

**PENGARUH PENAMBAHAN MINYAK KELAPA, MINYAK BIJI BUNGA MATAHARI,  
DAN MINYAK KELAPA SAWIT TERHADAP PENURUNAN PRODUKSI METAN DI DALAM  
RUMEN SECARA *IN VITRO***

***THE EFFECT OF ADDITION COCONUT OIL, SUNFLOWER SEED OIL, AND PALM OLEIN  
ON REDUCING RUMINAL METHANE PRODUCTION IN VITRO***

**Puput Diah Sitoresmi\*, Lies Mira Yusiati, dan Hari Hartadi**

Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No.3, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281

**INTISARI**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan minyak nabati, yang meliputi minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit terhadap produksi metan, jumlah protozoa, kadar  $\text{NH}_3$ , aktivitas *carboximethyl cellulase* (CMC-ase), dan kadar protein mikrobial pada fermentasi rumput raja dan bekatul oleh mikrobial rumen secara *in vitro*. Penelitian ini terdiri dari 2 macam perlakuan, yaitu melihat efek minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit dan level penambahan minyak yaitu 0%, 2,5%, 5,0%, dan 7,5%. Setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan. Fermentasi dilakukan menggunakan *Hohenheim gas test* (HGT) pada suhu 39°C selama 72 jam. Pada akhir fermentasi dilakukan koleksi gas metan, pengamatan produksi gas, jumlah protozoa, kadar  $\text{NH}_3$ , aktivitas *carboximethyl cellulase* (CMC-ase), kadar protein mikrobial, dan nilai pH. Data yang diperoleh dianalisis variansi pola faktorial (3x4) dilanjutkan dengan uji *Duncan's New Multiple Range Test* (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah protozoa mengalami penurunan ( $P < 0,05$ ) sebesar 9,8%, 20,85%, dan 23,95% dan diikuti dengan penurunan rerata produksi metan ( $P < 0,01$ ) sebesar 11,11%, 15,79%, dan 18,51% pada penambahan minyak sebanyak 2,5%, 5,0%, dan 7,5% dibandingkan dengan kontrol, tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar  $\text{NH}_3$ , aktivitas *carboximethyl cellulase* (CMC-ase), dan kadar protein mikrobial. Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan penambahan minyak kelapa paling besar pengaruhnya terhadap penurunan produksi metan melalui inhibisi protozoa dan penambahan minyak hingga level 5,0% mampu menurunkan produksi metan sebesar 15,80%.

(Kata kunci : Minyak kelapa, Minyak biji bunga matahari, Minyak kelapa sawit, Produksi metan, Jumlah protozoa, Fermentasi *In Vitro*)

**ABSTRACT**

*This experiment was conducted to determine the effect of vegetable oil, such as coconut oil, sunflower seed oil, and palm olein on methane production, number of protozoa, microbial protein concentration, ammonia ( $\text{NH}_3$ ) concentration and carboxymethyl cellulase (CMC-ase) activity in the vitro fermentation of king grass and rice bran by rumen microbial. The experiment consisted of two treatments (i.e.) the effect of coconut oil, sunflower seed oil, and palm olein and level of addition of vegetable oil i.e. 0%, 2.5%, 5.0%, and 7.5%. The fermentation was done using Hohenheim gas test (HGT) metode and incubated at 39°C for 72 hours with three replicates. At the end of the fermentation, methane concentration, number of protozoa, microbial protein concentration,  $\text{NH}_3$  concentration, CMC-ase activity, and pH were observed. Data obtained were analyzed using analysis of variance and the design using factorial (3x4). The deferences of mean values were analyzed by Duncan's new multiple range test (DMRT). The result showed that the number of protozoa decreased ( $P < 0.05$ ) as much as 9.8%, 20.85%, and 23.95%, followed by methane supression ( $P < 0.01$ ) much as 11.11%, 15.79%, and 18.51% with oil addition at level 2.5%, 5.0%, and 7.5% compared to control, but no effect on microbial protein concentration, ammonia ( $\text{NH}_3$ ) concentration and carboxymethyl cellulase (CMC-ase) activity. It can be concluded that coconut oil had the highest affect on methane production by inhibition of protozoa growth and addition oil up to 5.0% reduced methane production as much as 15.80%.*

(Key words : Coconut oil, Sunflower seed oil, Palm olein, Methane production, Protozoa count, In vitro fermentation)

**Pendahuluan**

Terjadinya kenaikan suhu bumi merupakan isu paling penting mengenai lingkungan hidup

(Jordan *et al.*, 2006). Metan ( $\text{CH}_4$ ) merupakan gas yang memiliki potensi 21 kali lebih besar membentuk gas rumah kaca dibanding karbon dioksida yang dapat menyebabkan terjadinya pemanasan global (Buddle *et al.*, 2006). Terdapat berbagai macam sumber metan, salah satunya adalah metan yang dihasilkan oleh bakteri metanogen pada ternak

\* Korespondensi (*corresponding author*):

Telp. +62 813 2821 1608

E-mail: puputdsitoresmi@yahoo.com

ruminansia yang dilepaskan melalui proses eruktasi (Berra *et al.*, 2005).

Lepasnya metan tidak hanya menyebabkan peningkatan konsentrasi CH<sub>4</sub> di udara, namun juga menyebabkan hilangnya 6-13% dari pakan (Miller *et al.*, 2002). Kurang lebih 90% metan yang dihasilkan di dalam rumen, dirotasikan melalui pembuluh darah dan paru-paru dan berakhir pada pelepasan metan melalui mulut dan hidung, yang disebut dengan eruktasi, dan sebanyak 10% metan dibuang melalui anus (Eckard *et al.*, 2006).

Menurut Berg dan Kern (1999), CH<sub>4</sub> diproduksi di dalam rumen utamanya dilakukan oleh bakteri dari grup *archae* yang disebut metanogen. Bakteri penghasil metan yang utama di dalam rumen adalah *Methanobacterium ruminantium* (Hungate, 1966), *Methanobacterium mobilis sp.* (Paynter dan Hungate, 1968), *Methanobrevibacter sp.* (Miller *et al.*, 1986), *Methanobacterium mobile*, *Methanosarcina*, *Methanobacterium formicicum*, dan *Methanobrevibacter smithii* (Lovley *et al.*, 1984). Metanogen mengkonversi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub> menjadi metan di dalam rumen (Eckard *et al.*, 2006).

Mikroorganisme rumen utamanya bakteri, protozoa dan jamur berperan dalam hidrolisis pati yang terkandung di dalam pakan dan dinding sel polisakarida tanaman, sehingga menghasilkan glukosa, VFA, CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub> (Miller, 1995). Ternak ruminansia memanfaatkan asetat, propionat, butirir, dan biomasa mikrobial sebagai prekursor proses biosintesis dan merupakan sumber energi dan sumber asam amino (Miller *et al.*, 2002).

Aktivitas metabolisme protozoa sangat erat kaitannya dengan produksi metan di dalam rumen (Dohme *et al.*, 1999). Metanogenesis yang terjadi di dalam rumen dipengaruhi oleh adanya mekanisme *ecto-* dan *endosymbiosis* antara *ciliate protozoa* dengan metanogen, yaitu melalui jalur spesifik dalam transfer H<sub>2</sub> interspesies. Sebanyak 10-20% dari total populasi metanogen dapat berikatan dengan *ciliate protozoa*. Simbiosis antara metanogen dengan *ciliate protozoa* berperan penting hingga 9-25% dalam proses metanogenesis di dalam rumen (Machmuller *et al.*, 2003).

Minyak telah banyak digunakan untuk defaunasi dalam rumen (Dong *et al.*, 1997). Pada kondisi penyelimutan protozoa oleh minyak, protozoa tidak memiliki aktivitas lipolitik sebaik bakteri, akibatnya aktivitas metabolik protozoa terganggu dan banyak protozoa yang mati pada kondisi lemak tinggi di dalam rumen (Tamminga dan Doreau, 1991). Minyak merupakan pakan alternatif yang bersifat alami yang dapat menghambat pelepasan metan (Moss *et al.*, 2000). Asam laurat merupakan antiprotozoal paling kuat yang menghambat pertumbuhan dan aktivitas protozoa bersilia (utamanya *Entodinium spp.*), sedangkan

jumlah protozoa semakin menurun seiring dengan semakin banyaknya ikatan rangkap yang terkandung di dalam asam lemak tidak jenuh berantai panjang (Hristov *et al.*, 2004). Penurunan populasi *ciliate protozoa* akibat defaunasi menyebabkan penurunan simbiosis antara *ciliate protozoa* dengan metanogen, sehingga menurunkan ketersediaan hidrogen untuk pembentukan metan (Jordan *et al.*, 2006).

Selanjutnya, penelitian berikut dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan minyak kelapa, minyak kelapa sawit dan minyak biji bunga matahari terhadap produksi metan dalam rumen dengan menggunakan metode *in vitro Hohenheim gas test* (HGT).

## Materi dan Metode

Dua ekor sapi Peranakan Ongole dewasa, yang diberi pakan hijauan berupa rumput raja dan konsentrat dengan komposisi hijauan konsentrat adalah 60:40 sebanyak 3% berat badan (dalam bahan kering) secara *ad libitum*, digunakan sebagai donor cairan rumen untuk analisis *in vitro* produksi gas.

Bahan pakan berupa rumput raja dan bekatul sebanyak 250 mg digunakan sebagai substrat. Pada kelompok perlakuan diberikan penambahan minyak kelapa, minyak kelapa sawit, dan minyak biji bunga matahari masing-masing sebanyak 2,5, 5,0; dan 7,5% DM ke dalam pakan kontrol, yaitu rumput raja dan bekatul dengan komposisi 20:80.

Campuran cairan rumen dan buffer dimasukkan ke dalam *syringe* yang telah berisi bahan pakan yang akan dianalisis dengan menggunakan semi otomatis pipet sebanyak 30 ml, selanjutnya diinkubasi pada suhu 39°C selama satu malam. Gas CO<sub>2</sub> dialirkan beberapa saat ( $\pm 15$  menit) sampai warna larutan dalam *syringe* berwarna kuning bening. Klip ditutup, kemudian tanda baca skala di baca sebagai Vo, dan kemudian *syringe* diinkubasikan pada suhu 39°C. Kenaikan volume gas dicatat dengan interval waktu inkubasi: 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, dan 72 jam (Menke *et al.*, 1979), selanjutnya, dilakukan preparasi sampel untuk mengukur produksi metan, nilai pH, jumlah protozoa, kadar VFA, kadar NH<sub>3</sub>, aktivitas CMC-ase, dan kadar protein mikrobial.

Setelah inkubasi selama 72 jam, diambil sampel gas hasil fermentasi sebanyak 10 ml menggunakan *sprit* dan sampel gas disimpan di dalam *vaccumtube* untuk dianalisis kadar metan dengan menggunakan *gas chromatography* (GC). Produksi metan merupakan hasil kali volume produksi gas selama 72 jam dengan kadar metan. Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali.

Cairan hasil fermentasi kemudian disaring dengan menggunakan *gochcrush* yang diberi *glass wool*, sampai tidak ada sampel pakan yang tersisa di dalam *syringe*. Sampel filtrat diambil kemudian digunakan untuk mengukur derajat keasaman (pH) dengan menggunakan pH meter merk Hanna yang telah dikalibrasi dengan buffer pH 7, kemudian dilanjutkan dengan pH 4. Preparasi perhitungan protozoa dilakukan dengan menambahkan 0,8 ml *formaldehyed saline solution* (37% (v/v)) formaldehid+0,9% (v/v) NaCl, dengan proporsi 1:9 pada 1 ml sampel filtrat. Selanjutnya sampel dihitung dengan teknik mikroskopi dengan perhitungan langsung di bawah mikroskop menggunakan *haemocytometer* dengan perbesaran 40 kali (Diaz *et al.*, 1993)

Sampel filtrat selanjutnya disentrifugasi 3000 g selama 15 menit, kemudian sebanyak 0,2 ml supernatan ditambah dengan 1 ml asam metafosforik, kemudian disentrifugasi 9000 g selama 10 menit, supernatan selanjutnya digunakan untuk pengukuran kadar *volatile fatty acids* (VFA) dengan menggunakan *gas chromatography* (GC) (Doreau *et al.*, 1993). Sampel supernatan hasil

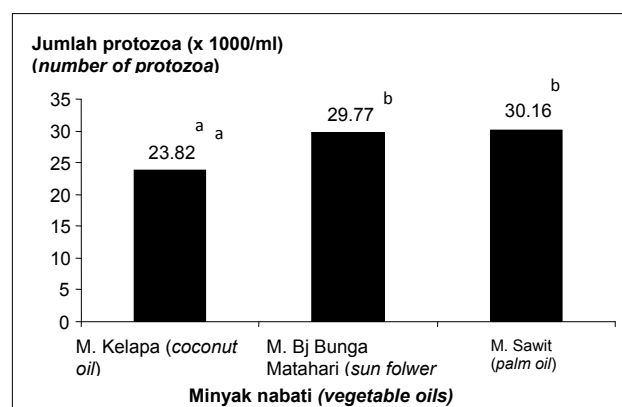
sentrifugasi 3000 g diambil untuk dilakukan uji kadar NH<sub>3</sub> dan digunakan untuk penentuan aktivitas CMC-ase menurut Halliwell *et al.*, (1985). Endapan hasil sentrifugasi 13.000 g digunakan untuk mengukur kadar protein mikrobial dengan menggunakan metode Lowry menurut Plummer (1987).

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis variansi, dengan rancangan acak lengkap pola faktorial 3x4 dan dilanjutkan dengan uji *Duncan new Multiple Range Test* (DMRT) untuk nilai rata-rata yang berbeda nyata (Astuti, 1981).

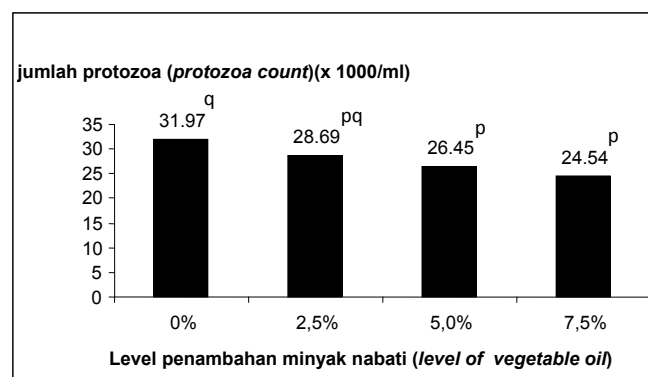
### Hasil dan Pembahasan

#### Pengaruh penambahan minyak nabati terhadap jumlah protozoa

Pengaruh macam minyak nabati, berupa minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja dengan proporsi 80:20 terhadap rerata jumlah protozoa dapat dilihat pada Grafik 1. Hasil penelitian menunjukkan terdapat



Grafik 1. Rerata jumlah protozoa pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan pemberian minyak nabati yang berbeda secara *in vitro* ( $\times 10^3/\text{ml}$ ) (the average of protozoa count on *in vitro* fermentation of rice bran and king grass added with different vegetable oils ( $\times 10^3/\text{ml}$ ))



Grafik 2. Rerata jumlah protozoa pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan penambahan minyak pada level yang berbeda secara *in vitro* ( $\times 10^3/\text{ml}$ ) (the average of protozoa count on *in vitro* fermentation of rice bran and king grass added with different levels of vegetable oil ( $\times 10^3/\text{ml}$ ))

pengaruh perbedaan macam minyak terhadap rata-rata jumlah protozoa ( $P < 0,05$ ). Pemberian minyak kelapa (mengandung asam laurat 25,47%, asam oleat 0,04%, dan asam linoleat 2,36%), memberikan efek yang paling besar terhadap rerata jumlah protozoa bila dibandingkan dengan pemberian minyak biji bunga matahari (asam laurat sebesar 0,08%, asam oleat 67,12%, dan asam linoleat 6,13%), dan minyak kelapa sawit (asam laurat sebesar 0,06%, asam oleat 46,14%, dan asam linoleat 0,72%). Namun demikian, rerata jumlah protozoa dengan pemberian minyak biji bunga matahari tidak berbeda nyata dengan rerata jumlah protozoa pada pemberian minyak kelapa sawit.

Penambahan *Medium chain fatty acid* (MCFA) berupa asam laurat murni sebanyak 5% (wt/vol) pada substrat berupa biji barley (90% DM) menyebabkan penurunan protozoa bersilia hingga mencapai 99,8%, sedangkan penambahan MUFA (*mono unsaturated fatty acids*) berupa asam oleat dan PUFA (*polyunsaturated fatty acids*) berupa asam linoleat sebanyak 5% (w/vol) pada substrat yang sama, berpengaruh secara nyata terhadap penurunan jumlah protozoa masing-masing sebesar 10,74% dan 14,90% (Hristov et al., 2004).

Penambahan minyak kelapa paling besar pengaruhnya terhadap defaunasi, hal ini disebabkan karena MCFA yang terkandung di dalam minyak kelapa yaitu asam laurat dapat meningkatkan sensitivitas mikrobial pada struktur dinding sel, sehingga dapat menghambat *ciliate protozoa* dan gram positif *archaea* (Machmuller, 2006).

Pengaruh penambahan minyak nabati dengan level penambahan yang berbeda pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja dengan proporsi 80:20 terhadap rerata jumlah protozoa dapat dilihat pada Grafik 2.

Penambahan minyak sebanyak 2,5%, 5,0%, dan 7,5% secara signifikan menyebabkan penurunan rata-rata jumlah protozoa ( $P < 0,05$ ), masing-masing sebesar 9,8%, 20,85%, dan 23,95%.

Namun demikian, penambahan minyak hingga level 5,0% baru dapat menyebabkan penurunan secara nyata, sedangkan penambahan minyak hingga level 7,5% tidak berbeda secara nyata dengan penambahan minyak pada level 5,0%.

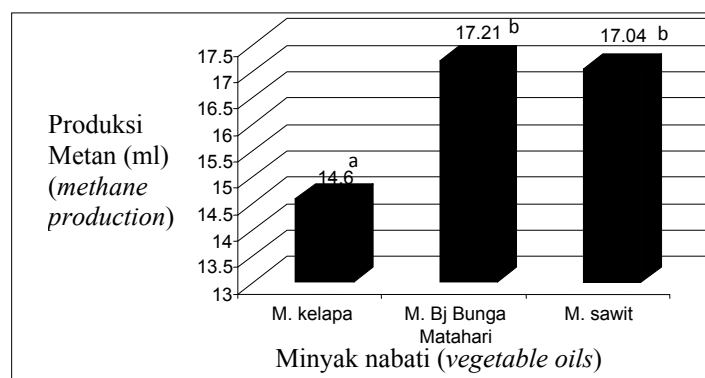
Menurut Cieślak et al. (2006), jumlah protozoa pada fermentasi rumen yang mengandung substrat tepung gandum dan hay dengan imbang 60:40 secara *in vitro* adalah sebesar 33,4 ( $\times 10^3$ /ml). Penambahan minyak kelapa sebesar 1,0% DMI dalam ransum pakan menyebabkan efek defaunasi protozoa di dalam rumen sapi sebesar 62,5% (Jordan et al., 2006). Penambahan minyak *rapeseed* dan minyak *linseed* masing-masing sebanyak 7,0% DMI pada ransum menyebabkan penurunan jumlah protozoa berturut-turut sebesar 30,77% dan 36,15% (Cieślak et al., 2006).

Efek negatif penambahan minyak terhadap mikrobial rumen adalah kemampuan sisi aktif dari asam-asam lemak membungkus dinding sel pakan dan menghambat transfer nutrisi yang esensial (Dohme et al., 1999). Pada kondisi penyelimutan protozoa oleh minyak, protozoa tidak memiliki aktivitas lipolitik sebaik bakteri, akibatnya aktivitas metabolik protozoa menjadi terganggu dan banyak protozoa yang mati pada kondisi lemak tinggi di rumen (Tamminga dan Doreau, 1991).

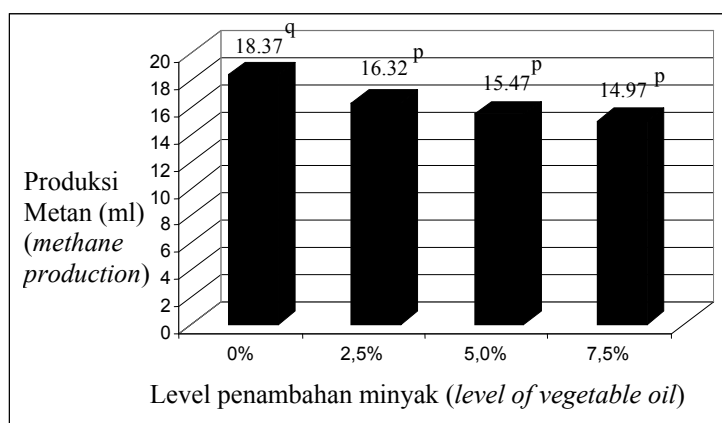
### Pengaruh penambahan minyak nabati terhadap produksi metan

Pengaruh macam minyak nabati, berupa minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja dengan proporsi 80:20 terhadap rerata produksi gas metan (ml) dapat dilihat pada Grafik 3.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh perbedaan macam minyak terhadap rata-rata produksi metan ( $P < 0,01$ ). Pemberian minyak kelapa memberikan pengaruh yang paling besar terhadap rata-rata produksi gas metan, yaitu



Grafik 3. Rerata produksi gas metan pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan pemberian minyak nabati yang berbeda secara *in vitro* ( $\times 10^3$ /ml) (the average of methane production on *in vitro* fermentation of rice bran and king grass added with different vegetable oils ( $\times 10^3$ /ml))



Grafik 4. Rerata produksi gas metan pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan penambahan minyak pada level yang berbeda secara *in vitro* (ml) (the average of methane production on *in vitro* fermentation of rice bran and king grass added with different level of vegetable oil (ml))

menghasilkan produksi gas metan yang paling kecil bila dibandingkan dengan produksi gas metan yang dihasilkan pada pemberian minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit, namun demikian pengaruh pemberian minyak biji bunga matahari terhadap rata-rata produksi gas metan tidak berbeda dengan pemberian minyak kelapa sawit.

Menurut Soliva *et al.*, (2003), penambahan asam laurat (C:12) dan asam miristat (C:14) yang tidak teresterifikasi dengan jumlah pemberian C:12 dan C:14 yang berbeda, yaitu 10 mg C:12 dan 20 mg C:14; 15 mg C:12 dan 15 mg C:14; 20 mg C:12 dan 10 mg C:14 ke dalam fermentasi substrat berupa hay dan konsentrat secara *in vitro* dengan masa inkubasi selama 24 jam, dengan proporsi 60:40, berpengaruh secara nyata terhadap penurunan produksi metan masing-masing sebesar 50%, 87%, dan 96%.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian minyak kelapa yang memiliki efek paling besar terhadap defaunasi, diikuti dengan rendahnya rata-rata produksi metan yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena minyak kelapa mengandung asam laurat (MCFA) yang bersifat paling toksik terhadap protozoa (Hristov *et al.*, 2004). Defaunasi menyebabkan turunya mekanisme simbiosis antara metanogen dengan *ciliate protozoa*, sehingga hanya sedikit hidrogen yang dapat dikonversikan menjadi metan (Jordan *et al.*, 2006).

Pengaruh penambahan minyak nabati dengan level penambahan yang berbeda pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja dengan proporsi 80:20 terhadap rerata produksi gas metan (ml) dapat dilihat pada Grafik 4.

Penambahan minyak sebanyak 2,5%, 5,0%, dan 7,5% menyebabkan penurunan rata-rata produksi metan, yaitu masing-masing sebesar 11,11%, 15,79%, dan 18,51%. Hasil analisis statistik menunjukkan rata-rata produksi metan pada

penambahan minyak hingga level 7,5% tidak berbeda dengan penambahan minyak sebanyak 2,5% dan 5,0%, namun berbeda nyata ( $P < 0,01$ ) dengan perlakuan tanpa penambahan minyak.

Penambahan minyak *rapeseed* dengan level sebanyak 7% dapat menurunkan produksi metan, yaitu sebesar 8,76%, sedangkan penurunan produksi metan lebih besar terjadi pada penambahan minyak kedelai sebanyak 6% dan penambahan asam laurat dan asam miristat yang tidak teresterifikasi dengan perbandingan 2:1 (seperti yang terkandung dalam minyak kelapa), yakni menyebabkan penurunan produksi metan masing-masing sebesar 37,43% dan 96%. Penambahan minyak ikan lemuru (*sardine oil*) pada substrat rumput raja secara *in vitro* hingga level 5,0% mampu menurunkan produksi metan hingga 74,49% (Yusiati *et al.*, 2008).

Perbedaan nilai penurunan produksi metan tersebut, dapat disebabkan karena penggunaan substrat dan proporsi pemberian yang berbeda, jumlah asam lemak yang terkandung di dalam minyak, serta bentuk asam lemak yang teresterifikasi maupun asam lemak yang tidak teresterifikasi yang ditambahkan ke dalam ransum. Semakin besar level penambahan minyak cenderung menyebabkan semakin rendahnya produksi gas metan yang dihasilkan dalam fermentasi substrat bekatul dan rumput raja.

#### **Pengaruh penambahan minyak nabati terhadap kadar amonia/ $\text{NH}_3$**

Hasil pengukuran kadar amonia pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja dengan pemberian minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit, dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat pengaruh macam minyak, yaitu berupa minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak

Tabel 1. Kadar amonia pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan pemberian minyak yang berbeda secara *in vitro* (mg/100ml) (*amonía concetratíon on in vitro fermentatíon of rice bran and king grass added with different levels vegetable oil (mg/100ml)*)

Level minyak (%) (oil level (%))	Tipe minyak (oil type)			Rerata (average) <sup>ns</sup>
	Minyak kelapa (coconut oil)	Minyak biji bunga matahari (sun flower seed oil)	Minyak kelapa sawit (palm oil)	
0,0	33,64	33,72	34,64	34,00
2,5	33,55	32,90	33,28	33,24
5,0	34,25	34,00	35,37	34,53
7,5	33,91	33,69	35,20	34,27
Rerata (average) <sup>ns</sup>	33,84	33,57	34,62	

<sup>ns</sup> tidak berbeda nyata (*non significant difference*).

Tabel 2. Aktivitas CMC-ase pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan pemberian minyak yang berbeda secara *in vitro* (U/g) (*CMC-ase activity on in vitro fermentatíon of rice bran and king grass added with different levels of vegetable oil (U/g)*)

Level minyak (%) (oil level (%))	Tipe minyak (oil type)			Rerata (average) <sup>ns</sup>
	Minyak kelapa (coconut oil)	Minyak biji bunga matahari (sun flower seed oil)	Minyak kelapa sawit (palm oil)	
0,0	6,84	6,19	6,42	6,48
2,5	5,11	4,68	5,72	5,17
5,0	4,90	5,15	4,85	4,97
7,5	4,43	5,87	4,32	4,87
Rerata (average) <sup>ns</sup>	5,32	5,47	5,33	

<sup>ns</sup> tidak berbeda nyata (*non significant difference*).

kelapa sawit terhadap rata-rata kadar amonia, sedangkan rata-rata kadar amonia pada penambahan minyak hingga level 7,5% juga tidak berbeda secara nyata dengan perlakuan tanpa penambahan minyak.

Rata-rata kadar amonia pada penambahan minyak nabati hingga level 7,5% berkisar antara 33,24-34,53 mg/100ml, lebih besar dari kadar amonia pada penambahan minyak ikan lemuru sebanyak 2,5%, yaitu 6,86 mg/100ml (Yusiati *et al.*, 2008), namun tidak jauh berbeda dengan kadar amonia pada penambahan MCFA, MUFA, dan PUFA sebanyak 0,25% (wt/vol), yaitu 29,63 mg/100ml (Hristov *et al.*, 2004). Namun demikian, kadar amonia yang dihasilkan dari penambahan berbagai macam minyak dan asam lemak masih dalam kisaran yang normal untuk sintesis dan pertumbuhan protein mikrobia. McDonald *et al.* (2002) melaporkan bahwa, konsentrasi NH<sub>3</sub> dalam rumen sapi berkisar 85-300 mg/l, sedangkan kadar amonia sampai dengan 80 mg/100ml dilaporkan tidak mengganggu pertumbuhan mikrobia rumen (Satter dan Slyter, 1972). Hasil penelitian menunjukkan penambahan minyak nabati hingga level 7,5% tidak berefek negatif terhadap kadar amonia yang menjadi sumber nitrogen utama untuk sintesis asam amino bagi mikrobia rumen.

### Pengaruh penambahan minyak nabati terhadap aktivitas CMC-ase

Pengaruh macam minyak yang berbeda, yaitu berupa minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit dengan level yang berbeda pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja terhadap kadar protein mikrobia dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat pengaruh macam minyak, yaitu berupa minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit terhadap rata-rata aktivitas CMC-ase, sedangkan rata-rata aktivitas CMC-ase pada penambahan minyak hingga level 7,5% juga tidak berbeda secara nyata dengan perlakuan tanpa minyak.

Penambahan 10 macam asam-asam lemak yang merupakan *medium chain fatty acids* (MCFA) dan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) ke dalam pakan basal berupa biji *barley* dengan level 0,25, 0,50, dan 1,0% (wt/vol), tidak mempengaruhi aktivitas enzim pendegradasi polisakarida (CMC-ase, xilanase, dan amilase) (Hristov *et al.*, 2004). Penambahan minyak ikan lemuru (*sardine oil*) pada substrat rumput raja secara *in vitro* hingga level 7,5% tidak berpengaruh terhadap aktivitas CMC-ase dan memiliki kisaran aktivitas CMC-ase sebesar

0,93-1,09 U/g protein (Yusiati *et al.*, 2008). Penambahan *crude palm oil* (CPO) hingga 7,5% pada fermentasi rumput raja secara *in vitro* memiliki kisaran aktivitas CMC-ase sebesar 1,09-2,59 U/g (Setyawati, 2008).

Penambahan minyak nabati tidak berpengaruh secara nyata terhadap kadar amonia, dimana bakteri selulolitik mempunyai kebutuhan spesifik akan amonia untuk mensintesis protein tubuhnya, hal ini berakibat pada tidak terjadinya kenaikan konsentrasi protein mikrobia, sehingga diperkirakan tidak berpengaruh juga terhadap aktivitas bakteri selulolitik untuk mensekresikan enzim CMC-ase yang berperan untuk mendegradasi selulosa yang merupakan polisakarida yang terkandung di dalam pakan.

### Pengaruh penambahan minyak nabati terhadap kadar *volatile fatty acid* (VFA)

Hasil pengukuran kadar VFA pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja dengan pemberian macam minyak yang berbeda, yaitu minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit, dapat dilihat pada Grafik 5.

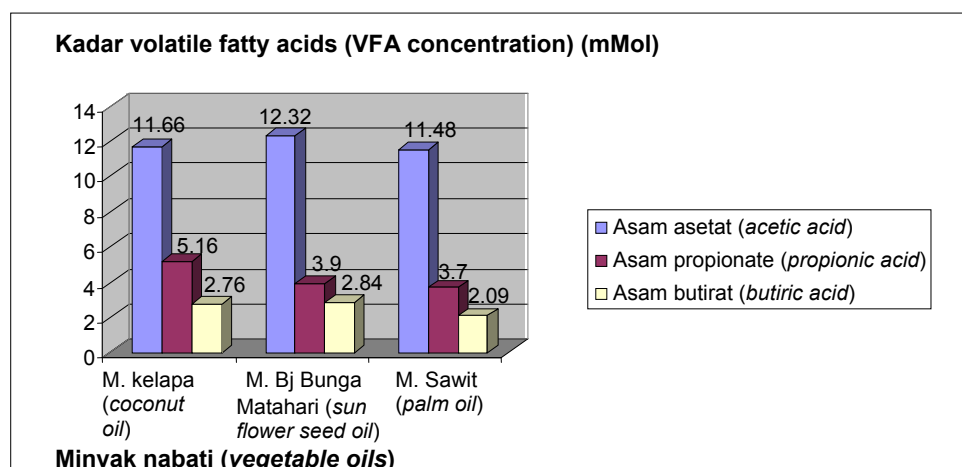
Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh perbedaan macam minyak terhadap rata-rata kadar asam asetat, namun secara nyata ( $P < 0,01$ ) berpengaruh terhadap rata-rata kadar asam propionat dan asam butirat. Penambahan minyak hingga level 7,5% tidak berpengaruh secara nyata terhadap rerata kadar asam asetat, asam propionat, dan asam butirat.

Menurut Wei-lian *et al.* (2005), total konsentrasi *volatile fatty acids* (VFA) menurun akibat defaunasi, namun terjadi peningkatan molar propionat. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar asam propionat pada pemberian minyak kelapa lebih tinggi bila dibandingkan dengan

pemberian minyak biji bunga matahari dan minyak kelapa sawit, masing-masing memiliki kadar asam propionat (mMol) sebesar 5,16 vs. 3,90 vs. 3,70.

Kadar asam asetat, asam propionat, dan asam butirat pada penambahan minyak *rapeseed* dan minyak *linseed* dengan level 9,0% pada pakan berupa konsentrat dengan proporsi 60% masing-masing adalah 53,1, 23,4, dan 16,8 (mol %), sedangkan dengan penambahan minyak *linseed*, kadar asam asetat, asam propionat dan asam butirat masing-masing adalah 53,7, 24,9, dan 14,5 (Machmüller *et al.*, 1998). Penambahan minyak ikan lemuru hingga level 7,5% DM memiliki kisaran kadar asam asetat sebesar 37,12-41,99 ( $\mu\text{mol}$ ), kadar asam propionat 12,37-13,75 ( $\mu\text{mol}$ ), kadar asam butirat 4,15-4,66 ( $\mu\text{mol}$ ), serta imbangannya  $C_2:C_3$  sebesar 2,91-3,05 (Yusiati *et al.*, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan imbangannya  $C_2:C_3$  berkisar antara 2,398-3,283, lebih tinggi bila dibandingkan dengan imbangannya  $C_2:C_3$  pada penambahan  $C_{12}:0$ ,  $C_{18}:1$ , dan  $C_{18}:2$  sebanyak 1,0% (wt/vol) (Hristov *et al.*, 2004), tetapi tidak berbeda dengan kisaran imbangannya  $C_2:C_3$  pada penambahan minyak ikan lemuru menurut Yusiati *et al.* (2008), hal ini dapat disebabkan karena perbedaan pemberian macam dan proporsi substrat serta perbedaan penambahan macam dan bentuk asam lemak. Namun demikian, imbangannya  $C_2:C_3$  hasil penelitian tersebut masih dalam kisaran normal. Menurut Hungate *et al.* (1961) pada kondisi normal, rasio molar asetat dan propionat adalah 3,125. Pada ruminansia yang diberi ransum berupa biji-bijian, imbangannya  $C_2:C_3$  berkisar antara 0,93-1,68, namun dalam kondisi normal memiliki imbangannya asetat : propionat berkisar antara 2,37-3,66 (Davis, 1967).



Grafik 5. Rerata kadar VFA pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan pemberian minyak nabati yang berbeda secara *in vitro* (mMol) (*the average of VFA concentration in vitro fermentation of rice bran and king grass added with different levels of vegetable oil (mMol)*)

Tabel 3. Kadar protein mikrobial pada fermentasi bekatul dan rumput raja dengan penambahan minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit secara *in vitro* (mg/ml) (*microbial protein concentration on in vitro fermentation of rice bran and king grass added with coconut oil, sun flower seed oil and palm oil*)

Level minyak (%) (oil level (%))	Tipe minyak (oil type)			Rerata (average) <sup>ns</sup>
	Minyak kelapa (oil coconut)	Minyak biji bunga matahari (sun flower seed oil)	Minyak kelapa sawit (palm oil)	
0,0	0,41	0,41	0,41	0,41
2,5	0,38	0,39	0,40	0,39
5,0	0,38	0,40	0,40	0,39
7,5	0,39	0,40	0,38	0,39
Rerata (average) <sup>ns</sup>	0,39	0,40	0,40	

<sup>ns</sup> tidak berbeda nyata (*non significant difference*).

**Pengaruh penambahan minyak nabati terhadap protein mikrobial**

Pengaruh pemberian macam minyak yang berbeda, yaitu minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit dengan level yang berbeda pada fermentasi substrat bekatul dan rumput raja terhadap kadar protein mikrobial dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat pengaruh macam minyak, yaitu berupa minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit terhadap rata-rata kadar protein mikrobial, sedangkan rata-rata kadar protein mikrobial pada penambahan minyak hingga level 7,5% juga tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dengan perlakuan tanpa penambahan minyak.

Rata-rata kadar protein mikrobial pada pemberian minyak hingga level 7,5%, berkisar 0,39-0,41 mg/ml, tidak berbeda jauh dengan kisaran kadar protein mikrobial pada penambahan minyak ikan lemuru sebanyak 2,5% DM, yaitu 0,41-0,51 mg/ml menurut Yusiati *et al.* (2008) dan kisaran kadar protein mikrobial pada penambahan *crude palm oil* (CPO) hingga 7,5%, yaitu 0,33-0,51 mg/ml (Setyawati, 2008). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan minyak kelapa, minyak biji bunga matahari, dan minyak kelapa sawit hingga level 7,5% tidak berefek negatif terhadap kadar protein mikrobial dan masih berada dalam kisaran normal.

Ørskov (1992) menyatakan bahwa, prekursor untuk sintesis protein mikrobial, yaitu tersedianya kerangka karbon yang cukup, NH<sub>3</sub>, dan energi. Hasil penelitian menunjukkan penambahan minyak nabati hingga level 7,5% tidak berpengaruh secara nyata terhadap kadar NH<sub>3</sub> (sebagai sumber N) dan total *volatile fatty acid* (sebagai sumber energi dan kerangka karbon), sehingga keduanya tidak cukup mendukung untuk terjadinya peningkatan sintesis protein mikrobial.

**Kesimpulan**

Pemberian minyak kelapa paling besar pengaruhnya terhadap penurunan jumlah protozoa dan produksi metan, serta kadar asam propionat dibandingkan dengan pemberian minyak biji bunga matahari dan minyak kelapa sawit. Penambahan minyak hingga level 5,0% mampu menurunkan produksi metan hingga 15,80% tanpa berefek negatif terhadap kadar NH<sub>3</sub>, kadar VFA, aktivitas CMC-ase, dan kadar protein mikrobial.

**Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang manfaat suplementasi minyak nabati sebagai sumber energi dan nasib asam-asam lemak tidak jenuh di dalam rumen sebagai asam lemak esensial yang diperlukan oleh inang.

**Daftar Pustaka**

Astuti, M. 1981. Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik. Bagian II. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Berg, W., and J.Kern. 1999. Influence of milk production level on methane emission from dairy cattle. Leibniz-Institute for Agricultural Engineering Postdam\_Bornim (ATB), D-14469 Postdam, Germany.

Berra, G., S.E. Valtorta, L. Finster, E.Mangano, F.Barrera, L.Fraigi. 2005. A simple technique for measuring enteric methane emission in cows. Instituto de Patobiologia, Centro de Investigaciones Veterinarias y Agronomicas, Inta Castelar, Buenos Aires, Argentina.

Buddle, B.M., D.N. Wedlock, G. Pederson, and M. Denis. 2006. Towards a vaccine against methanogens. AgResearch, Hopkirk Research Institute, Palmerston, North, New Zealand.



- Ciślak, A., R. Miltko, G. Belżeczki, M. Szumacher-Strabel, A. Potkański, E. Kwiatkowska, and T. Michalowski. 2006. Effect of vegetable oils on the methane concentration and population density of the rumen ciliate, *Eremoplastron dilobum*, grown *in vitro*. *Journal of Animal and Feed Sciences* 15 (1): 15-18.
- Ciślak, A., M. Szumacher-Strabel, E. Szyman-kiewics, M. Piękniewski, P. Oleszak, L. Siwiński, and A. Potkański. 2006. Coconut oil reduces protozoa count and methane release during fermentation in a Rusitec system. *Journal of Animal and Feed Sciences* 15 (1): 19-22.
- Davis, C.L. 1967. Acetate Production in the Rumen of Cows Feed Either Control or Low-Fiber, High-Grain Diets. Department of Dairy Science, University of Illinois, Urbana. *J. dairy Science* Vol. 50 No. 10: 1621-1625.
- Diaz, A., Avendro M. and Escobar A. 1993. Evaluation of sapindus saponaria as a defaunating agent and its effects on different ruminal digestion parameters. *Livestock research for Rural Development*, Vol. 5, Number 2.
- Dohme, F., A. Machmüller, B.L. Esterman, P. Pfister, A. Wasserfallen, and M. Kreuzer. 1999. The role of the rumen protozoa for methane suppression caused by coconut oil. *Letters in Applied Microbiology* 29: 187-192.
- Dong, Y., H.D. Bae, T.A. McAllister, G.W. Mathison, and K.J. Cheng. 1997. Lipid-induced depression of methane production and digestibility in the artificial rumen system (RUSITEC). *Can. J. Anim. Sci.* 77: 269-278.
- Doreau, M.B. Salem and R.R. Krezminski. 1993. Effect of rapeseed oil supply on *in vitro* ruminal digestion in cows: comparison of hay and maize silage diets. *J. Anim. Feed Sci. and Technol.* 44: 181-189.
- Eckard, R., D. Dalley, and M. Crawford. 2006. Dairy production system in Australia in Grazing system-pasture and rangelands. Paper and presentation. Section three. pp: 57-88.
- Halliwel, G., N.N.B.A. Wahab, and A.H. Patle. 1985. Chemical composition of endo 1,4- $\beta$ -glucanase to cellulolytic in trichoderma koningii. *J. App. Biochemistry.* 7: 43-45.
- Hristov, A.N., M. Ivan, and T.A. McAllister. 2004. *In vitro* effects on individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high concentrate, barley-based diet. *J. Anim. Sci.* 82: 2693-2704.
- Hungate, R.E., Robert A. Mah, and Mogen Simesen. 1961. Rates of Production of Individual Volatile Fatty Acids in the Rumen of Lactating Cows. Departments of Bacteriology and Animal Husbandry. University of California. *J. Anim. Sci.* 9: 554-561.
- Hungate, R.E. 1966. *The Rumen and Its Microbe.* Academic Press. pp. 78-79.
- Jordan, E., D. Kenny, M. Hawkins, R. Malone, D. K. Lovett, and F. P. O'Mara. 2006. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. *J. Anim. Sci.* 84: 2418-2425.
- Jordan, E., D.K. Lovett, F.J. Monahan, J. Callan, B. Flynn, and F.P. O'Mara. 2006. Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of beef heifers. *J. Anim. Sci.* 84: 162-170.
- Lovley, D.R., R.C. Greening, J.G. Ferry. 1984. Rapidly Growing Rumen Methanogenic Organism that Synthesize Coenzyme M and Has a High Affinity for Formate. *Applied and Environmental Microbiology.* American Society for Microbiology. 48: 81-87.
- Machmüller, A., D.A. Ossowski, M. Wanner, and M. Kreuzer. 1998. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Rusitec). *Animal Feed Science Tech.* 71: 117-130.
- Machmüller, A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 112: 107-114.
- Machmüller, A., C.R. Soliva, and M. Kreuzer. 2003. Effect of coconut oil and defaunation treatment on methanogenesis in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 43: 41-55.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, and C. A. Morgan. 2002. *Animal Nutrition.* 6<sup>th</sup> ed. Ashford Colour Press Ltd, Gosport. pp. 515-535.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A, Steingasaa, H., Fritz, D., and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuff from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture Sci.* 93: 217-222.
- Miller, T.L, M.J. Wolin, Z. Hongxue, M.P. Bryant. 1986. Characteristics of Methanogens Isolated from Bovine Rumen. *Applied and Environmental Microbiology.* American Society for Microbiology. 51: 201-202.
- Miller, D. 1995. Environmental considerations of livestock producers. *J. Anim. Sci.* 73: 2733-2740.

- Miller, T.L., M.J. Wolin, Z. Hongxue, M.P. Bryant. 2002. Characteristics of Methanogens Isolated from Bovine Rumen. *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology. 51: 201-202.
- Moss, A.R., Jouany, J.P., Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49: 231-253.
- Orskov, E. R. 1992. Protein Nutrition In Ruminant. 2<sup>nd</sup> Ed. Published by Academic Press Limited, London.
- Paynter, M.J.B. and R.E. Hungate. 1968. Characterization of *Methanobacterium mobilis*, sp.n., Isolated from the Bovine Rumen. *J. of Bacteriology*. 95:1943-1951.
- Plummer, D.T. 1987. An Introduction to Practical Biochemistry. Mc. Graw Hill Ltd. Bombay. New Delhi.
- Satter, L.D. and L.L. Slyter. 1972. Effect of ammonia concentration on ruminal microbes in vitro. *J. Anim. Sci.* 35: 237-280.
- Setyawati, R. 2008. Pengaruh Proteksi minyak Kelapa Sawit Menggunakan Formaldehid terhadap Jumlah Protozoa dan Produk Fermentasi Mikrobial Rumen secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Peternakan UGM.
- Soliva, C.R., I.K. Hindrichsen, L.Meile, M. Kreuzer, and A. Machmüller. 2003. Effects of mixture of lauric and myristic acid on rumen methanogens and methanogenesis *in vitro*. *Letters in Applied Microbiology*. 37: 35-39.
- Tamminga, S., and M. Doreau. 1991. Lipids and rumen digestion. In: J.P. Jouany (Ed.) *rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. p 151. INRA. Paris. France.
- Wei-lian, HU, WU Yue-ming, LIU Jian-xin, GUO Yan-qiu, and YE Jun-an. 2005. Tea saponins affect in vitro fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Journal of Zhejiang University Science*. 6B(8): 787-792. ISSN 1009-3095.
- Yusiati, L.M., Z. Bachruddin, C. Hanim, E. Lestari. 2008. The effect of sardine (*sardinelle longiceps*) oil as a source of methanogenesis inhibitor agent on the rumen fermentation product of the diet containing different level of forages. In: *Management Strategy of Animal Health and Production Control on Anticipation Global Warming for Achievement of Millenium Development Goals*. Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University. ISBN 978-979-17677-1-2.
- Yusiati, L.M., Z. Bachruddin, C. Hanim, H. Musyaiddah. 2008. Addition of sardine oil as reducing methanogenesis agent on in vitro rumen fermentation of king grass. *Proceedings. The 13<sup>th</sup> of Animal Science Congress of The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies*. Hanoi, Vietnam.