

Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas *in-vitro*

Deni Ramdani, Marjuki dan Siti Chuzaemi
Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang (65145) - Indonesia

Correspondent author: dr.ramdani93@gmail.com

ABSTRACT: The aim of this study is to determine the best solvent for noni fruits (*Morinda citrifolia* L.) extraction processes to reduce ruminal protozoa's growth and gas production. This research used nested on randomized block design with two factors of treatment and three group replication, if there was significant different would be tested by Duncan's Multiple Range Test Methods. EM was noni fruits extract which methanol used as solvent, and EA was noni fruits extract which aquadest used as solvent. The result showed protozoa and gas production were decreased on additional of noni fruits extract with methanol solvent ($P < 0.05$). The conclusion is the methanol can be used as the best solvent in noni fruits extraction processes to reduce ruminal protozoa and to increase degradability.

Keywords: *Saponin, defaunation, gass, protozoa, viability*

PENDAHULUAN

Ternak ruminansia merupakan salah satu ternak yang mengkonsumsi hijauan sebagai pakan utama dan dijadikan sebagai sumber energi untuk kebutuhan hidup pokok dan produksinya. Rumen sebagai salah satu organ pencernaan yang dimiliki ternak ruminansia, merupakan habitat alami dan istimewa bagi mikroba dalam melakukan berbagai macam aktivitas pencernaan pakan secara fermentatif. Ternak ruminansia tanpa adanya mikroba tidak akan mampu mencerna bahan pakan berserat kasar tinggi dan dijadikan sebagai sumber energi (Lamid dkk., 2011).

Mikroba rumen mampu memanfaatkan dan memecah berbagai ikatan kompleks dalam pakan sehingga ketersediaan nutrisi bagi ternak mampu meningkatkan produksi. Rumen memiliki kondisi yang ideal bagi

pertumbuhan mikroba termasuk protozoa. Protozoa yang memiliki sifat kanibal diharapkan dapat ditekan pertumbuhannya sehingga tidak memakan bakteri dalam rumen.

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki kandungan senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, glikosida, antrakuinon dan kumarin (Valli and Murugalakshmi, 2014). Buah mengkudu juga mengandung senyawa antrakuinon, skopoletin dan saponin (Satwadhar *et al.*, 2011). Selain komponen flavonoid buah mengkudu, juga mengandung vitamin A, C, niasin, tiamin, ribovlafin serta mineral seperti zat besi, kalium, natrium dan kalsium.

Saponin merupakan salah satu senyawa yang berfungsi sebagai agen defaunator untuk mengurangi jumlah protozoa di dalam cairan rumen. Perbedaan konsentrasi senyawa saponin dalam ekstrak buah mengkudu secara

kuantitatif ditentukan oleh kemampuan jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi untuk melarutkan senyawa saponin. Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu pada pakan terhadap produksi gas *in-vitro*, populasi protozoa dan persentase viabilitas protozoa rumen secara *in-vitro*.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2015. Pembuatan ekstrak buah mengkudu dilakukan di Laboratorium (Lab.) Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya (UB). Percobaan produksi gas secara *in-vitro* dilakukan di Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak UB. Perhitungan jumlah dan viabilitas protozoa rumen dilaksanakan di Lab. Mikrobiologi dan Lab. Epidemiologi Fakultas Peternakan UB.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu matang yang baru dipetik dari pohonnya; bahan pakan terdiri dari campuran rumput gajah dan *pollard* dengan kandungan Protein Kasar (PK) masing-masing 9% dan 17% dari Bahan kering (BK); cairan rumen dari sapi betina berfistula yang berumur 8 tahun yang diberi pakan berupa rumput gajah dan campuran antara *pollar*, bekatul dan bungkil kelapa yang diambil pada pagi hari sebelum pemberian pakan; seperangkat bahan kimia untuk pengukuran produksi gas *in-vitro*; seperangkat bahan kimia untuk perhitungan populasi dan viabilitas protozoa rumen, dan; pelarut yang digunakan adalah metanol dan akuades.

Inkubasi selama 48 jam pada suhu 39°C *anaerob* untuk pengukuran produksi gas dilakukan menggunakan *syringe* berskala; inkubasi selama 48 jam pada suhu 39°C *anaerob* untuk pengukuran populasi dan viabilitas protozoa rumen dilakukan menggunakan tabung *in-vitro*. Metode yang digunakan adalah percobaan laboratorium menggunakan rancangan acak kelompok pola tersarang 2 faktor, masing-masing dilakukan 3 kali *running* sebagai ulangan sebagai berikut:

EA = Ekstrak akuades buah mengkudu

L0= tanpa penambahan ekstrak

L1= + Ekstrak 1% BK pakan

L2= + Ekstrak 2% BK pakan

L3= + Ekstrak 3% BK pakan

EM = Ekstrak methanol buah mengkudu

L0= tanpa penambahan ekstrak

L1= + Ekstrak 1% BK pakan

L2= + Ekstrak 2% BK pakan

L3= + Ekstrak 3% BK pakan

Variabel yang diamati meliputi produksi gas total *in-vitro* menurut Makkar *et al.*, (1995), potensi produksi gas (b) dan laju produksi gas (c) yang ditentukan berdasarkan persamaan Mertans (1977) yang dikutip oleh Makkar *et al.*, (1995), populasi dan viabilitas protozoa rumen dan dinamika pertumbuhan protozoa rumen yang dihitung dan dimodifikasi berdasarkan petunjuk Ogimoto *et al.*, (1981). Analisis data menggunakan analisis ragam untuk mengukur produksi gas dan viabilitas protozoa rumen, serta analisis peragam untuk perhitungan populasi protozoa rumen. Uji Jarak Berganda Duncan digunakan untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Kandungan nutrisi bahan pakan untuk pakan percobaan

Bahan Pakan	Bahan Kering ¹ (%)	Kandungan Nutrisi (%BK)				
		BO ¹	PK ¹	LK	SK	BETN
Rumput Gajah	16,46	89,06	8,12	2,7 ²	44,49 ²	23,16 ²
<i>Pollard</i>	82,31	94,62	17,06	6,92 ³	3,75 ³	65,88 ³

Sumber: ¹Hasil analisis laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya (2015); ²Dinata, dkk. (2015); ³Rianto, dkk. (2006)

Gambaran umum penelitian

Substrat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari campuran antara rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) dan *pollard* (*Triticum aestivum*) dalam bentuk tepung. Kandungan nutrisi rumput gajah dan *pollard* sebagai pakan percobaan disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis laboratorium diperoleh kandungan protein kasar (PK) rumput gajah sebesar 8% dan kandungan PK *pollard* sebesar 17% dari total bahan kering masing-masing bahan pakan.

Data kandungan protein kasar kedua bahan pakan dijadikan sebagai acuan dalam penyusunan pakan percobaan. Proses penyusunan pakan percobaan menggunakan metode perhitungan *pearson square* sehingga pakan percobaan memiliki kandungan protein kasar sebesar 12% sesuai NRC (2001), bahwa kebutuhan protein kasar ternak ruminansia berkisar antara 9-15% dari BK pakan tergantung status fisiologis ternak. Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan metode *pearson square*, proporsi rumput gajah dan *pollard* dalam pakan percobaan berturut-turut adalah 56,59% dan 43,41%.

Bahan organik dalam pakan yang telah mengalami degradasi oleh mikroba rumen akan dikonversi menjadi produk akhir berupa energi hasil degradasi komponen karbohidrat dan ammonia (NH₃) yang merupakan produk hasil degradasi fraksi protein atau sumber nitrogen lain yang bukan berasal dari protein (*non protein*).

nitrogen). Degradasi bahan organik pakan oleh mikroba juga menghasilkan produk sekunder berupa *Volatile Fatty Acid* (VFA) dan berbagai macam gas seperti karbon dioksida (CO₂), hidrogen (H₂), metana (CH₄) dan gas lainnya sebagaimana diungkapkan oleh Kurniawati (2009).

Semakin tinggi kandungan bahan organik yang mampu didegradasi oleh mikroba, maka jumlah gas yang dihasilkan akan semakin meningkat. Pengukuran produksi gas dilakukan dengan menggunakan teknik *in-vitro* dalam *syringe* berskala. Pemilihan teknik ini didasarkan pada tingkat efisiensi dan efektifitas kerja dengan hasil yang cukup mendekati dengan hasil penelitian jika dilakukan secara *in-vivo* (Menke *et al.*, 1979).

Pengaruh perlakuan terhadap populasi protozoa rumen

Hasil analisis peragam menunjukkan bahwa penggunaan metanol sebagai pelarut memberikan pengaruh yang berbeda (P<0,05) dalam menurunkan populasi protozoa rumen. Jumlah populasi protozoa rumen pada perlakuan penambahan ekstrak buah mengkudu dengan pelarut methanol dan akuades dapat diamati pada tabel 2. Berdasarkan analisis peragam, diperoleh hasil bahwa penggunaan metanol sebagai bahan pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu memberikan pengaruh yang lebih baik dibandingkan dengan akuades.

Tabel 2. Populasi protozoa rumen

Jenis Pelarut	Populasi protozoa rumen (log sel/ ml)
Akuades	7,16±0,16 ^a
Metanol	7,11±0,16 ^b

Keterangan:

a-b *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) antar perlakuan

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rosida (2002), menunjukkan bahwa penggunaan larutan metanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi suatu bahan, memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan hasil ekstraksi akuades.

Buah mengkudu memiliki kandungan metabolit sekunder berupa senyawa aktif saponin yang mampu membunuh dan menurunkan populasi protozoa. Jumlah rata-rata populasi protozoa terendah terdapat pada perlakuan penambahan ekstrak buah mengkudu dengan larutan metanol sebagai pelarut yaitu sebesar 7,11±0,16 log sel/ ml atau senilai dengan 1,28 x 10⁷ sel/ ml cairan rumen. Rata-rata populasi protozoa pada pemberian ekstrak buah mengkudu dengan menggunakan pelarut akuades adalah 7,16±0,16 log sel/ ml atau senilai dengan 1,44 x 10⁷ sel/ ml cairan rumen. Populasi protozoa dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan populasi protozoa rumen yang dilaporkan oleh Hungate (1966) yang berkisar antara 10⁵-10⁶ sel/ ml cairan rumen.

Penurunan populasi protozoa diakibatkan oleh senyawa saponin yang berikatan dengan komponen sterol pada membran sel protozoa yang mampu merusak tegangan permukaan membran serta menyebabkan sel berpori dan akhirnya lisis. Kondisi ini disebabkan

karena senyawa saponin terekstrak lebih baik dalam larutan metanol.

Metanol merupakan suatu senyawa yang memiliki struktur molekul CH₃OH, bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) dan juga bersifat non-polar karena memiliki gugus metil (-CH₃). Walaupun demikian, metanol merupakan senyawa bersifat sangat polar, sebagaimana dinyatakan oleh Lazuardi (2006). Saponin dapat diekstrak secara baik dengan menggunakan pelarut metanol dengan konsentrasi lebih dari 40% (Oleszek, 2000). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Herdian, dkk. (2011).

Pengaruh perlakuan terhadap jumlah protozoa hidup

Berdasarkan hasil analisis peragam menunjukkan bahwa perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah protozoa hidup (P>0,05), namun memberikan pengaruh nyata terhadap persentase viabilitas protozoa (P<0,05). Jumlah protozoa hidup dan persentase viabilitas protozoa antara perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase viabilitas protozoa

Jenis Pelarut	Protozoa hidup (log sel/ ml)	Viabilitas protozoa (%)
<i>Aquadest</i>	6,98±0,19	68,05± 9,87 ^a
Metanol	6,92±0,17	65,75±10,06 ^b

Keterangan:

a-b *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) antar perlakuan

Rata-rata jumlah protozoa hidup terkecil adalah 6,92±0,17 log sel/ ml atau senilai dengan 8,32 x 10⁶ sel/ ml cairan rumen. Jumlah ini merupakan jumlah protozoa hidup pada

penambahan ekstrak buah mengkudu dengan menggunakan pelarut metanol. Rata-rata jumlah protozoa hidup pada penambahan ekstrak buah mengkudu dengan menggunakan akuades sebagai pelarut adalah $6,98 \pm 0,19 \log \text{ sel/ ml}$ atau sekitar $9,55 \times 10^6 \text{ sel/ ml}$ cairan rumen.

Data jumlah protozoa yang hidup tidak dijadikan sebagai acuan dalam menentukan tinggi rendahnya kemampuan pelarut untuk melarutkan senyawa saponin dalam buah mengkudu, tetapi hanya memberikan gambaran jumlah protozoa hidup dalam satuan waktu tertentu. Parameter utama yang memberikan gambaran kemampuan metanol dan akuades dalam proses ekstraksi adalah parameter persentase viabilitas protozoa.

Pengaruh perlakuan terhadap persentase viabilitas protozoa

Viabilitas atau daya hidup protozoa diartikan sebagai jumlah protozoa yang mampu bertahan hidup setelah ditambahkan perlakuan. Protozoa yang hidup dan yang mati dapat dibedakan melalui prosedur pewarnaan. Protozoa hidup masih memiliki membran sel yang berfungsi dengan baik dan tidak menyerap warna, sedangkan protozoa mati cenderung menyerap warna diakibatkan rusaknya membran sel akibat pengaruh senyawa saponin yang berikatan dengan senyawa sterol disebagian sisi permukaannya. Nilai persentase viabilitas protozoa rumen terhadap jenis pelarut yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3.

Rata-rata persentase viabilitas protozoa rumen yang terkecil adalah $65,75 \pm 10,06\%$ dengan metanol sebagai pelarut, sedangkan rata-rata persentase viabilitas protozoa rumen dengan pemberian ekstrak buah mengkudu menggunakan pelarut akuades adalah $68,05 \pm 9,87\%$. Daya tahan protozoa

terhadap ekstrak metanol buah mengkudu lebih rendah, artinya kandungan saponin terlarut dalam ekstrak metanol buah mengkudu lebih tinggi dibandingkan saponin dalam ekstrak akuades buah mengkudu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut metanol merupakan pelarut terbaik yang bisa digunakan dalam proses ekstraksi. Metanol dikenal sebagai pelarut universal. Astarina, dkk. (2013), menyatakan bahwa gugus hidroksil dan metil pada metanol memberikan kecenderungan menarik analit-analit yang bersifat polar maupun nonpolar. Oleszek (2000), mengungkapkan bahwa saponin merupakan senyawa glikosida yang tersusun atas dua jenis molekul sebagai kerangka utama yaitu kerangka steroid atau triterpenoid yang bersifat nonpolar serta memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan gula sederhana yang bersifat polar, sehingga saponin mampu terlarut lebih baik didalam pelarut metanol.

Saponin yang terlarut akan berikatan dengan sterol yang terdapat pada membran sel protozoa dan menyebabkan kematian sel. Semakin tinggi jumlah senyawa saponin terlarut dalam ekstrak, maka semakin rendah jumlah protozoa yang mampu bertahan hidup yang ditandai dengan nilai persentase viabilitas protozoa rumen yang semakin rendah.

Pengaruh perlakuan terhadap produksi gas total secara *in-vitro*

Hasil perhitungan produksi gas total secara *in-vitro* yang diberi ekstrak buah mengkudu dengan jenis pelarut yang berbeda, tersaji pada Tabel 4. Rata-rata produksi gas pada pemberian ekstrak buah mengkudu menggunakan metanol dan akuades sebagai pelarut secara berturut-turut yaitu $163,84 \pm 9,11$ dan $167,33 \pm 9,74 \text{ ml/ 500 mg BK pakan}$.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang dicobakan terhadap produksi gas berbeda nyata antar perlakuan ($P < 0,05$).

Tabel 4. *In-vitro* Produksi gas total

Jenis pelarut	Rata-rata produksi gas total (ml/ 500 mg BK)
Akuades	167,33±9,74 ^a
Metanol	163,84±9,11 ^b

Keterangan:

a-b *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan

Produksi gas erat kaitannya dengan nilai degradasi bahan organik pakan oleh mikroba dalam cairan rumen. Semakin tinggi populasi mikroba dalam cairan rumen, maka semakin tinggi pula bahan organik pakan yang mampu didegradasi dan gas yang dihasilkan akan semakin meningkat. Tinggi dan rendahnya populasi mikroba rumen dalam hal ini adalah bakteri, salah satunya dipengaruhi oleh jumlah protozoa hidup didalam rumen. Protozoa akan memakan bakteri atau protozoa lain yang berukuran lebih kecil untuk mencukupi kebutuhan asam amino dan senyawa lain pembentuk sel. Semakin tinggi jumlah sel protozoa dalam cairan rumen, maka populasi bakteri rumen semakin rendah. Semakin rendah populasi bakteri dalam cairan rumen maka aktivitas degradasi yang ditandai dengan produksi gas akan semakin rendah.

Perbedaan komponen kimia gas yang dihasilkan oleh mikroba sangat tergantung dari jenis pakan dan jenis mikroba yang mendegradasinya. Fraksi gas yang paling banyak dihasilkan oleh mikroba rumen adalah gas CO₂. Arora (1995), menerangkan bahwa gas yang

dihasilkan dalam cairan rumen selama proses fermentasi terdiri dari CO₂ 63-65%, CH₄ 27-29%, N₂ sebanyak 6,7%, H₂S + H₂ sebanyak 2,3% dan gas O₂ sebanyak 1%. Gas CH₄ terbentuk oleh bakteri metanogen yang bersimbiosis dengan protozoa. Semakin tinggi jumlah protozoa yang hidup dalam cairan rumen, maka semakin tinggi pula gas CH₄ yang dihasilkan.

Jumlah saponin terlarut yang lebih tinggi dalam ekstrak metanol buah mengkudu, mengakibatkan jumlah protozoa semakin menurun yang berakibat pada menurunnya produksi gas CH₄ sebagai akibat berkurangnya simbiosis antara protozoa dan bakteri metanogen untuk menghasilkan CH₄. Wahyuni, dkk. (2014), menyatakan bahwa protozoa merupakan inang bagi sebagian bakteri metanogen yang memanfaatkan gas H₂ sebagai substrat untuk pembentukan CH₄ dengan bantuan CO₂. Berkurangnya kadar CH₄ berdampak positif bagi ternak, hal ini dikarenakan CH₄ merupakan ukuran tidak efisiennya penggunaan energi oleh ternak.

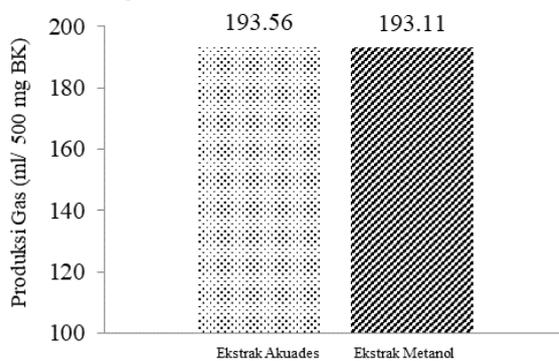
Penurunan jumlah protozoa berkorelasi positif terhadap penurunan kadar gas CH₄ yang dihasilkan oleh mikroba. Sebagaimana dinyatakan oleh Thalib, dkk. (2004), bahwa adanya hubungan yang sebanding antara populasi protozoa dalam cairan rumen dengan produksi gas metana. Artinya, jika populasi protozoa semakin rendah maka produksi gas metana juga semakin rendah.

Pengaruh perlakuan terhadap potensi produksi gas (b) dan laju produksi gas (c)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan metanol sebagai bahan pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu tidak memberikan pengaruh yang berbeda

($P > 0,05$) terhadap nilai potensi produksi gas (nilai b) dibandingkan dengan pemberian ekstrak *aquadest* buah mengkudu. Gambar 1 menunjukkan bahwa rata-rata nilai b pada pemberian ekstrak metanol buah mengkudu yaitu $193,11 \pm 7,05$ ml/ 500 mg BK pakan, sedangkan rata-rata nilai b pada pemberian ekstrak akuades buah mengkudu sebesar $193,56 \pm 13,73$ ml/ 500 mg BK pakan.

Nilai rata-rata potensi produksi gas (b) merupakan parameter potensi bahan organik yang tidak larut dalam cairan rumen namun mampu terdegradasi oleh mikroba rumen. Nilai-nilai parameter degradasi terdiri atas nilai a, b dan c yang dihitung melalui persamaan Ørskov *et al.* (1979) yaitu $Y = a + b(1 - e^{-ct})$. Nilai a dalam penelitian ini tidak dibahas karena secara biologi, nilai produksi gas pada saat waktu inkubasi 0 jam ($t=0$) adalah 0.



Gambar 1. Nilai Potensi Produksi Gas (b) Pakan dengan Penambahan Ekstrak Buah Mengkudu Menggunakan Jenis Pelarut yang Berbeda

Nilai b erat kaitannya dengan ketersediaan energi berupa VFA yang dihasilkan selama proses fermentasi pakan. Semakin tinggi nilai b, maka semakin banyak potensi bahan organik yang mampu didegradasi oleh mikroba rumen untuk menghasilkan VFA. Nilai c merupakan nilai laju produksi gas yang menggambarkan dinamika peningkatan produksi gas yang terjadi

pada waktu inkubasi 0-48 jam. Produksi gas yang dihasilkan menunjukkan tinggi rendahnya aktivitas mikroba di dalam cairan rumen untuk mendegradasi pakan.

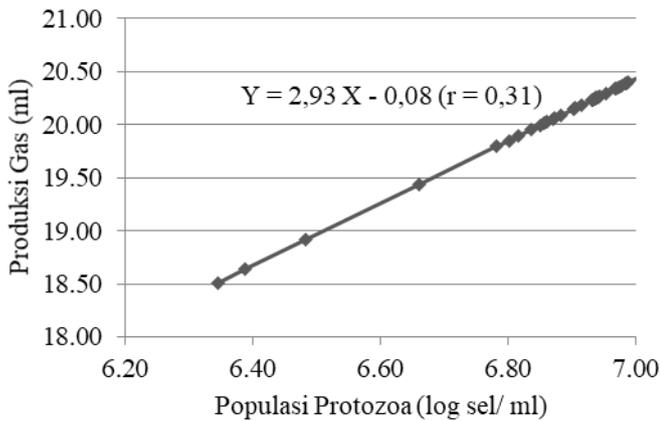
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$) antara perlakuan pemberian ekstrak buah mengkudu dengan menggunakan akuades maupun dengan menggunakan metanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi terhadap laju produksi gas (c). Rata-rata nilai laju produksi gas (c) pada penambahan ekstrak akuades dan metanol buah mengkudu berturut-turut adalah $0,049 \pm 0,005$ ml/ jam, dan $0,048 \pm 0,004$ ml/ jam.

Model persamaan regresi antara jumlah protozoa hidup dan produksi gas *in-vitro*

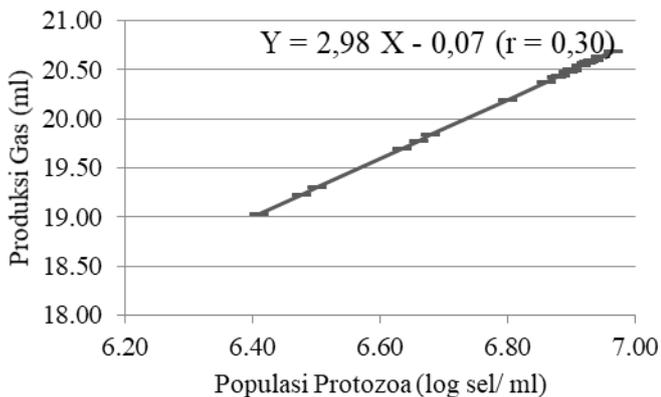
Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa tingkat keeratan (r) antara jumlah protozoa hidup dan produksi gas sebesar 0,30 pada perlakuan penggunaan akuades sebagai pelarut. Pola hubungan antar keduanya berbentuk linier positif dengan persamaan $Y = 2,98X - 0,07$, sedangkan pada perlakuan akuades sebagai pelarut memiliki nilai r sebesar 0,31 dengan persamaan $Y = 2,93X - 0,08$, dengan Y merupakan produksi gas (ml/ 500 mg BK pakan) dan X merupakan jumlah sel protozoa yang hidup (log/ ml cairan rumen).

Berdasarkan hasil analisis regresi menunjukkan bahwa persamaan linier $Y = 2,98X - 0,07$ dan $Y = 2,93X - 0,08$ antara faktor jumlah protozoa hidup dan produksi gas adalah nyata ($P < 0,05$). Pola hubungan antara jumlah protozoa hidup dengan produksi gas yang dihasilkan menunjukkan adanya korelasi positif yang ditandai dengan nilai X pada persamaan bernilai positif.

Pola hubungan tersebut tertera pada gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 2. Nilai Koefisien Korelasi (r), Persamaan Linier serta Korelasi antara Produksi Gas (Y) dan Jumlah Protozoa Hidup (X) dengan Akuades sebagai Pelarut



Gambar 3. Nilai Koefisien Korelasi (r), Persamaan Linier serta Korelasi antara Produksi Gas (Y) dan Jumlah Protozoa Hidup (X) dengan Metanol sebagai Pelarut

Berdasarkan persamaan tersebut diketahui bahwa terdapat korelasi positif antara jumlah protozoa hidup dengan produksi gas total. Korelasi positif ditandai dengan nilai X pada kedua persamaan bernilai positif. Korelasi positif bermakna jika terjadi peningkatan jumlah sel protozoa hidup dalam cairan rumen, maka akan diikuti dengan kenaikan produksi gas hasil fermentasi. Pernyataan ini sesuai

dengan hasil penelitian Sclegel (1994) dan Jouany (1991) dalam Masruroh dkk. (2013) bahwa populasi protozoa rumen berbanding lurus dengan produksi gas yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Penggunaan metanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu memberikan respon terbaik untuk menurunkan presentase viabilitas protozoa rumen dan produksi gas total secara *in-vitro*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan pengukuran produksi gas metana pada masing-masing perlakuan sebagai salah satu variabel dan komposisi masing-masing gas hasil fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arora, S.P. 1995. Pencernaan mikroba pada ruminansia. cetakan kedua. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Astarina, N.W.G., Astuti, K.W., dan Warditiani, N.K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle. Jurnal Farmasi Udayana 2 (4): 1-6. ISSN: 2301-7716
- Dinata, D.D., Widiyanto, dan Pujaningsih, R.I. 2015. Pengaruh suplementasi dan proteksi minyak biji kapuk terhadap fermentabilitas ruminal rumput gajah pada sapi secara *in-vitro*. Agripet 15 (1): 46-51
- Herdian, H., Istiqomah, L., Febrisiantosa, A., dan Setiabudi, D. 2011. Pengaruh penambahan daun *Morinda citrifolia* sebagai sumber saponin terhadap karakteristik fermentasi, defaunasi protozoa, produksi gas dan metana cairan rumen secara *in-*

- vitro*. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner (16): 98-103
- Kurniawati, A. 2007. Teknik produksi gas *in-vitro* untuk evaluasi pakan ternak: volume produksi gas dan pencernaan bahan pakan. Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. ISSN: 1907-0322
- Lamid, M., Nugroho, T.P., Chusniati, S., dan Rochiman, K. 2011. Eksplorasi bakteri selulolitik asal cairan rumen sapi potong sebagai bahan inokulum limbah pertanian. Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan 4 (1): 37-42
- Makkar, H.P.S, Blummel, M., and Becker, K. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pylory dones on polyethylene glycoles and tanin and their implication in gas production and true digestibility *in-vitro* techniques. Journal of Nutrition Britania 73:893-913
- Masrurroh, S., Prayitno, C.H., dan Suwarno. 2013. Populasi protozoa dan produksi gas total dari rumen kambing perah yang pakannya disuplementasi ekstrak herbal secara *in-vitro*. Jurnal Ilmiah Peternakan 1 (2): 420-429.
- Menke, K.H., Raab, L., and Salewski, A. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agriculture Science Cambridge (92): 217-222
- NRC. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle: subcommittee on dairy cattle nutrition*. Commitee on Animal Nutrition, National Research Council, National Academy Press, Washington D.C.
- Ogimoto, K., and Imai, S. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Science. Societes Press, Tokyo.
- Oleszek, W.A. 2000. *Saponins*. CRC Press LLC
- Rianto, E., Haryono, E., dan Lestari, C.M.S. 2006. Produktivitas domba ekor tipis jantan yang diberi pollard dengan aras berbeda. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner
- Satwadhar, P.N., Desphande, H.W., Hashmi, S.I., and Syed, K.A. 2011. Nutritional composition and identification of some bioactive components in *morinda citrifolia* juice. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 3(1): 58-59. ISSN: 0975-1491
- Thalib, A., Widyawati, Y., dan Hamid, H. 2004. Uji efektivitas isolat bakteri hasil isolasi mikroba rumen dengan media asetogen sebagai inhibitor metanogenesis. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner 9 (4): 233-238
- Valli, G., and Murugalakshmi, M. 2014. Isolation, preliminary phytochemical and antibacterial activity studies of the constituents present in ethanol extract of manjanathi fruits. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology 3 (3): 9940-9946 ISSN: 2319-8753
- Wahyuni, I.M.D., Muktiani, A., dan Christianto, M. 2004. Penentuan dosis tannin dan saponin untuk defaunasi dan peningkatan fermentabilitas pakan. Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan 3 (3): 133-140