

Potensi minyak kanola dan flaxseed terproteksi sabun kalsium untuk mengoptimalkan fermentasi dan mikroba rumen sapi potong secara in vitro

The potential of canola and flaxseed oil protected by calcium soap for optimizing beef cattle rumen microbial and in vitro fermentation

SRI SUHARTI^{1,*}, AFDOLA RISKI NASUTION², DESTI NUR ALIYAH², NUR HIDAYAH³

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Jawa Barat. Tel. +62-251- 8626213, Fax. +62-251-8626213, *email: harti_ss@yahoo.com

² PS. Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, Jawa Barat.

³ PS. Ilmu Nutrisi dan Pakan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, Jawa Barat.

Manuskrip diterima: 15 Desember 2014. Revisi disetujui: 14 Januari 2015.

Abstrak. Suharti S, Nasution AR, Nuraliyah D, Hidayah N. 2015. Potensi minyak kanola dan flaxseed terproteksi sabun kalsium untuk mengoptimalkan fermentasi dan mikroba rumen sapi potong secara in vitro. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1 (1): 89-92.* Suplementasi sumber asam lemak tak jenuh asal tanaman pada pakan ternak ruminansia diperlukan untuk memperbaiki produksi dan kualitas daging sapi. Minyak tanaman yang berpotensi sebagai sumber asam lemak tak jenuh antara lain minyak kanola (tinggi kandungan asam linoleat) dan minyak flaxseed (tinggi kandungan linolenat). Namun penggunaan minyak tanaman sumber asam lemak tak jenuh tersebut perlu diproteksi sehingga tidak mengalami proses biohidrogenasi oleh bakteri rumen menjadi asam lemak jenuh. Teknologi proteksi asam lemak tak jenuh yang bisa mudah dan murah untuk di aplikasikan adalah teknik sabun kalsium. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas proteksi asam lemak tak jenuh dengan teknik sabun kalsium dalam mencegah proses biohidrogenasi asam lemak tak jenuh sehingga dapat mengoptimalkan fermentasi mikroba rumen. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok dengan 3 kelompok berdasarkan pengambilan cairan rumen. Variabel karakteristik fermentasi yang diamati meliputi nilai pH rumen, konsentrasi NH₃, serta kecernaan bahan kering dan bahan organik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi minyak kanola dan flaxseed yang diproteksi dengan teknik sabun kalsium sebesar 6% dalam ransum tidak mempengaruhi nilai pH rumen, kecernaan bahan kering, populasi bakteri total serta protozoa rumen, namun cenderung meningkatkan kecernaan bahan organik dan konsentrasi amonia (NH₃). Suplementasi minyak flaxseed terproteksi juga cenderung meningkatkan VFA total dan proporsi asam propionat yang berpotensi sebagai sumber energi ternak sapi potong. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas mikroba rumen dalam fermentasi pakan tidak terganggu dengan penambahan lemak terproteksi.

Kata kunci: Minyak kanola, minyak flaxseed, bakteri rumen, protozoa rumen, fermentasi

Singkatan: VFA= volatile fatty acid

Abstract. Suharti S, Nasution AR, Nuraliyah D, Hidayah N. 2015. *The potential of canola and flaxseed oil protected by calcium soap for optimizing in vitro rumen microbial fermentation of beef cattle. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1 (1): 89-92.* Supplementation of unsaturated fatty acid from the plant in ruminant feed is needed to improve the production and quality of beef meat. Vegetable oils as potential sources of the unsaturated fatty acid include canola oil (high linoleic acid content) and flaxseed oil (high in linolenic acid). However, to use vegetable oils as sources of unsaturated fatty acids, the oil needs to be protected to avoid biohydrogenation by rumen bacteria which convert the oil into saturated fatty acid. Calcium soap method is relatively easy and cheap to protect unsaturated fatty acid. This experiment was designed to examine the potential of calcium soap-protected canola oil and flaxseed oil in optimizing in vitro rumen microbe fermentation. The experimental design was conducted in a randomized block design with 3 replicates. Variables observed were rumen fermentation characteristic (pH value, N-NH₃ concentration, molar proportion and total VFA, dry matter and organic matter digestibility) and rumen microbes (protozoa and bacteria). The result showed that supplementation of canola and flaxseed oil protected by calcium soap at level 6% did not affect pH level, dry matter digestibility, rumen protozoa and bacteria total, but did increase organic matter digestibility and N-NH₃ concentration. Supplementation of the protected flaxseed oil increased total VFA and proportion of propionic acid concentration as a potential energy source for the cattle. This result indicated that supplementation of protected fat did not disturb microbial activity in feed fermentation.

Keywords: Canola oil, flaxseed oil, rumen bacteria, rumen protozoa, fermentation

Abbreviation: VFA= volatile fatty acid

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi sapi potong, seyogyanya diiringi dengan peningkatan kualitas daging terutama kandungan asam lemak tak jenuh. Oleh sebab itu perlu dilakukan upaya yang dapat mengurangi kandungan asam lemak jenuh pada daging. Pembentukan asam lemak jenuh pada ternak ruminansia dikarenakan adanya proses biohidrogenasi mikroba rumen yang mengubah asam lemak tak jenuh pada pakan menjadi asam lemak jenuh (Hobson dan Stewart 2007).

Salah satu strategi efektif untuk meningkatkan produktivitas ternak sapi potong dan sekaligus meningkatkan komposisi asam lemak tak jenuh pada produk daging adalah melalui suplementasi sumber asam lemak tak jenuh asal tanaman yaitu minyak kanola, minyak wijen, dan minyak flaxseed, minyak biji bunga matahari, dan lain-lain. Namun demikian, suplementasi sumber asam lemak tak jenuh ini perlu diproteksi sehingga tidak mengalami proses biohidrogenasi oleh bakteri rumen. Beberapa teknologi proteksi asam lemak tak jenuh yang bisa diterapkan antara lain enkapsulasi (Pramono 2010), sabun kalsium (Wynn et al. 2006), formaldehid dan lain-lain.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan minyak kanola dan flaxseed yang diproteksi dengan teknik sabun kalsium pada taraf 4% tidak mengganggu populasi dan aktivitas mikroba rumen (bakteri dan protozoa) serta dapat meningkatkan aktivitas fermentasi mikroba rumen sapi potong. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektifitas sabun kalsium minyak flaxseed dan kanola pada level yang lebih tinggi yaitu 6% dalam konsentrat pada populasi mikroba dan aktivitas fermentasi dalam rumen sapi potong secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Fisiologi dan Mikrobiologi Nutrisi, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat. Penelitian dilakukan menggunakan teknik fermentasi secara *in vitro* dengan sapi potong berfistula sebagai donor inokulum cairan rumen.

Pembuatan sabun kalsium (Kumar et al. 2006)

Bahan utama yang diperlukan dalam pembuatan sabun kalsium adalah NaOH dan CaCl₂. Tahapan dalam pembuatan sabun kalsium sebagai berikut: (i) pengukuran bilangan penyabunan minyak (Apriyantono et al. 1989) untuk mengetahui jumlah larutan NaOH yang dibutuhkan, (ii) penambahan larutan NaOH pada minyak yang dipanaskan dan diaduk di atas *hotplate* dengan suhu 200 °C dan putaran 800 rpm sampai lemak larut secara sempurna. (iii) penambahan perlahan dan pengadukan larutan CaCl₂ (2.35 g dan aquades 4.7 mL) sampai terbentuk padatan sabun kalsium.

Inkubasi *in vitro* (Tilley dan Terry 1963)

Tabung fermentor yang telah diisi dengan 500 mg sampel ransum (60% hijauan dan 40% konsentrat (4% minyak). Sampel perlakuan ditambahkan 10 mL cairan rumen dan 40 mL larutan Mc Dougal. Tabung fermentor dikocok dengan cara mengaliri gas CO₂ selama 30 detik (pH 6.5-6.9) dan ditutup dengan karet berventilasi. Tabung dimasukkan ke dalam *shaker waterbath* dengan suhu 39 °C, dilakukan fermentasi selama 4 jam untuk sampel nilai pH rumen, NH₃, VFA total dan parsial, protozoa, dan bakteri total; fermentasi 0 dan 4 jam untuk sampel profil asam lemak rumen; dan fermentasi 48 jam untuk sampel KCBK/KCBO. Penghentian proses fermentasi dilakukan dengan cara membuka tutup karet berventilasi kemudian ditetesi 2 tetes HgCl₂.

Pengukuran konsentrasi N-NH₃ (amonia)

Pengukuran konsentrasi N-NH₃ menggunakan metode Mikrodifusi Conway (General Laboratory Procedures 1966). Supernatan sampel yang berasal dari 4 jam inkubasi *disentrifuge* pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit diambil sebanyak 1 mL dan diletakkan dalam satu sisi sekat Conway, 1 mL larutan Na₂CO₃ jenuh pada posisi sekat lainnya, dan ditengah 1 mL asam borat berindikator. Kemudian cawan ditutup rapat dan larutan Na₂CO₃ jenuh dicampur dengan supernatan sehingga akan terlepas gas amonia dan didiamkan selama 24 jam. Kemudian asam borat dititrasi dengan H₂SO₄ 0.005 M sampai terjadi perubahan warna dari biru ke merah. Kadar amonia dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{N-NH}_3 \text{ (mM)} = \frac{\text{mL H}_2\text{SO}_4 \times \text{N H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{g sampel} \times \text{BK sampel}}$$

Pengukuran konsentrasi VFA total dan parsial

Pengukuran produksi VFA total dan parsial (asam asetat, propionat, butirat, valerat, dan isovalerat) dilakukan dengan menggunakan alat *Gas Chromatography* (General Laboratory Procedures 1966). Jenis *Gas Chromatography* yang digunakan yaitu GC 8A, Shimadzu Crop., Kyoto, Japan dengan kolom berisi 10% SP-1200, 1% H₃PO₄ on 80/100 Cromosorb WAW. Sampel VFA parsial yang digunakan berasal dari proses fermentasi dengan inkubasi 4 jam yang diambil sebanyak 1.5 mL ke dalam tabung *eppendorf* dan pH-nya diturunkan sampai pH 3 untuk menstabilkan sampel yang akan diukur gasnya, selanjutnya sampel dianalisis dengan cara menginjektikan 0.4 µL sampel pada GC. Dengan membaca kromatogram standar acuan VFA yang konsentrasinya sudah diketahui maka konsentrasi VFA yang akan diukur dapat dilihat pada kromatogram. Konsentrasi VFA sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{mM sampel VFA} = \frac{\text{Area contoh} \times 10 \text{ mM}}{\text{Area standar}}$$

Pengukuran KCBK dan KCBO

Pengukuran KCBK dan KCBO menggunakan metode Tilley dan Terry (1963). Endapan sampel yang merupakan hasil *sentrifuge* 3500 rpm selama 15 menit ditambah 50 mL

larutan pepsin-HCL. Campuran tersebut diinkubasi selama 48 jam tanpa tutup karet. Setelah 48 jam campuran endapan-pepsin disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No. 41 dengan bantuan pompa vakum. Hasil saringan dimasukkan ke dalam cawan porselen yang sebelumnya sudah diketahui bobot kosongnya. Bahan kering diperoleh dengan cara mengeringkan sampel dalam oven 105°C selama 24 jam. Selanjutnya bahan dalam cawan diabukan dalam tanur listrik selama 6 jam pada suhu 600°C. Sebagai blanko digunakan residu asal fermentasi tanpa sampel. Koefisien Cerna Bahan Kering (KCBK) dan Koefisien Cerna Bahan Organik (KCBO) diitung dengan rumus:

$$\% \text{ KCBK} = \frac{BK_{\text{sampel}} (g) - (BK_{\text{residu}} (g) - BK_{\text{blanko}} (g))}{BK_{\text{sampel}} (g)} \times 100$$

$$\% \text{ KCBO} = \frac{BO_{\text{sampel}}(g) - (BO_{\text{residu}}(g) - BO_{\text{blanko}}(g))}{BO_{\text{sampel}}(g)} \times 100\%$$

Populasi protozoa

Perhitungan populasi protozoa menggunakan metode Ogimoto dan Imai (1981). Sampel larutan hasil fermentasi 4 jam inkubasi diambil sebanyak 0.5 mL dan dicampur dengan 2 mL larutan fiksasi lalu dikocok sempurna. Larutan fiksasi terdiri atas 20 mL 35% formaldehyde, 180 mL ddH₂O, 0.12 g methylgreen dan 1.6 g NaCl. Jumlah populasi protozoa dihitung dengan *Fuch Rosenthal Counting Chamber* (4 mm x 4 mm x 0.2 mm) dengan menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah protozoa/mL} = N \times 1/0.0032 \times \text{FP}$$

N = jumlah koloni protozoa terhitung dalam 16 *chamber*
FP = Faktor Pengenceran

Perhitungan populasi bakteri total

Perhitungan populasi bakteri total menggunakan metode Ogimoto dan Imai (1981). Media tumbuh yang digunakan adalah media BHI. Media dimasukkan ke dalam tabung Hungate masing-masing sebanyak 5 mL yang sebelumnya telah diisi agar Bacto sebanyak 0.15 g, media disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit. Media dimasukkan dalam penangas air (47°C) dan dilakukan pengenceran dengan memasukkan 0.05 mL cairan rumen dalam 4.95 mL media pengencer. Selanjutnya diambil kembali 0.05 mL lalu dimasukkan ke dalam 4.95 mL media pengencer berikutnya, pengenceran dilakukan tiga kali. Kemudian diambil sebanyak 0.1 mL ditransfer ke media agar dan diputar sampai memadat secara merata pada dinding tabung. Tabung selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

$$\text{Populasi Bakteri} = n \times 10^{9.02} \times \frac{CFU}{ml}$$

n = jumlah koloni yang terdapat pada tabung seri pengenceran ke-x

Analisis data

Analisis data dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi bakteri dan protozoa rumen

Suplementasi sabun kalsium minyak kanola (Sabun Ca) dan sabun kalsium minyak flaxseed (Sabun Ca-flaxseed) sampai level 6% dalam konsentrat tidak mempengaruhi populasi total bakteri dan total protozoa dalam rumen (Tabel 1).

Karakteristik fermentasi rumen

Suplementasi Sabun Ca-kanola dan sabun Ca-flaxseed sampai level 6% tidak mempengaruhi nilai pH rumen dan cenderung menurunkan pencernaan bahan kering pakan. Namun demikian, suplementasi kedua minyak tersebut yang diproteksi dengan sabun kalsium pada level 6% cenderung meningkatkan pencernaan bahan organik, konsentrasi amonia dan produksi VFA total. Selain itu, penggunaan sabun Ca-flaxseed juga cenderung meningkatkan proporsi asam propionat (Tabel 2).

Tabel 1. Populasi bakteri dan Protozoa rumen dengan penambahan sabun kalsium-minyak tanaman

| Parameter | Ransum kontrol | K + sabun Ca-kanola | K+sabun Ca-flaxseed |
|------------------------------------|----------------|---------------------|---------------------|
| Populasi bakteri total (Log 10/mL) | 6,68 ±0,65 | 6,27 ± 0,21 | 6,25±0,17 |
| Populasi Protozoa (Log 10 CFU/mL) | 5,08±0,16 | 4,85±0,23 | 4,93 ± 0,10 |

Tabel 2. Karakteristik fermentasi rumen in vitro dengan penambahan sabun kalsium-minyak tanaman

| Parameter | Ransum kontrol | K + sabun Ca-kanola | K+sabun Ca-flaxseed |
|----------------------------------|----------------|---------------------|---------------------|
| Nilai pH | 6,93 | 6,95 | 6,95 |
| Kecernaan bahan Kering (%) | 65,7 | 66 | 63,98 |
| Kecernaan bahan organik (%) | 75,14 | 77,65 | 79,35 |
| Konsentrasi NH ₃ (mM) | 10,79 | 11,47 | 11,81 |
| Produksi VFA total (mM) | 36,56 | 45,57 | 49,01 |
| Proporsi molar VFA (%) | | | |
| Asetat | 67,5 | 65,22 | 65,69 |
| Propionat | 22,10 | 22,42 | 25,85 |
| Butirat | 3,41 | 3,37 | 2,29 |
| Isobutirat | 6,36 | 7,21 | 5,54 |
| Valerat | 0,46 | 0,98 | 0,17 |
| Isovalerat | 0,42 | 0,80 | 0,46 |

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi minyak kanola dan flaxseed yang diproteksi dengan teknik sabun kalsium sebesar 6% dalam ransum tidak mempengaruhi nilai pH rumen, pencernaan bahan kering, populasi bakteri total serta protozoa rumen, namun cenderung meningkatkan pencernaan bahan organik dan konsentrasi amonia (NH_3). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan lemak sampai level 6% dalam konsentrat sapi potong tidak memberikan efek yang negatif pada populasi dan aktivitas mikroba rumen. Seperti telah diketahui bahwa, asam lemak tak jenuh yang tinggi dalam rumen dapat menyebabkan toksik bagi bakteri rumen serta menghambat aktivitas mikroba dalam mendegradasi pakan. Namun dengan penambahan asam lemak asal tanaman yang diproteksi dengan sabun kalsium dapat menghilangkan efek negatif lemak pada mikroba rumen, dan justru dapat meningkatkan pencernaan bahan organik pakan. Hasil penelitian Jalc et al. (2007) menunjukkan bahwa penambahan sebesar 3.5% asam lemak tak jenuh (oleat, linoleat, dan α -linolenat) pada pakan berbasis 80% *lucerne* and 20% *barley* belum memberikan perubahan terhadap nilai pH rumen yaitu berkisar 6.73-6.93. Hasil penelitian Adawiyah (2007) melaporkan bahwa penambahan minyak ikan sebesar 1.5% dalam bentuk bebas sangat nyata menurunkan ($P < 0.001$) populasi bakteri rumen dibandingkan penambahan 3% minyak ikan dalam bentuk sabun kalsium (1.71 dan $3.53 \times 10^9/\text{mL}$). Penambahan minyak ikan dalam bentuk bebas dengan level rendah sudah sangat nyata menurunkan populasi bakteri total. Hal ini karena minyak ikan mengandung EPA dan DHA yang bersifat paling toksik pada pertumbuhan bakteri rumen. Hasil penelitian Alexander et al. (2002) menunjukkan bahwa penambahan 5% minyak bunga matahari dalam bentuk bebas secara *in vivo* pada pakan 60% hay *Brazilian napier* dan 40% konsentrat sangat nyata ($P < 0.01$) menurunkan pencernaan bahan kering, PK, NDF, ADF, hemiselulosa, dan selulosa dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan minyak). Penurunan pencernaan bahan pakan semakin meningkat dengan penambahan 10% minyak bunga matahari dalam bentuk bebas. Penambahan minyak bunga matahari dalam bentuk sabun kalsium sampai 10% tidak menurunkan pencernaan bahan kering, PK, NDF, dan ADF namun meningkatkan konsumsi TDN pakan.

Peningkatan konsentrasi amonia dengan penggunaan sabun kalsium minyak tanaman menunjukkan adanya peningkatan degradasi protein pakan oleh mikroba rumen. Seperti diketahui bahwa amonia merupakan produk akhir dari degradasi protein pakan oleh mikroba rumen. Konsentrasi amonia yang tinggi tersebut juga memungkinkan peningkatan sintesis protein mikroba pada sistem rumen karena amonia merupakan prekursor utama

dalam pembentukan sel mikroba. Hal ini dapat memberikan efek yang positif pada performa ternak karena sintesis protein mikroba yang tinggi dapat mensuplai protein dengan kualitas asam amino seimbang untuk tubuh ternak.

Suplementasi minyak flaxseed terproteksi juga cenderung meningkatkan VFA total dan proporsi asam propionat yang berpotensi sebagai sumber energi ternak sapi potong. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas mikroba rumen dalam fermentasi pakan tidak terganggu dengan penambahan lemak terproteksi. Bhatt et al. (2013) melaporkan bahwa penambahan 4% minyak *rice bran* dalam bentuk sabun kalsium secara *in vivo* nyata meningkatkan ($P < 0.05$) produksi VFA total, pertambahan bobot badan, bobot badan, konsumsi bahan kering dan menurunkan rasio konsumsi pakan (FCR) dibandingkan dengan penambahan minyak dalam bentuk bebas ataupun kontrol (tanpa penambahan minyak).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Penelitian Dasar Bagian BOPTN LPPM IPB Bogor 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, Sutardi T, Toharmat T, Manalu W, Ramli N, Tanuwiria UH. 2007. Respons terhadap suplementasi sabun mineral dan mineral organikserta kacang kedelai sangrai pada indikator fermentabilitas ransum dalam rumen domba. *Media Peternakan* 30 (1): 63-70.
- Alexander G, Prabhakara Rao Z, Rama Prasad J. 2002. Effect of supplementing sheep with sunflower acid oil or its calcium soap on nutrient utilization. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 15 (9): 1288-1293.
- BhattRS, Karim SA, Sahoo A, Shinde AK. 2013. Growth performance of lambs fed diet supplemented with rice bran oil as such or as calcium soap. *Asian-Aust J Anim Sci* 26 (6): 812-819.
- Hobson P, Stewart CS. 2007. *Rumen microbial ecosystem*. 2nd ed. Blackie Academic & Professional, London.
- Kumar R, Sivaiah K, Ramana Reddy Y, Ekambram B, Reddy TJ, Reddy GVN. 2006. Effect of supplementation of dietary protected lipids on intake and nutrient utilization in Deccani lambs. *Trop Anim Health Prod* 38: 151-158
- Jalc D, Certik M, Kundrikova K, Namestkova P. 2007. Effect of unsaturated C18 fatty acids (oleic, linoleic, and α -linolenic acid) on ruminal fermentation and production of fatty acid isomers in an artificial rumen. *Vet Medic* 52 (3): 87-94
- Ogimoto K, Imai S. 1981. *Atlas of rumen microbiology*. Japan Scientific Societies, Tokyo.
- Pramono A. 2010. *Suplementasi minyak ikan lemuru dan hidrolisat darah terproteksi untuk meningkatkan produktivitas sapi perah*. Laporan Akhir Hibah Disertasi Doktor.
- Tilley JMA, Terry RA. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J Br Grassland Soc* 18: 104-111
- Wynn RJ, Daniel ZCTR, Flux CL, Craigon J, Salter AM, Buttery PJ. 2006. Effect of feeding rumen-protected conjugated linoleic acid on carcass characteristics and fatty acid composition of sheep tissues. *J Anim Sci* 84: 3440-3450.