

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Hasil

Nilai rata-rata aktivitas protease, selulase, amilase, pencernaan bahan kering, bahan organik, protein kasar dan serat kasar dalam penelitian ini ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 1. Hasil suplementasi CRM terhadap aktivitas enzim dan pencernaan pakan

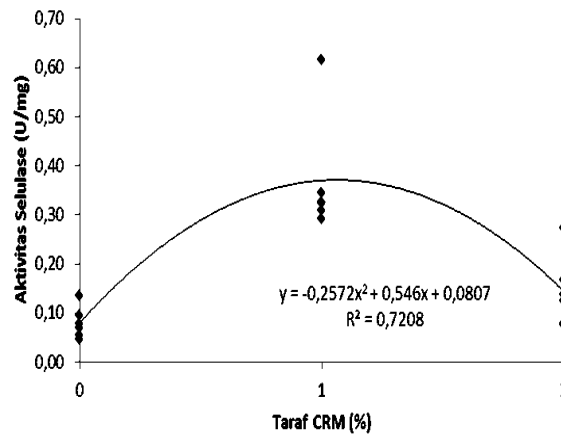
Parameter	Taraf CRM			Sig.	
	P1 (0%)	P2 (1%)	P3 (2%)	Lin.	Kuadr.
Aktivitas Selulase (U/mg)	0,08 ± 0,03	0,37 ± 0,12	0,14 ± 0,07	0,492	0,000
Aktivitas Protease (U/mg)	7,17 ± 3,16	2,1 ± 0,63	4,67 ± 2,59	0,168	0,006
Aktivitas Amilase (U/mg)	55,66 ± 0,03	11,11 ± 4,91	36,49 ± 19,68	0,161	0,000
Kec. Bahan Kering (%)	67,31 ± 1,03	67,21 ± 3,04	68,42 ± 3,68	0,443	0,681
Kec. Bahan Organik (%)	68,59 ± 1,38	67,05 ± 1,86	68,09 ± 3,96	0,032	0,340
Kec. Serat Kasar (%)	51,95 ± 1,38	64,26 ± 2,24	66,25 ± 4,14	0,000	0,002
Kec. Protein Kasar (%)	63,91 ± 1,25	70,56 ± 1,78	69,97 ± 3,60	0,002	0,012

Keterangan: Keterangan: P<0,05: signifikan; P>0,05: tidak signifikan

### 5.2. Aktivitas Selulase, Amilase, dan Protease

Hasil penelitian menunjukkan suplementasi CRM pada taraf 1-2% mampu meningkatkan aktivitas selulase rumen secara kuadrat (P<0,01) (Gambar 2). Peningkatan aktivitas selulase dari taraf CRM 0% sebesar 0,08 U/ml menjadi 0,37 U/mg pada taraf CRM 1,06%, setelah itu menurun hingga taraf CRM 2% dengan aktivitas selulase 0,14 U/mg. Peningkatan aktivitas selulase diduga karena kandungan flavonoid dalam CRM dipecah menjadi senyawa fenolik yang menstimulasi pertumbuhan bakteri selulolitik (*Ruminococcus albus*) (Hassan *et al.*, 2020). Flavonoid dan *S. cerevisiae* diketahui mampu menstimulasi pertumbuhan *M. elsdenii* (Balcells *et al.*, 2012; Vyas *et al.*, 2014) yang mengubah asam laktat menjadi propionat, asetat, dan beberapa strain menghasilkan butirrat serta valerat (Callaway dan Martin, 1997). Kondisi tersebut membuat pH rumen meningkat menjadi 5,93±0,15 pada P2 sehingga bakteri selulolitik dapat tumbuh dengan lebih optimal dibandingkan pada kelompok P1 (pH 5,68±0,28). Hal tersebut diperkuat dengan kandungan sulfur dan metionin dalam CRM yang dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri selulolitik (Puastuti, 2009; Suryapratama, 2020). Selain bakteri selulolitik, peningkatan aktivitas selulase juga dapat disebabkan oleh peningkatan populasi protozoa akibat peningkatan nilai pH rumen (999,50 menjadi 1825 sel/ml). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa protozoa menghasilkan sekitar 19-28% dari

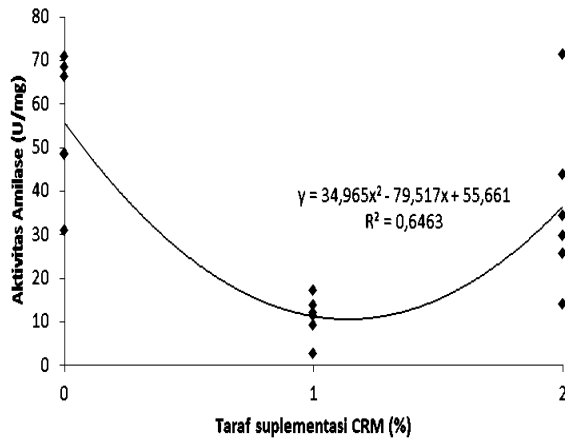
keseluruhan aktivitas selulolitik pada kondisi ternak yang diberi pakan tinggi hijauan (Gijzen *et al.*, 1988). Protozoa diketahui memiliki kemampuan mendegradasi berbagai nutrient pakan, dan sinergi antara bakteri selulolitik dan protozoa inilah yang membuat aktivitas selulase lebih optimal (Jouany dan Ushida, 1999; Yanuartono *et al.*, 2019).



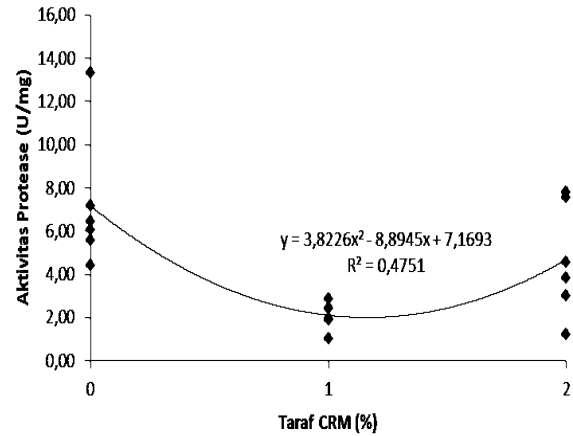
Gambar 1. Hubungan suplementasi CRM terhadap aktivitas selulase rumen

Penurunan aktivitas selulase setelah taraf CRM 1,06% hingga taraf CRM 2% diduga akibat efek antimikroba yang dimiliki oleh senyawa flavonoid semakin meningkat seiring peningkatan jumlah CRM. Penambahan flavonoid dalam dosis tinggi dapat menurunkan aktivitas selulolitik karena memiliki sifat antimikroba bagi bakteri maupun protozoa rumen (Ku-Vera *et al.*, 2020; Manh, 2012). Penambahan *M. olifera* sebanyak 10-20% konsumsi BK menurunkan aktivitas carboxymethyl cellulose (CMC-ase) pada kambing yang diberi pakan tinggi konsentrat (Jadhav *et al.*, 2018). Selain itu, peningkatan jumlah *S. cerevisiae* dalam CRM diduga turut meningkatkan produksi asam organik sehingga terjadi penurunan pH rumen dari  $5,93 \pm 0,15$  pada kelompok perlakuan P2 menjadi  $5,8 \pm 0,00$  pada kelompok perlakuan P3. Li *et al.* (2021) menyebutkan bahwa aktivitas sejumlah mikroba selulolitik terhambat pada pH rumen kurang dari 6,0 karena pengaruh regulasi pH intrasel yang menyebabkan aktivitas transportasi selobiosa terhambat.

Hasil penelitian menunjukkan suplementasi CRM pada taraf 1-2% menurunkan aktivitas amilase dan protease rumen secara kuadratik ( $P < 0,01$ ). Aktivitas amilase mengalami penurunan dari taraf CRM 0% sebesar 55,66 U/mg hingga aktivitas terendah pada taraf CRM 1,14% sebesar 10,45 U/mg, kemudian meningkat pada taraf CRM 2% dengan aktivitas amilase sebesar 36,49 U/mg (Gambar 3). Sedangkan aktivitas protease taraf CRM 0% sebesar 7,17 U/mg berkurang menjadi 1,99 U/mg pada taraf CRM 1,16%, setelah itu meningkat hingga taraf CRM 2% dengan aktivitas protease sebesar 4,67 U/mg (Gambar 4).



Gambar 2. Hubungan suplementasi CRM terhadap aktivitas amilase rumen



Gambar 3. Hubungan suplementasi CRM terhadap aktivitas protease rumen

Penurunan aktivitas amilase rumen diduga berkaitan erat dengan perbaikan kondisi pH rumen akibat suplementasi CRM yang menyebabkan peningkatan populasi protozoa rumen dibandingkan pada kelompok P1 (1825 vs 999,50 sel/ml). Hal ini karena protozoa merupakan kompetitor utama bakteri amilolitik rumen karena secara aktif mencerna pati, dekstrin, maltosa, dan isomaltosa (Belzecki *et al.*, 2007; Yanuartono *et al.*, 2019). Kompetisi yang terjadi menyebabkan berkurangnya jumlah substrat yang tersedia bagi bakteri amilolitik sehingga aktivitas amilase yang terukur menjadi menurun. Peningkatan amylase yang terjadi setelah penambahan taraf CRM 1,14% sampai taraf CRM 2% diduga akibat peningkatan produksi asam organik dari *S. cerevisiae* yang menyebabkan penurunan protozoa. Vyas *et al.* (2014) menyebutkan bahwa terjadi kompetisi antara *S. cerevisiae* dengan bakteri amilolitik *Streptococcus bovis* karena keduanya sama-sama memanfaatkan pati sebagai sumber karbon dengan mengeluarkan enzim ekstraseluler. Hal tersebut menyebabkan peningkatan aktivitas amylase yang terukur dalam cairan rumen.

Penurunan dan peningkatan aktivitas amilase turut mempengaruhi aktivitas protease di dalam rumen. Bach *et al.* (2005) menyebutkan bahwa pengaruh pH dan substrat yang difermentasi dapat mempengaruhi populasi mikroba yang dominan dan memodifikasi degradasi protein, karena protein berikatan dengan nutrient lain dalam suatu bahan pakan. Pakan yang digunakan dalam penelitian ini banyak mengandung konsentrat sehingga sebagian besar protein pakan berikatan dengan karbohidrat nonstruktural dan membutuhkan enzim lain untuk menghidrolisis ikatan tersebut (Neiva *et al.*, 2022; Wallace, 1996). Penurunan aktivitas amylase menyebabkan protein yang terlarut dalam rumen menjadi bekurang sehingga aktivitas bakteri proteolitik juga menurun.

Peningkatan aktivitas protease yang terjadi pada taraf CRM lebih dari 1,16% diduga pengaruh dari peningkatan aktivitas amylase (Gambar 3). Hal tersebut juga didukung dengan peningkatan taraf *S. cerevisiae*, sulfur dan metionin dalam CRM yang diketahui mampu menstimulasi pertumbuhan bakteri rumen. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian *S. cerevisiae* ke dalam pakan mampu meningkatkan aktivitas proteolitik (Dhia *et al.*, 2019; Yoon dan Stern, 1996). Sedangkan sulfur dan metionin merupakan unsur dan asam amino pembatas yang banyak digunakan dalam proses sintesis asam amino bakteri (Karto, 1999; Schwab dan Broderick, 2017).

### 5.3. Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik

Rataan kecernaan bahan kering pada penelitian ini sebesar  $67,21 \pm 3,04$  -  $68,42 \pm 3,68$  % (Tabel 3). Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan nilai kecernaan bahan kering pada penelitian Lakhani *et al.* (2019) yakni sebesar 52,7 – 60,80% yang melakukan penambahan rumen *modifier* dengan komposisi jerami dan konsentrat 50 : 50 secara *in vitro*. Sedangkan nilai kecernaan bahan organik pada penelitian ini berkisar antara  $67,05 \pm 1,86$  –  $68,59 \pm 1,38$  % (Tabel 3). Perbedaan nilai kecernaan dapat terjadi akibat rasio pemberian konsentrat dan bahan-bahan penyusun konsentrat yang berbeda pada masing-masing penelitian sehingga memiliki tingkat degradasi pakan yang berbeda. Secara umum rata-rata kecernaan bahan kering dan bahan organik pada penelitian ini mengalami penurunan dari taraf CRM 0 hingga 1%, kemudian meningkat hingga taraf CRM 2% (Tabel 3). Pola tersebut sesuai dengan pola aktivitas amilase dan protease yang dihasilkan karena pakan yang diberikan mengandung rasio konsentrat yang lebih banyak dibanding hijauan. Menurut Chen *et al.* (2021) perubahan taraf konsentrat dalam pakan dapat mempengaruhi konsumsi bahan kering dan kecernaan secara signifikan karena kenaikan proporsi konsentrat secara efektif akan meningkatkan palatabilitas pakan dan mempercepat laju digesta.

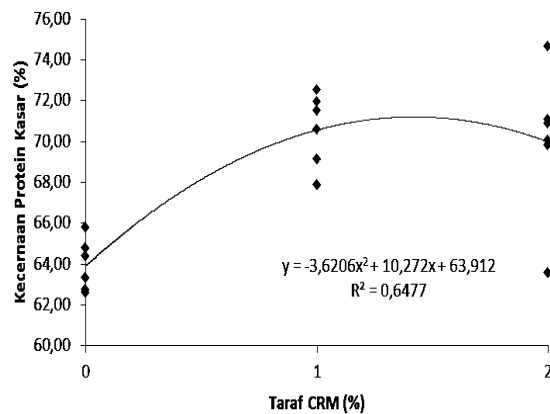
Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa suplementasi CRM tidak berpengaruh ( $P > 0,05$ ) terhadap kecernaan bahan kering dan kecernaan bahan organik pakan. Hal tersebut diduga karena suplementasi CRM sebanyak 1-2 % pada penelitian ini belum mampu meningkatkan pH rumen sampai mendekati pH optimal. González *et al.* (2014) menyebutkan bahwa kondisi rumen optimum pada pH mendekati 7,0, sedangkan pada penelitian ini pH rumen berkisar antara 5,4 – 6,0. Penurunan pH rumen dapat terjadi pada ternak yang diberi pakan tinggi konsentrat karena tingginya kandungan karbohidrat non struktural yang akan dengan cepat diubah menjadi propionat dan asam laktat (Carro *et al.*, 2000). Pada kondisi pakan tinggi hijauan, penambahan flavonoid sebesar 4,5% dalam pakan justru menurunkan kecernaan bahan kering secara signifikan dan tidak mempengaruhi pH rumen. Hal tersebut diduga akibat adanya efek antimikroba dari

flavonoid yang menghambat fungsi membran sitoplasma, menghambat sintesis dinding sel, maupun dengan menghambat sintesis asam nukleat (Oskoueian *et al.*, 2013). Namun, tidak semua jenis flavonoid bersifat toksik bagi mikroba rumen tergantung jumlah dan letak gugus hidroksil dan keberadaan gugus alifatik dan glikosil pada strukturnya (Alcaráz *et al.*, 2000).

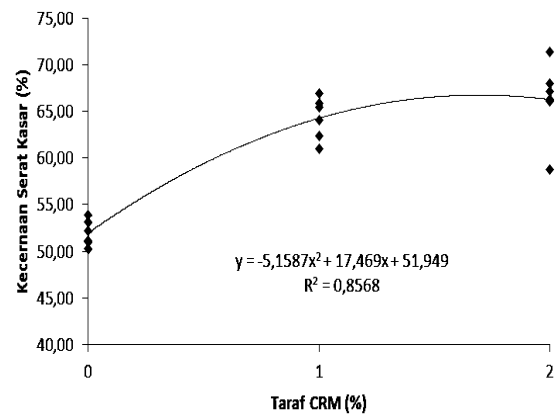
Kandungan flavonoid dalam CRM pada taraf 1% dan 2% belum cukup efektif dalam meningkatkan nilai pencernaan bahan kering dan bahan organik pakan tinggi konsentrat. Hasil penelitian Balcells *et al.* (2012) menunjukkan bahwa penambahan ekstrak flavonoid tumbuhan sebanyak 300 mg/kg BK pakan secara signifikan mampu meningkatkan pH rumen dan populasi bakteri pengguna laktat. Nilai tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan kandungan flavonoid dalam CRM pada penelitian ini yakni sekitar 9,89 – 19,07 mg/kg BK pakan. Selain taraf flavonoid yang lebih rendah, pemberian CRM yang berupa tepung diduga masih mengandung berbagai senyawa aktif lainnya yang dapat menyebabkan kinerja CRM belum efektif. Oskoueian *et al.* (2013) menjelaskan bahwa pemberian ekstrak kasar tanaman masih mengandung komponen lain diantaranya glikosida, fenolik, terpenoid, alkaloid, minyak esensial, dan asam organik sehingga sulit diamati pengaruh flavonoid terhadap mikroba rumen.

#### **5.4. Kecernaan Protein Kasar dan Serat Kasar**

Suplementasi CRM meningkatkan pencernaan protein kasar secara kuadratik ( $P < 0,01$ ) dengan titik maksimum pada taraf CRM 1,43% dan nilai pencernaan protein kasar sebesar 71,20% (Gambar 5). CRM juga meningkatkan pencernaan serat kasar secara kuadratik ( $P < 0,05$ ) dengan titik maksimum pada taraf CRM 1,69% dan nilai pencernaan serat kasar sebesar 66,74% (Gambar 6). Berdasarkan Gambar 5 diketahui terjadi peningkatan nilai pencernaan protein kasar dari P1 ke P2 sebanyak 10,4%. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa suplementasi flavonoid dari tumbuhan mampu meningkatkan pencernaan protein pakan pada ruminansia (Ma *et al.*, 2017, Zhan *et al.*, 2017). Kenaikan nilai pencernaan protein pada P2 berbanding terbalik dengan hasil pengukuran aktivitas protease rumen (Gambar 4). Hal tersebut dapat terjadi karena terdapat kandungan tanin di dalam CRM yang memproteksi protein pakan dan menghambat aktivitas protease rumen sehingga protein pakan yang terdegradasi di rumen menurun. Patra dan Saxena (2011) menyebutkan bahwa pada pakan tinggi konsentrat, semakin rendah protein pakan yang terdegradasi di dalam rumen akan meningkatkan jumlah protein tercerna di dalam usus halus. Peningkatan nilai pencernaan protein pakan juga terdapat pada penelitian Abdullah *et al.* (2018) yang melakukan penambahan tanin sebanyak 1,5 - 3% BK ransum. Hal ini karena tanin mampu memproteksi protein pakan di rumen dari degradasi oleh mikroba untuk dilepaskan di abomasum.



Gambar 4. Hubungan suplementasi CRM terhadap pencernaan protein kasar



Gambar 5. Hubungan suplementasi CRM terhadap pencernaan serat kasar

Nilai rata-rata pencernaan protein kasar meningkat pada taraf CRM 0-1,43% dari nilai pencernaan 63,9% menjadi 71,20%. Hal tersebut berbanding terbalik dengan hasil pengukuran aktivitas protease rumen yang menunjukkan penurunan pada taraf CRM yang hampir sama (Gambar 4). Hal tersebut dapat terjadi karena terdapat kandungan tanin terkondensasi di dalam CRM sebesar 215-416 mg untuk masing-masing perlakuan P2 dan P3 yang memproteksi protein pakan dan menghambat aktivitas protease rumen. Patra and Saxena (2011) menyebutkan bahwa pada pakan tinggi konsentrasi, semakin rendah protein pakan yang terdegradasi di dalam rumen akan meningkatkan jumlah protein tercerna di dalam usus halus. Selain itu kandungan flavonoid tanaman, suplementasi *S. cerevisiae*, sulfur dan metionin diketahui mampu meningkatkan pencernaan protein pakan pada ruminansia (Karto, 1999; Ma *et al.*, 2017; Suryapratama, 2020; Zhan *et al.*, 2017). Peningkatan pencernaan protein pakan juga dapat disebabkan karena beberapa hal antara lain; banyaknya mikroba proteolitik yang menempel pada substrat (Lee *et al.*, 1999), adanya aktivitas proteolitik dari protozoa (Wallace, 1996), serta tingginya produksi biomassa mikroba (Patra dan Saxena, 2011; Santra dan Pathak, 2001).

Pada taraf CRM lebih dari 1,43% nilai pencernaan protein kasar mengalami penurunan hingga taraf CRM 2% sebanyak 1,28% yang diduga akibat efek toksik dari flavonoid dan tanin yang terlalu tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Abdel-Raheem and Hassan (2021) yang menunjukkan bahwa pemberian *M. oleisfera* sebanyak 25% konsumsi BK justru menurunkan pencernaan protein kasar pada pedet. Hal ini karena mikroba rumen dapat memanfaatkan metabolit sekunder tanaman dalam jumlah sedikit sebagai sumber energi, namun pada dosis yang lebih tinggi justru dapat berdampak negatif karena efek antimikroba yang ditimbulkan.

Hasil pengukuran pencernaan serat kasar mengalami peningkatan pada taraf CRM 0-1,69% dari semula 51,95% menjadi 66,74%. Kondisi tersebut dapat terjadi karena

senyawa flavonoid mampu memanipulasi kondisi rumen dan meningkatkan populasi bakteri selulolitik sehingga meningkatkan penggunaan pakan berserat (Balcells *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2017; Oskoueian *et al.*, 2013). Penambahan metionin dan sulfur juga dapat dapat menjadi sumber N bagi bakteri pengguna laktat sehingga dapat tumbuh optimal (Monteiro *et al.*, 2022; Suryapratama, 2020). Penelitian Chen *et al.* (2019) menunjukkan adanya peningkatan populasi bakteri selulolitik jenis *Butyrivibrio fibrisolvens* linear dengan pertumbuhan *M. elsdenii* yang mengubah asam organik berupa laktat menjadi butirir dan menghasilkan perbaikan pH. Hal tersebut diduga juga meningkatkan aktivitas protozoa dalam mendegradasi pakan berserat (Coleman, 1976). Penurunan nilai pencernaan serat kasar pakan terjadi setelah taraf CRM 1,69 hingga taraf CRM 2% dengan nilai pencernaan serat kasar sebesar 66,74% menjadi 66,25%. Hal tersebut sejalan dengan penurunan aktivitas selulase pada taraf yang sama akibat konsentrasi flavonoid dan tanin yang lebih tinggi sehingga justru menyebabkan efek negatif terhadap aktivitas selulolitik di dalam saluran pencernaan. Beberapa penelitian yang telah yang telah dilakukan menunjukkan adanya penurunan pencernaan serat kasar pada suplementasi flavonoid maupun tanin dalam konsentrasi tinggi (Abdel-Raheem dan Hassan, 2021; Hassan *et al.*, 2020).

