

## Populasi Mikroba Rumen, Fermentabilitas, dan Kecernaan Suplementasi Daun Kelor dalam Ransum Sapi Perah secara *In Vitro*

Microbial Rumen Population, Fermentability, and Digestibility of Moringa Leaf Supplementation in Dairy Cow Ration using In Vitro

R Zahera, J Purwanti, D Evvyernie \*

Corresponding email:  
dwierra\_ernie@apps.ipb.ac.id

Departemen Ilmu Nutrisi dan  
Teknologi Pakan, Fakultas  
Peternakan, Institut Pertanian  
Bogor, Jl. Agatis Kampus IPB  
University, Jawa Barat, Indonesia

Submitted : 9<sup>th</sup> November 2022

Accepted : 27<sup>th</sup> December 2022

### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the microbial rumen population, fermentability, and digestibility of Moringa leaf supplementation in dairy cow ration using in vitro and to determine the optimal level of supplementation. The experiment consist of two steps with the first step was microbiology measurement used a Randomized Block Design with 5 treatments level of Moringa leaf extract (P0= control; P1= 5%, P2 = 10%, P3 =15%, P4 =20%) and the second step was in vitro fermentability and digestibility measurement used Randomized Block Design with 7 treatments level of Moringa leaf in dairy cow ration (R0 = control, R1 = R0 + 2.5% Moringa leaf, R2= R0 +5% Moringa leaf, R3 = R0 + 7.5% Moringa leaf, R4= R0+10% Moringa leaf, R5=R0+12.5% Moringa leaf, R6=R0+15% Moringa leaf) which grouped by rumen fluids. Data analysis used analysis of variance and continued with Duncan's Multiple Range Test. The measured variable were microbial rumen population (bacteria and protozoa), fermentability (N-NH<sub>3</sub>, VFA), microbial protein synthesis, dry matter digestibility (DMD), and organic matter digestibility (DMO). The results showed Moringa leaf extract significantly decreased bacterial population ( $p < 0.05$ ), but there was no effect on the protozoa population. Moringa leaf supplementation did not affect N-NH<sub>3</sub>, DMD, and DMO, but significantly influenced VFA concentration and microbial protein synthesis ( $p < 0.01$ ). The higher Moringa leaf supplementation showed decreasing total VFA concentration, but was still within the normal range for rumen fermentation (102.29-126.69 mM). Moringa leaf supplementation showed a quadratic effect on microbial protein synthesis with an optimal supplementation level of 5%, but decreasing at a level of 7.5% still within in normal range. It can be concluded Moringa leaf can be supplemented up to 7.5% in dairy cow ration.

**Key words:** digestibility, fermentability, in vitro, moringa leaf, dairy cow

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji total populasi mikroba rumen, fermentabilitas dan kecernaan ransum yang disuplementasi daun kelor secara *in vitro*, serta menentukan level optimal suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah. Penelitian ini terdiri dari dua tahap, antara lain pengujian mikrobiologis menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 5 perlakuan taraf ekstrak daun kelor (P0: kontrol, P1: 5%, P2 :10%, P3:15%, P4: 20%) dan pengujian fermentatif dan kecernaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 7 perlakuan (R0 = ransum kontrol, R1 = R0 + 2,5% daun kelor, R2= R0 +5% daun kelor, R3 = R0 + 7,5% daun kelor, R4= R0+10% daun kelor, R5= R0+12,5% daun kelor, R6= R0+ 15% daun kelor) yang dikelompokkan berdasarkan pengambilan cairan rumen. Analisis data menggunakan analysis of variance dan dilakukan uji lanjut jarak berganda Duncan. Peubah yang diamati, antara lain uji mikrobiologis (populasi bakteri dan protozoa), uji fermentatif (N-NH<sub>3</sub>, VFA), sintesis protein mikroba, kecernaan bahan kering (KCBK), dan kecernaan bahan organik (KCBO). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kelor menurunkan populasi bakteri secara nyata ( $p < 0,05$ ) namun tidak mempengaruhi populasi protozoa. Suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah tidak mempengaruhi konsentrasi N-NH<sub>3</sub>, KCBK, dan KCBO, namun mempengaruhi sangat nyata ( $p < 0,01$ ) kandungan VFA dan sintesis protein mikroba yang dihasilkan. Semakin tinggi suplementasi daun kelor dapat menurunkan konsentrasi VFA total (102,29 - 126,69 mM), namun dalam kisaran normal. Suplementasi daun kelor menunjukkan pengaruh secara kuadratik terhadap sintesis protein mikroba dengan taraf suplementasi optimal 5%, namun penurunan pada taraf 7,5% masih dalam kisaran normal. Hal ini menunjukkan daun kelor dapat disuplementasi hingga 7,5% di dalam ransum sapi perah.

**Kata kunci:** daun kelor, fermentabilitas, *in vitro*, kecernaan, sapi perah

## PENDAHULUAN

Daun kelor merupakan tanaman yang mengandung nutrisi yang lengkap dan senyawa polifenol yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu bahan pakan ataupun *feed additive* untuk ternak ruminansia. Kandungan nutrisi daun kelor (% bahan kering), antara lain protein 23% -30,3%, lemak kasar 7,09%, serat kasar 5,9%, mineral 7,6% -12%, serta mengandung asam amino esensial yang lengkap (Su & Chen 2020). Tingginya kandungan protein daun kelor memiliki potensi digunakan untuk alternatif sumber protein pada sapi perah (Cohen-Zinder et al. 2017; Kekana et al. 2019). Ekstrak daun kelor juga mengandung komponen bioaktif seperti flavonoid, alkaloids, saponin, steroids, tannis, carotenoids (Nweze & Nwafor 2014). Daun kelor juga mengandung asam phitat dan asam oksalate yang dapat mempengaruhi penyerapan mineral dalam tubuh (Su & Chen 2020).

Tingginya kandungan senyawa polifenol daun kelor menunjukkan potensi sebagai *feed additive* untuk sapi perah, terutama sebagai imunomodulator dalam mencegah mastitis subklinis. Mastitis subklinis merupakan peradangan pada kelenjar ambing yang tidak menunjukkan gejala klinis, namun dapat menurunkan produksi dan kualitas susu sapi perah (Galfi et al. 2017). Peradangan yang terjadi disebabkan karena adanya infeksi bakteri, seperti *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (Lopes et al. 2020). Peradangan pada kelenjar ambing ini juga dapat disebabkan oleh stres oksidatif yang dialami pada masa transisi (Khan et al. 2022). Hal ini menunjukkan perlunya pemberian pakan yang dapat meningkatkan imunitas dan mencegah resiko mastitis subklinis pada sapi perah.

Senyawa polifenol dalam daun kelor dapat bersifat antibakterial. Flavonoid yang diekstrak dari beberapa jenis propolis menunjukkan dapat menurunkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan mastitis (Fiordalisi et al. 2016). Beberapa ekstrak tanaman yang menghasilkan flavonoid, alkaloids, dan saponin juga menunjukkan aktivitas antibakteri yang dapat menurunkan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Lopes et al. 2020). Adanya aktivitas antibakteri tersebut menunjukkan taraf penggunaan daun kelor di dalam ransum sapi perah perlu diperhatikan. Hal ini karena dapat mempengaruhi aktivitas mikroba dalam proses fermentasi di dalam rumen. Mikroba rumen yang terdiri dari bakteri, protozoa, dan fungi memiliki perannya masing-masing dalam proses fermentasi nutrisi di dalam rumen, sehingga jika terjadi perubahan populasi dapat menyebabkan terganggunya fungsi rumen dan mempengaruhi pencernaan nutrisi (Qin et al. 2012; McDonald et al. 2010). Pengujian keamanan suplemen daun kelor dalam rumen dapat dilakukan dengan menguji ekstrak daun kelor terhadap mikroba rumen, kemudian mengevaluasi pemberian daun kelor terhadap fermentabilitas dan pencernaan ransum, serta sintesis

protein mikroba yang dihasilkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah terhadap total populasi mikroba, fermentabilitas, dan pencernaan secara *in vitro* sehingga dapat menentukan taraf optimal yang dapat diberikan dalam ransum sapi perah.

## METODE

### Penyiapan Bahan

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun kelor untuk pengujian mikrobiologis dan tepung daun kelor yang disuplementasikan dalam ransum sapi perah dengan rasio hijauan: konsentrat 60:40 untuk pengujian fermentatif dan pencernaan secara *in vitro*. Kandungan nutrisi bahan pakan dan ransum kontrol masing-masing dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Cairan rumen yang digunakan berasal dari Sapi Frisien Holstein jantan berfistula.

### Pengujian Mikrobiologis Ekstrak Daun Kelor Ekstraksi daun kelor dengan metode infusa (Depkes 2000)

Tepung daun kelor ditimbang, kemudian diekstraksi dengan cara dimasukkan ke dalam panci infus dan ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:10 (b/v), lalu diaduk dan dipanaskan di *waterbath* pada suhu 90°C selama 15 menit. Selanjutnya ekstrak tepung daun kelor disaring dengan kain untuk mendapatkan filtrat.

### Pengukuran populasi bakteri dan protozoa rumen total

Perhitungan populasi bakteri dan protozoa total menggunakan metode Ogimoto & Imai (1981). Pengujian mikrobiologis ini menggunakan bahan tunggal ekstrak daun kelor yang ditambahkan dalam 8 ml cairan rumen yang sebelumnya telah dibiakkan dalam tabung hungate dan 32 ml larutan McDougall. Inkubasi dilakukan pada suhu 39°C dengan kondisi anaerob selama 4 jam. Supernatan dari campuran tersebut diambil 0,05 ml, kemudian dimasukkan ke 4,95 ml media pengencer dan diambil kembali 0,5 ml untuk dimasukkan ke dalam 4,50 ml media pengencer berikutnya.

**Tabel 1** Kandungan nutrisi bahan pakan (%BK)

Kandungan nutrisi	Rumput Gajah	Konsentrat
Bahan Kering	32,08	77,03
Abu	18,51	14,73
Protein Kasar	11,31	14,81
Serat Kasar	31,00	22,21
Lemak Kasar	1,27	3,43
BETN	37,91	44,82
TDN	55,01	65,46

BETN = Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen, TDN = Total Digestible Nutrient

**Tabel 2** Formulasi dan kandungan nutrisi ransum kontrol

Bahan Pakan	Persentase (%BK)
Rumput Gajah	60
Konsentrat	40
Total	100
Kandungan nutrisi (%BK)	
Abu	17,00
Protein Kasar	12,71
Serat Kasar	27,48
Lemak Kasar	2,13
BETN	40,67
TDN	59,19

BK = Bahan Kering; TDN = Total Digestible Nutrient; BETN = Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen

Pengenceran ini dilakukan hingga 3 kali dengan pengenceran 103, 104, dan 105. Sebanyak 0,1 ml campuran dari tabung pengenceran diambil dan dipindahkan ke media agar BHI, kemudian diputar sambil dialiri air agar media, sehingga memadat secara merata pada dinding tabung bagian dalam. Perhitungan jumlah populasi bakteri menggunakan rumus berikut:

$$\text{Populasi bakteri total (cfu ml}^{-1}\text{)} = \frac{n}{0,05 \times 10^x \times 0,1}$$

Keterangan:

n = jumlah koloni bakteri pada tabung seri pengenceran ke-x

10x = pengencer ke-x

Populasi protozoa dilakukan pada masing-masing cairan rumen perlakuan yang dicampur dengan larutan Trypan Blue Formalin Salin (TBFS) dengan perbandingan 1:1. *Counting chamber* dengan ketebalan 0,1 mm ditetesi sebanyak 2 tetes campuran tersebut. Luas kotak terkecil 0,0625 mm yang berjumlah 16 kotak dengan area kotak yang dibaca sebanyak 5 kotak. Populasi protozoa dihitung dengan *counting chamber* dan mikroskop pada pembesaran 100 kali.

$$\text{Populasi Protozoa} = \frac{1}{0,1 \times 0,0625 \times 16 \times 5} \times 1000 \times \text{FP} \times \text{C}$$

Keterangan:

C = populasi protozoa dalam *counting chamber*

FP = faktor Pengencer

#### Pengujian fermentatif dan pencernaan secara *in vitro*

Percobaan *in vitro* ini dilakukan dengan menggunakan metode Tilley & Terry (1963). Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung fermentor, ditambahkan 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen. Tabung fermentor dialiri gas CO<sub>2</sub> selama 30 detik, kemudian ditutup dengan karet berventilasi. Tabung fermentor diinkubasi dalam *shaker water bath* dengan suhu 39°C selama 4 jam, kemudian HgCl<sub>2</sub> jenuh diteteskan ke dalam cairan rumen untuk menghentikan proses fermentasi. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan padatan dan supernatan. Supernatan yang

didapat digunakan untuk analisis konsentrasi N-NH<sub>3</sub> dan VFA. Pengukuran konsentrasi N-NH<sub>3</sub> dilakukan dengan metode Mikrodifusi (Conway 1957) dan pengukuran konsentrasi VFA menggunakan metode Steam Destillation (General Laboratory Procedures, 1966).

Inkubasi untuk pengukuran pencernaan dilakukan selama 48 jam pada tahap pertama yang menunjukkan kondisi pencernaan di dalam rumen. Proses fermentasi juga diakhiri dengan cara yang sama seperti sampel untuk pengukuran fermentabilitas. Untuk pencernaan tahap dua (pasca rumen), padatan dari hasil inkubasi dipisahkan dari supernatannya, kemudian ditambahkan 50 ml larutan pepsin HCl 0,2%. Inkubasi dilanjutkan selama 48 jam yang kedua secara aerob. Setelah 48 jam dilakukan penyaringan dengan kertas Whatman No. 41 menggunakan pompa vakum. Untuk mengetahui residu bahan kering, hasil saringan dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 24 jam, kemudian diabukan dalam tanur 600°C selama 6 jam untuk menghitung kadar bahan organiknya. Kecernaan bahan kering dan kecernaan bahan organik dapat dihitung dengan rumus:

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

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

Keterangan:

BK = Bahan Kering

BO = Bahan Organik

#### Pengukuran sintesis protein mikroba

Sintesis protein mikroba menggunakan tiga reagen yang terdiri dari reagen kompleks, larutan NaOH 2 N, dan reagen folin. Sampel yang telah diinkubasi dan dilarutkan dengan reagen tersebut, kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm (Lowry et al. 1951).

#### Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian tahap pertama untuk pengujian mikrobiologis pada penambahan ekstrak daun kelor menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 5 perlakuan taraf ekstrak daun kelor (P0 = kontrol, P1 = 5%, P2 = 10%, P3 = 15%, P4 = 20%). Penelitian tahap kedua untuk pengujian fermentatif dan pencernaan secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 7 perlakuan, antara lain: R0 = Ransum kontrol, R1 = R0 + 2,5% daun kelor, R2 = R0 + 5% daun kelor, R3 = R0 + 7,5% daun kelor, R4 = R0 + 10% daun kelor, R5 = R0 + 12,5% daun kelor dan R6 = R0 + 15% daun kelor

Pengujian untuk sintesis protein mikroba menggunakan 4 perlakuan yaitu taraf suplementasi penambahan daun kelor 2,5%, 5% dan 7,5% dan perlakuan kontrol. Pengelompokan berdasarkan pengambilan cairan rumen. Analisis data menggunakan *analysis of variance* dan dilakukan uji jarak berganda Duncan untuk pengujian fermentabilitas dan pencernaan, serta polynomial orthogonal untuk pengujian sintesis

**Tabel 3** Pengaruh ekstrak daun kelor terhadap total populasi mikroba rumen

Populasi Mikroba	Taraf Ekstrak Daun Kelor					P-value
	0%	5%	10%	15%	20%	
Bakteri Total (log CFU ml <sup>-1</sup> )	9,89±0,08	9,84±0,06	9,79±0,07	9,72±0,06	9,69±0,02	0,02
Protozoa Total (log sel ml <sup>-1</sup> )	6,40±0,12	6,35±0,09	6,15±0,15	6,13±0,3	6,08±0,33	0,39

protein mikroba. Peubah yang diamati, antara lain uji mikrobiologis (populasi bakteri dan protozoa), uji fermentatif (N-NH<sub>3</sub>, VFA), sintesis protein mikroba, pencernaan bahan kering, pencernaan bahan organik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Populasi Bakteri dan Protozoa Rumen

Ekstrak daun kelor menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap populasi bakteri total ( $p < 0,05$ ) dan menunjukkan penurunan populasi bakteri secara linear dengan persamaan  $Y = 9,8947 - 0,0104x$  dengan  $R^2 = 0,985$  (Tabel 3). Penurunan populasi bakteri total dapat disebabkan oleh kandungan tanin dan flavonoid dalam ekstrak daun kelor. Daun kelor mengandung 9,19% - 9,36% tanin dan 3,56%-3,83% flavonoid (Nweze & Nwafor 2014). Tanin dan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menekan sejumlah faktor virulensi mikroba, seperti menghambat pembentukan biofilm, mengurangi adhesi ligan inang, dan netralisasi racun bakteri (Daglia 2012). Sifat antibakteri dari tanin juga dapat melalui proses inaktivasi enzim dan fungsi materi genetik, serta mengganggu permeabilitas sel bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Ibrahim & Kuncoro 2012). Penambahan ekstrak daun kelor hingga 20% menyebabkan penurunan populasi bakteri dari 9,89 menjadi 9,69 log CFU ml<sup>-1</sup>, namun jumlah populasi ini masih dalam kisaran normal. Berdasarkan McDonald *et al.* (2010), populasi bakteri total untuk aktivitas fermentasi dalam rumen adalah 9 - 10 log CFU ml<sup>-1</sup>. Hal ini menunjukkan dampak penurunan ini masih bisa ditoleransi dan tidak berpotensi untuk mengganggu fungsi dan kesehatan rumen.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kelor tidak mempengaruhi populasi protozoa total. Rataan populasi protozoa total pada penelitian ini berkisar 6,08-6,40 log sel ml<sup>-1</sup>, yang masih dalam kisaran normal berdasarkan McDonald *et al.* (2010) dan beberapa penelitian yang menguji aktivitas fermentasi dari ransum

sapi perah (Despal *et al.* 2022; Rosmalia *et al.* 2022). Ekstrak daun kelor mengandung saponin dengan kisaran 1,46% - 1,72% (Nweze & Nwafor 2014). Saponin merupakan senyawa steroid atau triterpen glikosida yang berpotensi menurunkan populasi protozoa rumen dengan adanya interaksi kolesterol-saponin membran sel yang menyebabkan sel protozoa menjadi lisis (Wina *et al.* 2005). Pada penelitian ini tidak terjadi penurunan total populasi protozoa karena saponin yang terkandung dalam ekstrak daun kelor relatif rendah sehingga tidak berpotensi menjadi agen defaunasi protozoa. Protozoa dapat menstabilkan proses fermentasi pada pemberian konsentrat tinggi karena mampu mengkonsumsi asam laktat lebih cepat dari bakteri sehingga pH rumen meningkat dan mencegah asidosis (Newbold & Ramos-Morales 2020). Protozoa juga dapat mempengaruhi volume rumen dan waktu retensi digesta, konsentrasi VFA, produksi metan, serta populasi bakteri rumen (Qin *et al.* 2012).

### Fermentabilitas dan Kecernaan secara *In vitro*

Fermentabilitas suplementasi daun kelor pada ransum sapi perah dapat dilihat pada Tabel 4. Suplementasi daun kelor memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ), terhadap konsentrasi VFA total namun tidak memberikan pengaruh terhadap konsentrasi N-NH<sub>3</sub>. Suplementasi daun kelor menunjukkan penurunan konsentrasi VFA total. Hal ini dapat dipengaruhi oleh penurunan populasi bakteri total dengan penambahan ekstrak daun kelor. Produksi VFA di dalam cairan rumen merupakan produk fermentasi karbohidrat oleh bakteri rumen sebagai sumber energi untuk ternak ruminansia (Riestanti *et al.* 2020). Walaupun hasil penelitian menunjukkan penurunan konsentrasi VFA total pada penelitian ini berkisar 102,29 - 126,69 mM yang masih dalam kisaran normal. Rentang nilai ini juga sama dengan penelitian yang menggunakan ransum sapi perah dengan konsentrasi VFA 101,71-131,50 mM (Zahera *et al.* 2020). Konsentrasi VFA total yang menunjukkan aktivitas fermentasi yang baik berkisar 70-150 mM (McDonald *et al.* 2010). Hal ini menunjukkan penurunan konsentrasi VFA yang terjadi masih dapat ditoleransi

**Tabel 4** Pengaruh suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah terhadap fermentabilitas, kecernaan, dan sintesis protein mikroba

Parameter	Perlakuan						P-Value	
	R0	R1	R2	R3	R4	R5		R6
N-NH <sub>3</sub> (mM)	11,40±0,50	11,18±0,42	11,13±0,15	11,03±0,31	11,06±1,02	10,66±0,81	11,45±1,09	0,948
VFA (mM)	126,69±0,37 <sup>a</sup>	117,59±0,05 <sup>b</sup>	117,05±0,09 <sup>c</sup>	116,05±0,22 <sup>d</sup>	115,20±0,10 <sup>e</sup>	102,96±0,09 <sup>f</sup>	102,29±0,15 <sup>g</sup>	0,000
KCBK (%)	56,82±1,51	55,61±2,37	55,51±4,05	54,75±1,87	54,52±3,46	53,67±3,67	53,52±3,17	0,792
KCBO (%)	58,49±1,08	56,8±3,55	56,53±3,02	55,56±1,46	55,39±2,19	55,07±3,03	54,67±2,73	0,642

VFA = volatile fatty acid; KCBK=kecernaan bahan kering; KCBO=kecernaan bahan organik; SPM=sintesis protein mikroba; R0= ransum kontrol; R1= R0+2,5% daun kelor; R2=R0+5,0% daun kelor; R3= R0+7,5% daun kelor, R4= R0+10% daun kelor, R5= R0 +12,5% daun kelor, R6= R0+15% daun kelor. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ( $p < 0,01$ )

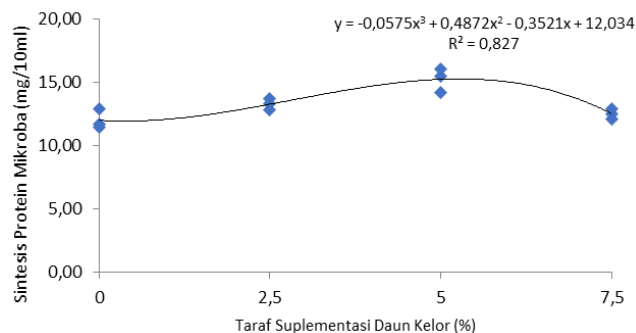
untuk stabilitas aktivitas fermentasi rumen.

Penambahan daun kelor tidak mengganggu aktivitas fermentasi ditunjukkan dengan tidak adanya pengaruh terhadap konsentrasi N-NH<sub>3</sub> yang dihasilkan. Konsentrasi ammonia (N-NH<sub>3</sub>) pada penelitian ini berkisar 10,66-11,40 mM yang juga masih dalam kisaran normal. Konsentrasi N-NH<sub>3</sub> yang optimal untuk aktivitas mikroba rumen dalam rentang 6-21 mM (McDonald *et al.* 2010). Konsentrasi ammonia menunjukkan jumlah protein pakan yang mudah didegradasi oleh mikroba rumen (Cherdthong & Wanapat 2013); Rosmalia *et al.* 2021). Konsentrasi ammonia juga dipengaruhi jenis sumber protein dan kandungan protein ransum. Semakin tinggi protein ransum cenderung dapat meningkatkan konsentrasi ammonia di dalam rumen (Zahera *et al.* 2020; Dung *et al.* 2014). Kandungan protein pada ransum perlakuan yang relatif sama juga menyebabkan tidak adanya pengaruh terhadap konsentrasi ammonia yang dihasilkan.

Kecernaan suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah dapat dilihat pada Tabel 4. Suplementasi daun kelor menunjukkan pengaruh yang tidak nyata terhadap pencernaan bahan kering (KCBK) dan bahan organik (KCBO). Rentang nilai KCBK dan KCBO pada penelitian ini berturut-turut adalah 53,52% - 56,82% dan 54,67% - 58,49%. Nilai pencernaan bahan kering dan bahan organik ransum sapi perah berkisar 50% - 60% (Sutardi 1979). Kecernaan nutrisi dipengaruhi oleh kandungan nutrisi ransum yang diberikan. Kecernaan bahan kering dan bahan organik pada penelitian ini menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari penelitian Riestanti *et al.* (2020) dengan nilai KCBK dan KCBO berturut-turut adalah 42,56% - 50,21% dan 41,01% - 49,19%. Hal ini disebabkan oleh kandungan protein ransum pada penelitian ini lebih tinggi. Kandungan protein ransum yang tinggi dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi yang dapat didegradasi dan dicerna, sehingga pencernaan bahan kering dan bahan organik meningkat (Zahera *et al.* 2020), tingginya suplai asam amino dan memperbaiki pertumbuhan mikroba rumen (Sucak *et al.* 2017).

### Sintesis Protein Mikroba (SPM)

Suplementasi daun kelor memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap sintesis protein mikroba dan menunjukkan kurva kuadrat dengan taraf pemberian optimal 5% (Gambar 1). Rataan sintesis protein mikroba pada penelitian ini berkisar 12,03 - 15,07 mg 10ml<sup>-1</sup>. Rataan SPM pada penelitian ini lebih tinggi dari penelitian Rosmalia *et al.* (2022) dan Putri *et al.* (2021). Hal ini dapat disebabkan oleh konsentrasi ammonia pada penelitian ini yang lebih tinggi, sehingga meningkatkan ketersediaan nitrogen dari degradasi protein untuk sintesis protein mikroba. Sintesis protein mikroba juga dipengaruhi oleh konsentrasi total VFA yang berperan sebagai sumber energi dan kerangka karbon, sehingga penyusunan ransum sapi perah perlu memperhatikan sinkronisasi *rumen degradable protein* (RDP) dan *non-fiber carbohydrate* (NFC) (NRC, 2001 ; Rosmalia *et al.* 2022; Zadeh *et al.* 2013). Berdasarkan persamaan



**Gambar 1** Pengaruh suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah terhadap sintesis protein mikroba

hubungan suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah terhadap sintesis protein mikroba  $Y = -0,0575x^3 + 0,4872x^2 - 0,3521x + 12,034$  dengan  $R^2 = 0,827$ , prediksi jika diberikan suplementasi dengan taraf 10% menunjukkan nilai sintesis protein mikroba -0,267 mg 10ml<sup>-1</sup>. Hal ini menunjukkan pada taraf lebih dari 5% menyebabkan penurunan sintesis protein mikroba. Pemberian daun kelor lebih dari 5% menunjukkan ketidakcukupan energi untuk sintesis protein mikroba karena terjadinya penurunan konsentrasi VFA total dengan peningkatan suplementasi daun kelor yang diberikan. Penurunan pada taraf 7,5% dengan nilai 12,56 ± 0,41mg 10ml<sup>-1</sup> masih dalam kisaran normal dan lebih tinggi dari beberapa penelitian yang menguji ransum ternak perah (Anjani *et al.* 2019; Putri *et al.* 2021; Rosmalia *et al.* 2022) sehingga tidak mempengaruhi pencernaan bahan kering dan bahan organik.

## SIMPULAN

Suplementasi daun kelor dalam ransum sapi perah dapat diberikan hingga taraf 7,5% tanpa mempengaruhi pencernaan bahan kering dan organik secara *in vitro*, serta menunjukkan populasi mikroba rumen dan fermentabilitas masih dalam kisaran normal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anjani FM, Evvyernie D & Permana IG. 2019. In vitro evaluation of Noni juice extract waste (*Morinda citrifolia* L.) in lactating dairy goat diet. *AIP Conference Proceeding*. doi:10.1063/1.5115727.
- Cherdthong A & Wanapat M. 2013. Manipulation of in vitro ruminal fermentation and digestibility by dried rumen digesta. *Livestock Science*. 153(1-3):94-100. doi:10.1016/j.livsci.2013.02.008.
- Cohen-Zinder M, Weinberg Z, Leibovich H, Chen Y, Rosen M, Sagi G, Orlov A, Agmon R, Yishay M & Sahbtay A. 2017. Ensiled *Moringa oleifera*: an antioxidant-rich feed that improves dairy cattle performance. *Journal of Agriculture Science*. 155(7):1-13.
- Daglia M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. 23(2):174-181 doi:10.1016/j.copbio.2011.08.007.
- Despal D, Irmadani D, Permana IG, Zahera R & Nuraina N. 2022. Effect of different unsaturated fatty acids sources on in vitro fermentability and digestibility of ration in dairy cattle. *Online Journal of Animal Feed Research*. 12(3):154-159 doi:10.51227/OJAFR.2022.20.
- Dung DV, Shang W & Yao W. 2014. Effect of crude protein tarafs in concentrate and concentrate tarafs in diet on in vitro fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 27(6):797-

- 805.doi:10.5713/ajas.2013.13560.
- Fiordalisi SAL, Honorato LA, Loiko MR, Avancini CAM, Veleirinho MBR, Filho LCPM & Kuhnen S. 2016. The effects of Brazilian propolis on etiological agents of mastitis and the viability of bovine mammary gland explants. *Journal of Dairy Science*. 99(3):2308–2318.doi:10.3168/jds.2015-9777.
- Galfi A, Radinovic M, Davidov I, Erdeljan M & Kovacevic Z. 2017. Detection of subclinical mastitis in dairy cows using California and Draminski mastitis test. *Biotechnology Animal Husbandary*. 33(4):465–473.doi:10.2298/bah1704465g.
- Ibrahim A & Kuncoro H. 2012. Identifikasi metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) terhadap beberapa bakteri patogen. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 2(1):8–18 doi:10.25026/jtpc.v2i1.43.
- Kekana TW, Marume U, Muya CM & Nherera-Chokuda F V. 2019. Lactation performance and blood metabolites in lactating dairy cows micro-supplemented with *Moringa oleifera* leaf meal. *South African Journal of Animal Science*. 49(4):709–716 doi:10.4314/sajas.v49i4.12.
- Khan MZ, Ma Y, Xiao J, Chen T, Ma J, Liu S, Wang Y, Khan A, Alugongo GM & Cao Z. 2022. Role of selenium and vitamins E and B9 in the alleviation of bovine mastitis during the periparturient period. *Antioxidants*. 11(4):1–15 doi:10.3390/antiox11040657.
- Lopes TS, Fontoura PS, Oliveira A, Rizzo FA, Silveira S & Streck AF. 2020. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Research in veterinary science*. 131(10):186–193.doi:10.1016/j.rvsc.2020.04.025.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL & Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*. 193(1):265–275 doi:10.1016/s0021-9258(19)52451-6.
- McDonald P, Edwards R, Greenhalgh J, Morgan C, Sinclair L, Wilkinson R. 2010. *Animal Nutrition*. Seventh Ed. England: Preason Education Limited.
- Newbold CJ & Ramos-Morales E. 2020. Review: Ruminant microbiome and microbial metabolome: Effects of diet and ruminant host. *Animal*. 14(S1):S78–S86 doi:10.1017/S1751731119003252.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirement of Dairy Cattle*. 7<sup>th</sup> Editio. Washington, DC (US): National Academy Press.
- Nweze NO & Nwafor FI. 2014. Phytochemical, proximate and mineral composition of leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam. from Nsukka, South-Eastern Nigeria. *OSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 9(1): 99–103.
- Ogimoto K & Imai S. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. Tokyo (JP): Societe Press.
- Putri EM, Zain M, Warly L & Hermon H. 2021. Effects of rumen-degradable-to-undegradable protein ratio in ruminant diet on in vitro digestibility, rumen fermentation, and microbial protein synthesis. *Veterinary World*. 14(3):640–648 doi:10.14202/VETWORLD.2021.640-648.
- Qin WZ, Li CY, Kim JK, Ju JG & Song MK. 2012. Effects of defaunation on fermentation characteristics and methane production by rumen microbes in vitro when incubated with starchy feed sources. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 25(10):1381–1388 doi:10.5713/ajas.2012.12240.Riestanti LU, Retnani Y & Despal D. 2020. Fermentability and digestibility responses of prill fat supplementation in dairy ration. *IOP Conference:Earth and Environmental Science (EES)*. 411(1) doi:10.1088/1755-1315/411/1/012037.
- Rosmalia A, Permana IG & Despal D. 2022. Synchronization of rumen degradable protein with non-fiber carbohydrate on microbial protein synthesis and dairy ration digestibility. *Veterinary World*. 15(2):252–261 doi:10.14202/vetworld.2022.252-261.
- Rosmalia A, Permana IG, Despal & Zahera R. 2021. Estimation rumen degradable protein of local feeds in dairy cattle using in sacco method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (EES)*. Vol. 883. IOP Publishing Ltd.
- Su B & Chen X. 2020. Current status and potential of *Moringa oleifera* leaf as an alternative protein source for animal feeds. *Frontiers in Veterinary Science*. 7(2):1–13.doi:10.3389/fvets.2020.00053.
- Sucak MG, Serbester U & Görgülü M. 2017. Effects of dietary starch and crude protein tarafs on milk production and composition of dairy cows fed high concentrate diet. *Turkish Journal of Agriculture and Food Science Technology*. 5(6):563–567.doi:10.24925/turjaf.v5i6.563-567.718.
- Sutardi T. 1979. Ketahanan protein bahan makanan terhadap degradasi mikroba rumen dan manfaatnya bagi peningkatan produktivitas ternak. *Seminar Penelitian dan Penunjang Peternakan*. Bogor (ID): LPP Deptan. hlm. 91–103.
- Tilley JMA & Terry RA. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Science*. 18(2):104–111.doi:10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x.
- Wina E, Muetzel S & Becker K. 2005. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production - A review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53(21):8093–8105 doi:10.1021/jf048053d.
- Zadeh JB, Moradi Z & Moradi N. 2013. Synchronization of energy and protein on supply synthesis microbial protein. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 1(6):594–600.
- Zahera R, Anggraeni D, Rahman ZA & Evvyernie D. 2020. Pengaruh kandungan protein ransum yang berbeda terhadap pencernaan dan fermentabilitas rumen sapi perah secara in vitro. *Journal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan*. 18(1):1–6 doi:10.29244/jintp.v18i1.31547.