA).

Pembuatan medium basal

Medium basal dibuat menurut metode Bachrudin (1996), sebagai berikut; didalam setiap 100 ml medium terdiri dari 0,25 gram yeast ekstrak, 1 gram trypton, 0,49 gram NaHCO_3 , kemudian ditambah 15 ml mineral I, 15 ml mineral II, aquades 40 ml serta 30 ml cairan rumen untuk medium basal. Semua bahan dalam erlenmeyer kemudian dididihkan. Proses pendidihan dilakukan sebanyak tiga kali dan selanjutnya segera tambahkan 0,1 gram cystein HCl, untuk menghomogenkan komponen medium, secara terus-menerus diletakkan di atas alat pengaduk magnetik secara elektrik dan kemudian dimasukkan ke dalam botol sebagai fermentor yang telah diisi dengan substrat 2% dari medium berupa glukosa dan kertas saring dengan kadar yang berbeda-beda dan juga arang aktif 0,3% dari substrat. Komposisi mineral I untuk 100ml adalah 0,3% K_2HPO_4 dan untuk mineral II adalah 0,3% KH_2PO_4 , 0,6% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,6% NaCl, 0,6% MgSO_4 , 0,06% CaCl_2 dalam 100ml aquades. Selanjutnya medium basal yang telah dimasukkan dalam botol fermentor ditutup dengan aluminium foil dan disterilisasi dengan autoklav (121 psi/ 15) menit. Segera setelah sterilisasi aluminium foil diganti dengan tutup karet steril dan diklem dengan tutup aluminium. Inokulasi sumber mikrobia yaitu cairan rumen sebanyak 10% dari total medium dalam fermentor

Inkubasi medium dan pengambilan sampel

Inkubasi dilakukan untuk mensimulasi medium fermentasi seperti kondisi di rumen

pada suhu 38-39°C sehingga pada medium fermentasi yang telah diinokulasi mikrobia akan terjadi fermentasi substrat.

Tahap pertama medium fermentasi diambil sampel sebanyak 1,5 ml pada jam ke-24, 96 dan 144, sampel dipersiapkan untuk uji derajat keasaman dan aktivitas enzim CMC-ase.

Pada tahap kedua, pada jam ke-0 dan 6 diambil sampel sebanyak 1,5 ml dengan menggunakan *syringe/sput* steril. Sampel yang didapat kemudian diuji derajat keasaman, aktivitas enzim CMC-ase dan kadar asam lemak volatil. Sampel yang diperoleh disentrifuge pada kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit kemudian filtrat yang diperoleh disimpan dalam refrigerator.

Variabel yang diamati

Derajat keasaman (pH) cairan rumen. Pengukuran pH dilakukan pada semua sampel yang diambil pada titik inkubasinya dan selanjutnya langsung dilakukan pengukuran derajat keasaman.

Aktivitas enzim carboxy methyl cellulase (CMC-ase). Pengukuran aktivitas enzim CMC-ase ditentukan dengan menghitung jumlah glukosa yang dibebaskan dari reaksi hidrolisis substrat Carboxymethyl cellulase (CMC-ase) pada pH 5,5 yang diatur dengan penambahan larutan buffer asetat 0,1 M pH 5,5 (Halliwell *et al.*, 1985). Penentuan kadar glukosa dilakukan dengan reaksi potasium ferrisianida. Hasil pengamatan absorbansi sampel digunakan untuk menghitung besarnya aktivitas enzim CMC-ase yaitu dengan menggunakan persamaan prediksi inversi regresi.

Kadar protein enzim. Kadar protein enzim diperlukan untuk menghitung aktivitas enzim CMC-ase per gram protein enzim. Kadar protein enzim dianalisis berdasarkan metode Lowry dengan mengamati perubahan warna yang terjadi setelah penambahan larutan Lowry (Plummer, 1971). Pengukuran kadar protein enzim tersebut digunakan untuk mengetahui aktivitas enzim CMC-ase pada setiap satuan enzimnya sehingga besarnya

aktivitas enzim CMC-ase dapat dinyatakan dalam satuan unit per miligram protein enzim.

Kadar protein enzim ditentukan dengan memasukkan data absorbansi sampel setelah direaksikan dengan larutan Lowry B selama 10 menit dan larutan Lowry A selama 20 menit.

Kadar asam lemak volatil. Asam lemak volatil dianalisis dengan menggunakan metode gas *Chromatography* (Bachrudin, 1996). Di mana tiap titik pengambilan sampel dianalisa kadar asam lemak volatilnya. Dengan menggunakan mikropipet diambil 2 μ l dan diinjeksikan ke dalam kolom pada alat gas *Chromatography*. Asam lemak yang diukur kadarnya adalah asam asetat, asam propionat dan asam butirat.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis statistik variansi dan hasil dilanjutkan dengan perhitungan Duncan Multiple Range Test (DMRT) (Astuti, 1981).

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh penambahan arang aktif (AA) dengan level yang berbeda yaitu I) 0%AA II)

0,3% AA III) 0,6% AA dan IV) 0,9% AA pada fermentasi dengan substrat kertas saring sebagai satu-satunya sumber karbon, terhadap aktivitas enzim CMC-ase dan pH medium fermentasi mikrobia rumen secara *in vitro*, pada jam inkubasi ke- 24, 96 dan 144 disajikan pada Tabel 1. Hasil percobaan pada tahap 1 (Tabel 1) menunjukkan aktivitas enzim CMC-ase pada jam inkubasi ke-96 secara rerata meningkat dan menunjukkan perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan. Pada penambahan AA 0,3% menunjukkan rerata tertinggi dibanding perlakuan 0%, 0,6% dan 0,9%.

Pengaruh penambahan 0,3% AA (yaitu penambahan dengan rerata aktivitas CMC-ase yang tertinggi) pada kadar substrat glukosa dan kertas saring yang berbeda yaitu I) 90% glukosa dan 10% kertas saring, II) 80% glukosa dan 20% kertas saring, dan III) 70% glukosa dan 30% kertas saring, IV) 10% glukosa dan 90% kertas saring terhadap aktivitas enzim CMC-ase dan derajat keasaman pH fermentasi mikrobia rumen secara *in vitro* pada jam ke-0 dan ke-6 inkubasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Rerata aktivitas enzim CMC-ase (μ g D-glukosa/ mg albumin) dan nilai pH fermentasi mikrobia rumen secara *in vitro* pada jam inkubasi ke- 24, 96 dan 144 (*The rate of enzyme CMC-ase activities (μ g D-glucose/ mg albumin) and pH value of rumen microbe fermentation by *in vitro* at 24th, 96th, and 144th hour of incubation*)

Inkubasi jam ke- (Incubation time)	Variabel yang diamati (Variable)	Kadar arang aktif (AA) (Level of Activated charcoal (AC))			
		0%	0,3%	0,6%	0,9%
24	CMC-ase	7,52 ^a	7,32 ^a	7,80 ^a	6,90 ^a
	pH	6,93	6,88	6,90	7,01
96	CMC-ase	86,85 ^b	100,38 ^a	32,81 ^c	13,58 ^d
	pH	6,45	6,70	6,85	6,80
144	CMC-ase	25,58 ^e	28,09 ^a	19,43 ^a	10,21 ^a
	pH	5,22	6,14	6,59	6,66

^{abcd} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) (*Different superscript at the same raw indicating significant differences ($P < 0.05$)*)

Tabel 2. Rerata nilai aktivitas enzim CMC-ase ($\mu\text{g D-glukosa/ mg alb}$) dan nilai pH fermentasi mikrobia rumen secara in vitro dengan kadar arang aktif 0,3% (*Enzyme CMC-ase activities means ($\mu\text{g D-glucose/ mg albumin}$) and pH rumen microbe fermentation by in vitro method using 0.35 activated charcoal (AC)*)

Inkubasi Jam ke- (Incubation in hour of)	Variabel (Variable)	Perlakuan substrat (Treatment)			
		I	II	III	IV
0	CMC-ase	7,09 ^{ap}	6,95 ^{ap}	6,95 ^{ap}	4,42 ^{bp}
	pH	6,61	6,56	6,94	6,97
6	CMC-ase	54,07 ^{aq}	93,67 ^{aq}	84,33 ^{bi}	60,67 ^{cs}
	pH	5,68	6,16	6,54	7,37

^{abcd} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) (*Different superscript at the same raw indicating significant differences ($P < 0,05$)*)

^{pq} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) (*Different superscript at the same column indicating significant differences ($P < 0,05$)*)

Aktivitas enzim *carboxymethyl cellulase*

Aktivitas enzim *Carboxymethyl cellulase* (CMC-ase) diketahui dengan cara mengetahui jumlah glukosa yang dibebaskan dari reaksi hidrolisis substrat CMC. Hasil rerata pengujian aktivitas enzim CMC-ase dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Tabel 1. menunjukkan aktivitas enzim pada substrat kertas saring dengan level arang aktif 0%, 0,3%, 0,6% dan 0,9%. Pada jam ke-96 berturut-turut adalah 86,85, 100,38, 32,81 dan 13,58 ($\mu\text{g D-glukosa/ mg protein}$). Hasil hidrolisis enzimatik dari derivat selulosa (CMC) yang berupa glukosa ini menunjukkan rerata yang paling tinggi pada jam inkubasi ke-96, dan dengan kadar arang aktif 0,3% menunjukkan rerata aktivitas enzim yang tertinggi. Dengan penambahan AA 0,6% dan 0,9% menunjukkan aktivitas yang lebih rendah, hal ini dapat dikarenakan keberadaan AA yang terlalu banyak mengganggu proses fermentasi sehubungan dengan sifat dari AA yang mampu mengabsorpsi senyawa organik, sehingga ada kemungkinan enzim yang merupakan senyawa organik dengan kadar AA 0,6% dan 0,9% banyak yang terikat, sehingga aktivitas enzimnya menjadi terganggu.

Substrat yang tersedia untuk mikrobia adalah kertas saring, dimana kertas saring ini

dapat dimanfaatkan mikrobia sebagai sumber glukosa untuk sintesis menjadi protein tubuh mikrobia rumen. Aktivitas mikroorganisme rumen dalam mendegradasi pakan dengan penambahan AA 0,3% menunjukkan hasil yang tertinggi.

Hasil penelitian yang dilakukan Widyantoro *et al.* (1987) tentang penggunaan kertas saring sebagai sumber glukosa bagi mikrobia, menunjukkan bahwa kertas saring yang terdiri dari selulosa yang difermentasikan dengan mikrobia rumen mencapai puncak konsentrasi glukosa pada jam ke-113 dengan demikian pada jam ke-96 juga masih terjadi proses fermentasi apabila lingkungan mendukung, salah satunya adalah pH yang akan mempengaruhi berlangsungnya proses fermentasi. Dari hasil penelitian terlihat AA 0,3% mampu meningkatkan pH serta aktivitas CMC-ase dibanding kontrol dan perlakuan lainnya.

Pada penambahan 0,3% AA dengan perlakuan substrat yang berbeda (Tabel 2.) pada jam ke-6 rata-rata mengalami kenaikan aktivitas dibanding pada jam ke-0 dan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap aktivitas enzim CMC-ase pada tiap-tiap perlakuan ($P < 0,05$), dan pada perlakuan II glukosa 80% terlihat aktivitas enzimnya secara

rerata tertinggi dibanding perlakuan lain. Aktivitas enzim ini menurut Widyantoro *et al.* (1987) dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, konsentrasi, jenis substrat, pH, lama inkubasi dan jenis mikrobia. Faktor-faktor ini akan mempengaruhi produksi glukosa dari fermentasi selulosa dan derivatnya. Hal ini didukung oleh pendapat Enary (1983) yang disitasi oleh Kurniawati (1997) yang menyatakan bahwa pada umumnya produksi dan aktivitas enzim selulase dipengaruhi oleh faktor, substrat, suhu dan pH.

Penambahan AA mampu menetralkan ion hidrogen atau nilai pH medium fermentasi selulosa. Tingginya nilai pH tersebut dimungkinkan mampu mempertahankan kestabilan enzim sehingga aktivitas enzim CMC-ase meningkat. Penambahan AA dimungkinkan mampu mengabsorpsi senyawa-senyawa ion yang akan mempengaruhi kestabilan enzim khususnya struktur gugus aktif enzim tetap terjaga (Shuller, 1980) oleh karena itu penambahan AA mampu meningkatkan aktivitas enzim CMC-ase.

Aktivitas enzim selulase sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan demikian juga enzim CMC-ase sangat dipengaruhi oleh pH, karena pada penambahan AA ini pH masih dalam kisaran normal maka dapat dikatakan enzim CMC-ase dalam keadaan aktif, sehingga dapat memberikan keadaan terjadinya reaksi enzimatik dan fermentasi selulosa secara optimal. Hal ini sesuai pendapat Lowe (1986) yang disitasi oleh Kurniawati (1997) yang menyatakan bahwa aktivitas CMC-ase aktif pada kisaran 3 – 8.

Produksi volatile fatty acid

Pengaruh penambahan arang aktif pada substrat glukosa dan kertas saring dengan penambahan AA sebesar 0,3%, terhadap

produksi *volatile fatty acid* (VFA) cairan rumen dapat dilihat pada Tabel 3. Dalam fermentasi oleh mikrobia rumen akan menghasilkan berbagai macam asam volatil. Adapun asam penting yang dihasilkan meliputi asam asetat (C₂) asam propionat (C₃) dan asam butirat (C₄).

Dari imbangannya rasio C₂ : C₃ terlihat bahwa dengan penambahan kadar glukosa sampai 80% memperkecil rasio, hal ini dikarenakan meningkatkan produksi asam propionat sehingga imbangannya C₂ : C₃ menjadi kecil. Pada penambahan glukosa 80% dan dengan AA 0,3% terlihat mempunyai rasio C₂ : C₃ yang paling rendah dibanding tiga perlakuan yang lainnya. Hal ini dikarenakan dengan adanya AA pada substrat glukosa dengan kadar tinggi mampu mempertahankan pH untuk aktivitas enzimatik dalam menghidrolisis substrat karbohidrat struktural dan non struktural sehingga terjadi pembentukan asam asetat dan juga propionat. Tetapi peningkatan asam C₃ lebih tinggi sehingga rasionya menjadi kecil. Pada penambahan glukosa sampai 90% terlihat bahwa rasio C₂ : C₃ dapat dikatakan sama dengan penambahan glukosa 80% hal ini sehubungan dengan substrat yang difermentasi berupa karbohidrat non-struktural yang tinggi sehingga bakteri yang memfermentasi gula lebih cepat dalam fermentasi substrat sehingga terjadi pembentukan asam propionat yang lebih cepat. Tetapi produksi asam asetat lebih rendah sehingga mempengaruhi imbangannya C₂ : C₃ nya.

Rasio antar C₂ : C₃ dari Tabel 3 diatas dapat dilihat bahwa ada perbedaan nyata (P<0,05) antara perlakuan glukosa 80%, glukosa 90% dengan perlakuan glukosa 10%. Hal ini dapat menunjukkan bahwa dengan naiknya kadar propionat dapat menurunkan imbangannya C₂ : C₃.

Tabel 3. Pengaruh penambahan karbon aktif 0,3% pada substrat kertas saring dan glukosa terhadap rerata produksi *volatile fatty acid* (VFA) cairan rumen (*Effect of addition active charcoal (AC) 0,3% addition on volatile fatty acid production*)

Perlakuan (<i>Treatment</i>)	Kadar VFA (mol) (<i>Level of VFA (mol)</i>)			
	Asetat (<i>Acetate</i>)(C ₂)	Propionat (<i>Propionate</i>) (C ₃)	Butirat (<i>Butirate</i>)(C ₄)	Rasio C ₂ :C ₃
90% glukosa (<i>glucose</i>) 10% kertas saring (<i>Filter paper</i>)	3,12 ^b	1,00 ^a	0,46 ^c	3,28 ^b
80% glukosa (<i>glucose</i>) 20% kertas saring (<i>filter paper</i>)	4,84 ^a	1,51 ^a	0,54 ^a	3,27 ^b
10% glukosa (<i>glucose</i>) 90% kertas saring (<i>filter paper</i>)	3,50 ^b	0,44 ^b	0,27 ^a	8,36 ^{ab}
10% glukosa (<i>glucose</i>) 90% kertas saring (<i>filter paper</i>)	5,46 ^a	0,44 ^b	0,69 ^a	16,29 ^a

^{ab} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) (*Different superscript at the same column indicating significant differences (P < 0.05)*)

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan arang aktif (AA) mampu mempertahankan kondisi medium fermentasi mikrobial rumen untuk optimal berlangsungnya proses fermentasi yang ditunjukkan dengan hasil fermentasi glukosa dan kertas saring dengan rasio C₂ : C₃ pada penambahan AA 0,3% sebesar 3,27.

Daftar Pustaka

- Astuti., M. 1981. Rancangan Percobaan dan Analisa Statistika. Bagian II. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Bachruddin, Z. 1996. Pengukuran pH dan asam lemak terbang (VFA) cairan rumen dengan gas chromatografi. Pada: Kursus Singkat Teknik Evaluasi Pakan Ruminansia. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Bachruddin, Z. 1999. Pengaruh penambahan arang aktif pada ransum konsentrat tinggi terhadap fermentasi rumen kambing Peranakan Ettawa. Buletin Peternakan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Church, D. C. and W.G. Pond, 1982. Basic Animal Nutrition and Feeding 2nd ed, John Wiley and Sons. New York.
- Church, D. C. 1988. The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition. Prentice hall. Engelwood Clifts. New Jersey.
- Davies, H.L. 1982. Microbial of the gut. In: Nutrition and Growth Manual. AUIDP.AAUC. Australia.
- Garillo, E.P., R. Pradhan and H. Tobioka. 1994. Effect of activated charcoal on ruminal characteristics and blood profiles in mature goats. West Japan. J. Anim Sci. 37. 85 - 89.
- Halliwell, G., M.N. Wahab and A.H. Patel, 1985. Chemical composition of endo 1,4 - b-D- glukanasases to cellulolitic in *Trichoderma coningi*. J. Appl. Bio. 7: 43 -45.

- Irianta, E. 1997. Pengaruh penambahan konsekrat pada pakan basal jerami padi terhadap pH, aktivitas hemiselulolitik dan protein mikrobia pada kerbau dan domba. Skripsi S-1. Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Kurniawati, A. 1999. Purifikasi dan karakteristik selulase yang diproduksi oleh isolat mikrobia selulolitik rumen kerbau. Tesis S-2. Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Kuswandi, 1993. Kegiatan mikrobia di rumen dan manipulasinya untuk menaikkan efisiensi produksi ternak. Buletin Peternakan 17: 68 - 75. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Lehninger, Albert, L. 1997. Dasar-dasar Biokimia. Erlangga, Jakarta.
- Plummer, D.T. 1971. An Introduction to Practical Biochemistry. Mc. Graw Hill. Ltd. Bombay. New Delhi.
- Shuller, M. C. 1980. Utilization and Recycle of Agricultural Waste and Residues. CRC Press. Inc. Boca Raton. Florida.
- Sutardi, T. 1978. Intensitas pencernaan pada kerbau. Seminar Ruminansia. 24 -25 Juli 1978. Fakultas Peternakan IPB, Bandung.
- Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprojo, S. Prawirokusumo dan S. Lebdoesoekojo. 1991. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Widyantoro, R. Utomo, M. Soejono. 1987. Studi Penggunaan kertas sumber glukosa untuk sintesis protein mikrobia *in vitro*. Dalam Prosiding Limbah Pertanian Sebagai Pakan dan Manfaat Lainnya.
- Witanti, 1992. Pembuatan karbon aktif dari petroleum cokes sebagai penyerap gas. Skripsi Fakultas MIPA. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.