

## Aktivitas Protease dan Dinamika Protein Cairan Rumen pada Penambahan Pakan Aditif Secara *In Vitro*

### *Protease Activities and Dynamics of Rument Liquid Proteins on In Vitro Feed Additives*

Agung Prastyo Nugroho<sup>1\*</sup>, Suhartati<sup>2</sup>, Sri Rahayu<sup>2</sup>, Merryafinola Ifani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.

<sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman,

Jl. Dr. Soeparno No.60, Kec. Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah 53122

\*Email korespondensi: pnagung4@gmail.com

(Diterima 29-05-2021; disetujui 20-11-2021)

#### ABSTRAK

Penelitian bertujuan mengkaji pengaruh penambahan pakan aditif dalam pakan ruminansia sebagai upaya meningkatkan aktivitas protease dan mengkaji pengaruhnya terhadap total protein cairan rumen pada lama inkubasi yang berbeda. Penambahan bahan aditif diharapkan dapat menjaga kondisi lingkungan mikro rumen tetap stabil dan dapat memberikan suasana yang optimal untuk kinerja bakteri rumen. Apabila kondisi lingkungan mikro rumen sesuai dan suasana rumen menjadi anaerob maka populasi bakteri rumen akan meningkat. Peningkatan populasi bakteri rumen akan berdampak pada meningkatnya aktivitas enzim yang dihasilkan. Penelitian bersifat eksperimental menggunakan metode *in vitro*. Perlakuan yang diuji yaitu P0 = Pakan basal (60% konsentrat : 40% hijauan); P1 = P0 + 0,5% isobutirat; P2 = P1 + 0,5% *S. cerevisiae*; P3 = P2 + 1% minyak kedelai. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (*one way classification*), setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali sehingga terdapat 20 unit percobaan. Peubah yang diukur yaitu aktivitas protease menggunakan metode Walter dan kadar protein cairan rumen dalam pengamatan dinamika protein diukur menggunakan metode Bradford. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa penambahan pakan aditif berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap aktivitas protease dalam cairan rumen dan hasil analisis variansi dinamika protein menunjukkan bahwa inkubasi 4 jam pada perlakuan P2 dan P3 menunjukkan perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap kadar protein. Hasil akhir dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan kombinasi isobutirat, *S. Cerevisiae*, dan minyak kedelai pada substrat pakan merupakan perlakuan yang paling efektif dalam meningkatkan aktivitas protease dan mampu meningkatkan kadar protein cairan rumen pada jam ke 4 inkubasi secara *in vitro*.

**Kata Kunci:** pakan aditif, protease, *in vitro*, protein

#### ABSTRACT

The aim of this study was to examine the effect of adding feed additives to ruminant feed as an effort to increase protease activity and to examine its effect on the total protein in rumen fluid at different incubation times. The addition of additives is expected to maintain a stable rumen microenvironment and can provide an optimal atmosphere for the performance of rumen bacteria. If the conditions of the rumen microenvironment are suitable and the rumen atmosphere becomes anaerobic, the population of rumen bacteria will increase. An increase in the population of rumen bacteria will have an impact on increasing the activity of the enzymes produced. This research is experimental using the *in vitro* method.



The treatments tested were P0 = basal feed (60% concentrate: 40% forage); P1 = P0 + 0.5% isobutyrate; P2 = P1 + 0.5% *S. cerevisiae*; P3 = P2 + 1% soybean oil. This study used a completely randomized design (*one way classification*), each treatment was repeated 5 times so that there were 20 experimental units. The variables measured were protease activity using the Walter method and rumen fluid protein levels in the protein dynamics observations measured using the Bradford method. The results of the analysis of variance showed that the addition of feed additives had a very significant effect ( $p < 0.01$ ) on the protease activity in the rumen fluid and the results of the analysis of variance of protein dynamics showed that the 4-hour incubation in P2 and P3 treatments showed a very significant effect ( $p < 0, 01$ ) on protein content. The conclusion of this study is the addition of a combination of isobutyrate, *S. cerevisiae*, and soybean oil to the feed substrate is the most effective treatment in increasing protease activity and is able to increase rumen protein levels at the 4th hour of incubation *in vitro*.

**Keywords:** feed additives, protease, *in vitro*, protein

## PENDAHULUAN

Pakan merupakan faktor terpenting yang perlu diperhatikan dan sangat berhubungan erat dengan produktivitas ternak. Pakan yang berkualitas sangat dibutuhkan oleh ternak untuk menunjang kehidupannya dan juga untuk proses produksi maupun reproduksi. Kualitas bahan pakan dapat ditinjau dari komponen nutrisi yang terkandung di dalam bahan pakan tersebut seperti protein, karbohidrat, serat, dan vitamin. Hijauan dan konsentrat merupakan pakan ternak ruminansia yang sangat umum diberikan. Rendahnya kualitas dan kuantitas bahan pakan di Indonesia menjadi salah satu faktor penghambat dalam peningkatan produktivitas ternak, sehingga perlu dilakukan suatu upaya untuk meningkatkan produktivitas ternak.

Peningkatan produktivitas ternak dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain dengan penambahan aditif pada pakan. Pakan aditif merupakan suatu substansi yang ditambahkan ke dalam ransum dalam jumlah yang relatif sedikit untuk meningkatkan nilai kandungan zat makanan tersebut dan untuk memenuhi kebutuhan khusus pada ternak (Fathul *et al.*, 2013). Penambahan pakan aditif sangat penting untuk pertumbuhan mikroorganisme pencernaan pakan di dalam rumen. Proses pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme dalam rumen dibutuhkan suatu kofaktor. Kofaktor yang dapat digunakan salah satunya adalah isobutirat. Isobutirat merupakan rantai karbon yang berfungsi sebagai kofaktor untuk meningkatkan aktivitas sintesis protein mikroba (Syamsi *et al.*, 2015). Penambahan isobutirat dapat bertindak sebagai acidifier yang dapat menjaga keseimbangan mikroba rumen sehingga penyerapan nutrisi meningkat (Natsir, 2008). Selain itu untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme dalam rumen perlu kondisi pH

rumen yang sesuai. Penstabilan pH rumen dapat dilakukan dengan menambahkan *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Suryapratama dan Suhartati (2012), *S. cerevisiae* dapat menggunakan oksigen untuk proses glikolisis, menghasilkan etanol dan CO<sub>2</sub> sehingga kondisi lingkungan yang dibutuhkan untuk fermentasi dapat tetap anaerob. Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme di dalam rumen selain membutuhkan kofaktor juga membutuhkan energi. Sumber energi yang dapat ditambahkan yaitu minyak kedelai. Minyak kedelai merupakan salah satu minyak nabati yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi mikroba rumen. Menurut Bain *et al.* (2018), penambahan minyak kedelai dalam jumlah yang sesuai akan meningkatkan populasi mikroba rumen. Minyak yang terkandung dalam ransum juga dapat berfungsi sebagai agen defaunasi dalam rumen.

Ketiga bahan aditif tersebut diharapkan dapat menjaga kondisi lingkungan mikro rumen tetap stabil dan dapat memberikan suasana yang optimal untuk kinerja bakteri rumen. Apabila kondisi lingkungan mikro rumen sesuai dan suasana rumen menjadi anaerob maka populasi bakteri rumen akan meningkat. Peningkatan populasi bakteri rumen akan berdampak pada meningkatnya aktivitas enzim yang dihasilkan. Salah satu enzim hidrolitis yang terdapat di dalam cairan rumen yaitu protease. Protease memiliki peran penting dalam mendegradasi protein pakan di dalam rumen. Meningkatnya populasi bakteri juga diharapkan dapat meningkatkan total protein terlarut yang dihasilkan. Perkembangan mikroorganisme pencernaan pakan di dalam rumen agar optimal dapat dilakukan dengan cara meningkatkan aktivitas protease dan meningkatkan jumlah total protein terlarut sehingga pada akhirnya produktivitas ternak dapat meningkat. Penelitian mengenai penambahan pakan aditif

dalam pakan sudah banyak dilakukan, akan tetapi penelitian mengenai kombinasi ketiga bahan pakan aditif tersebut terhadap peningkatan aktivitas protease dan peningkatan jumlah total protein terlarut belum pernah dilakukan. Oleh karena itu perlu adanya penelitian yang mengkaji tentang penambahan pakan aditif terhadap aktivitas protease dan dinamika protein cairan rumen secara *in vitro*.

### MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah cairan rumen 3 ekor sapi potong jantan yang diambil dari Rumah Potong Hewan Bantarwuni Purwokerto, segera setelah sapi dipotong. Materi lainnya adalah ransum basal yang tersusun dari hijauan rumput gajah (40% BK) dan konsentrat (60% BK). Bahan pakan penyusun konsentrat terdiri dari 1 bagian bungkil kelapa dan 2 bagian dedak padi. Pakan aditif yang digunakan yaitu isobutirat, *Saccharomyces cerevisiae* dan minyak kedelai. Alat yang digunakan dalam penelitian seperangkat alat uji *in vitro*, pengukur aktivitas enzim protease dan pengukur kadar protein terlarut.

Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan metode *in vitro* menurut Sutardi (1979). Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (*One Way Clasification*) dengan 4 macam perlakuan, setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali sehingga terdapat 20 unit percobaan. Perlakuan yang diuji yaitu P0 = Pakan basal (60% konsentrat : 40% hijauan); P1 = P0 + 0,5 % isobutirat; P2 = P1 + 0,5 % *S. cerevisiae*; P3 = P2 + 1 % minyak kedelai. Komposisi kimia bahan pakan dan komposisi nutrisi yang digunakan dalam penelitian ini tertera pada Tabel 1.

Peubah yang diukur pada penelitian ini yaitu aktivitas enzim protease menggunakan metode Walter (1984) dan kadar protein cairan rumen dalam pengamatan dinamika protein diukur menggunakan metode Bradford (1976).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Aktivitas Protease

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa penambahan pakan aditif berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap aktivitas protease dalam cairan rumen. Aktivitas protease perlakuan kontrol P0 ( $0.211 \pm 0.004$ ) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang mendapat tambahan pakan aditif (P0 Vs P1-P2-P3). Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan pakan aditif mampu mengoptimalkan lingkungan rumen sehingga bakteri proteolitik dapat tumbuh dan berkembang yang pada akhirnya protease yang dihasilkan akan meningkat.

Aktivitas protease pada substrat pakan yang ditambah isobutirat (P1) lebih tinggi dibandingkan substrat pakan yang ditambah *S. cerevisiae* (P2), dan substrat P2 lebih rendah dibandingkan dengan substrat yang ditambah minyak kedelai (P3) (P1 Vs P2-P3). Peningkatan aktivitas protease pada P1 mengindikasikan bahwa penambahan isobutirat dalam substrat pakan dapat dimanfaatkan sebagai kofaktor. Dali *et al.* (2012) menjelaskan bahwa kofaktor merupakan senyawa bukan protein yang dibutuhkan enzim dalam melaksanakan fungsi katalitiknya. Kofaktor dapat berupa senyawa anorganik, sedangkan yang berupa senyawa organik nonprotein adalah koenzim. Keberadaan isobutirat di dalam rumen akan mendukung aktivitas dan fungsi enzim. Menurut Syamsi *et al.* (2015) isobutirat merupakan rantai karbon yang berfungsi sebagai koenzim untuk meningkatkan aktivitas sintesis protein mikroba.

Aktivitas protease semakin meningkat dengan penambahan minyak kedelai pada substrat pakan (P3) (P2 Vs P3). Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan minyak kedelai pada substrat pakan mampu memberikan suasana lingkungan rumen yang lebih optimal untuk pertumbuhan dan

Tabel 1. Komposisi Nutrien Bahan Pakan

Bahan Pakan	BK (%)	Abu (%)	PK (%)	LK (%)	SK (%)	BETN (%)
Rumput Gajah <sup>a</sup>	95,75	22,71	13,31	5,68	30,89	27,41
Bungkil Kelapa	89,59	5,45	17,05	10,82	20,86	45,83
Dedak Padi	89,66	6,85	12,62	11,25	19,54	49,72
Kandungan Nutrien Konsentrat						
Konsentrat <sup>b</sup>	89,64	6,63	14,09	11,11	19,98	48,43
Komposisi Nutrien Pakan Percobaan						
Pakan Basal <sup>b</sup>	91,69	12,43	12,52	6,87	20,56	47,58

Keterangan: <sup>a</sup>Hasil Analisis, <sup>b</sup>Hasil Perhitungan

perkembangan bakteri proteolitik. Pemberian minyak kedelai sebanyak 1% dalam hal ini belum mengganggu aktivitas bakteri proteolitik. Minyak kedelai akan digunakan oleh bakteri proteolitik sebagai sumber energi dalam proses pertumbuhan dan perkembangannya. Pemberian minyak kedelai selain berfungsi sebagai sumber energi dalam hal ini juga berfungsi sebagai agen defaunasi. Anwar et al. (2016) menjelaskan bahwa defaunasi dapat menyebabkan penurunan populasi protozoa. Yanuartono et al. (2019) menjelaskan bahwa sifat protozoa sebagai predator bagi bakteri dalam rumen merupakan sifat yang dianggap merugikan. Menurunnya populasi protozoa dalam rumen maka populasi bakteri khususnya bakteri proteolitik akan meningkat, sehingga aktivitas protease juga meningkat.

Peningkatan aktivitas protease diduga karena pengaruh zat saponin yang terkandung di dalam minyak kedelai. Adanya senyawa saponin pada minyak kedelai mampu menekan populasi protozoa dalam cairan rumen. Menurut Wahyuni et al. (2014), populasi protozoa berkurang karena terjadi gangguan pertumbuhan protozoa akibat adanya ikatan antara saponin dengan sterol pada dinding sel permukaan protozoa. Ikatan tersebut berpengaruh terhadap tegangan permukaan sel protozoa sehingga terjadi peningkatan permeabilitas dinding sel dan masuknya cairan ke dalam sel protozoa yang pada akhirnya dinding sel protozoa pecah dan mati. Bakteri mampu bertahan terhadap saponin karena dinding membran sel bakteri tersusun oleh peptidoglikan. Sehingga dalam hal ini rendahnya populasi protozoa menyebabkan pemangsa bakteri menurun sehingga berefek meningkatkan populasi bakteri termasuk bakteri proteolitik yang pada akhirnya aktivitas protease yang dihasilkan juga meningkat. Rataan hasil aktivitas protease dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Aktivitas Protease Dalam Cairan Rumen Pada Inkubasi 4 Jam

No	Perlakuan	Aktivitas Spesifik Protease (U/mg)
1	P0	0.211 ± 0.004 <sup>a</sup>
2	P1	0.217 ± 0.007 <sup>a</sup>
3	P2	0.216 ± 0.002 <sup>a</sup>
4	P3	0.226 ± 0.002 <sup>b</sup>

Keterangan: P0 = Pakan basal (60% konsentrat : 40% hijauan); (Kontrol) P1 = P0 + 0,5% isobutirat; P2 = P1 + 0,5% *S. cerevisiae*; P3 = P2 + 1% minyak kedelai.

### Dinamika Protein Cairan Rumen

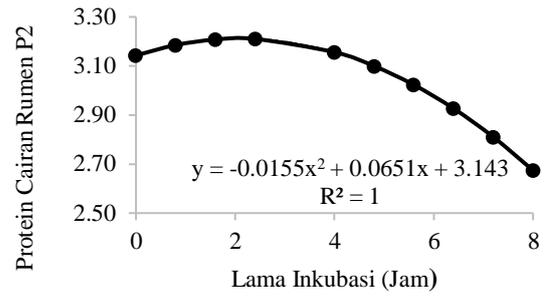
Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa inkubasi 0, 4, dan 8 jam pada perlakuan P0 dan P1 tidak berpengaruh nyata ( $p>0,05$ ) terhadap kadar protein cairan rumen. Sedangkan inkubasi 0 dan 8 jam pada perlakuan P2 dan P3 juga tidak berpengaruh nyata ( $p>0,05$ ) terhadap kadar protein cairan rumen. Akan tetapi berbeda dengan hasil analisis variansi pada inkubasi 4 jam pada perlakuan P2 dan P3 yang menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $p<0,01$ ) terhadap kadar protein cairan rumen (Tabel 3). Berdasarkan pola dinamika protein cairan rumen (Gambar 1) menunjukkan bahwa konsentrasi kadar protein cairan rumen berbeda pada setiap perlakuan. Dinamika protein cairan rumen perlakuan P0 memiliki pola dinamika yang hampir sama dengan P1, sedangkan pola dinamika P2 hampir sama dengan pola dinamika P3.

Pola dinamika protein cairan rumen pada P1 dan P2 cenderung mengalami penurunan. Semakin lama waktu inkubasi hasilnya menunjukkan bahwa kadar protein semakin menurun. Hal tersebut diindikasikan bahwa pada perlakuan P1 dan P2 pertumbuhan dan perkembangan bakteri proteolitik rendah sehingga tingkat degradabilitas pakan rendah yang pada akhirnya kadar protein yang dihasilkan juga rendah. Sedangkan pola dinamika pada perlakuan P2 dan P3 mengalami peningkatan pada jam ke 4 inkubasi dan selanjutnya mengalami penurunan pada jam ke 8 inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan bakteri proteolitik mengalami peningkatan pada jam ke 4 inkubasi sehingga degradasi protein tinggi yang pada akhirnya kadar protein yang dihasilkan juga tinggi. Waldi (2014) menjelaskan bahwa jam ke 4 inkubasi merupakan puncak pencernaan fermentatif dalam rumen, sehingga apabila substrat yang diberikan sesuai dan kondisi lingkungan rumen yang mendukung maka mikroba rumen khususnya bakteri dapat tumbuh dan berkembang yang pada akhirnya kadar protein yang dihasilkan meningkat. Sedangkan pada jam ke 8 inkubasi P2 dan P3 kadar protein cairan rumen menurun, hal ini dikarenakan substrat pakan sudah digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba rumen sehingga semakin lama waktu inkubasi maka kadar protein akan mengalami penurunan. Selain itu juga dimungkinkan terbentuknya senyawa penghambat, dan faktor lingkungan yang mulai tidak menguntungkan sehingga kadar protein cairan rumen mengalami penurunan.

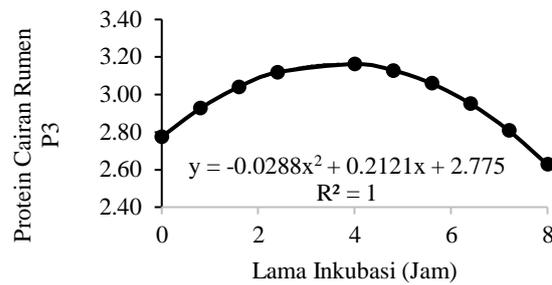
Tabel 3 menginformasikan bahwa kadar protein inkubasi jam ke 0 pada P0 dan P1 lebih

tinggi dibandingkan pada inkubasi 4 dan 8 jam. Hal tersebut diduga terjadi karena kandungan protein dari substrat pakan menyebabkan terjadinya peningkatan kandungan kadar protein cairan rumen. Berbeda dengan P2 dan P3 pada jam ke 0 yang hasilnya lebih rendah dibandingkan dengan P0 dan P1. Hal tersebut diduga terjadi karena penambahan *S. cerevisiae* dan minyak kedelai membuat mikroba rumen membutuhkan waktu untuk adaptasi dalam mendegradasi substrat pakan. Menurut Muslim (2014), pada inkubasi 0 jam mikroba rumen memerlukan waktu adaptasi untuk mendegradasi substrat pakan yang diberikan. Rolfe et al. (2012) menjelaskan bahwa fase adaptasi atau fase lag merupakan fase paling awal atau merupakan fase penyesuaian/pengaturan suatu aktivitas mikroba dalam lingkungan baru. Kurva pertumbuhan pada fase ini cenderung mendatar karena pada fase ini penambahan jumlah sel belum begitu terjadi. Fase lag terjadi pada dua jam awal masa inkubasi, setelah itu pada jam berikutnya sudah berganti pada fase eksponensial.

Hasil analisis variansi pada inkubasi 4 jam menunjukkan bahwa perlakuan P2 dan P3 berpengaruh nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap peningkatan kadar protein cairan rumen. Uji orthogonal polinomial menunjukkan bahwa lama inkubasi 4 jam pada perlakuan P2 dan P3 berpengaruh secara kubik terhadap kadar protein cairan rumen dengan persamaan yaitu  $Y = -0.0155x^2 + 0.0651x + 3.143$  dan koefisien determinasi  $R^2 = 1$ , kemudian kadar protein cairan rumen tertinggi dicapai pada inkubasi selama 2,5 jam dan terendah pada inkubasi 8 jam (Gambar 1). Demikian juga dengan pengaruh lama inkubasi pada P3 terhadap kadar protein cairan rumen berpengaruh secara kubik dengan persamaan yaitu  $Y = -0.0288x^2 + 0.2121x + 2.775$  dan koefisien determinasi  $R^2 = 1$ . Kadar protein cairan rumen tertinggi dicapai pada inkubasi 4 jam dan terendah pada inkubasi 8 jam (Gambar 2).



Gambar 1. Dinamika Protein Cairan Rumen P2



Gambar 2. Dinamika Protein Cairan Rumen P3

Berdasarkan kurva hubungan antara lama inkubasi dengan perlakuan (Gambar 1 dan Gambar 2) menginformasikan bahwa pada kedua perlakuan tersebut terlihat memiliki grafik konsentrasi kadar protein terlarut cairan rumen yang hampir sama. Grafik P3 memiliki kadar protein cairan rumen yang lebih tinggi dibandingkan dengan grafik P2. Hal tersebut diduga karena adanya penambahan minyak kedelai sebanyak 1% pada P3. Minyak kedelai merupakan jenis minyak nabati yang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri rumen.

Tabel 3. Rataan Kadar Protein Cairan Rumen

No	Perlakuan	Lama Inkubasi			Rataan (µg/ml)
		0 JAM <sup>a</sup> (µg/ml)	4 JAM <sup>b</sup> (µg/ml)	8 JAM <sup>c</sup> (µg/ml)	
1	P0	3.385 ± 0.19 <sup>b</sup>	2.898 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.908 ± 0.08 <sup>b</sup>	3.064
2	P1	3.305 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.950 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.863 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.039
3	P2	3.143 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.156 ± 0.15 <sup>b</sup>	2.758 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.019
4	P3	2.775 ± 0.16 <sup>a</sup>	3.162 ± 0.11 <sup>b</sup>	2.626 ± 0.19 <sup>a</sup>	2.854

Keterangan : P0 = Pakan basal (60% konsentrat : 40% hijauan); (Kontrol) P1 = P0 + 0,5 % isobutirat; P2 = P1 + 0,5 % *S. cerevisiae*; P3 = P2 + 1 % minyak kedelai.

Selain berfungsi sebagai sumber energi dalam hal ini juga berfungsi sebagai agen defaunasi. Populasi protozoa yang berkurang dalam hal ini akan berdampak pada peningkatan populasi bakteri. Menurut Khampa *et al.* (2006), populasi bakteri dalam rumen sangat menentukan tingkat dan laju degradasi serat dan protein. Degradasi protein yang tinggi akan mendukung produksi  $\text{NH}_3$ .  $\text{NH}_3$  (amonia) merupakan sumber N bagi mikroba rumen. N akan digunakan untuk sintesis protein mikroba dan untuk memenuhi kebutuhan protein mikroba. Apabila kandungan protein dalam pakan telah memenuhi untuk kebutuhan bakteri dan protozoa, maka protozoa tidak akan memangsa bakteri (Wahyuni *et al.*, 2014), dengan demikian populasi dan sekresi protein bakteri meningkat.

Berdasarkan kedua grafik tersebut (Gambar 1 dan Gambar 2) menginformasikan bahwa peningkatan kadar protein cairan rumen tertinggi pada jam ke 4 inkubasi. Kurniawati *et al.* (2019), menjelaskan bahwa pada jam ke 4 masa inkubasi merupakan fase log/fase eksponensial dimana bakteri mengalami periode pertumbuhan yang sangat cepat. Fase eksponensial terjadi pada jam ke 4 sampai jam ke 8. Menurut Rolfe *et al.* (2012) fase eksponensial merupakan fase peningkatan akti-vitas maupun pertambahan jumlah yang mencapai kecepatan maksimum sehingga kurvanya dalam bentuk eksponensial. Peningkatan kadar protein cairan rumen pada P2 dan P3 dalam hal ini mengindikasikan bahwa penambahan *S. cerevisiae* dan minyak kedelai mampu memberikan kondisi lingkungan rumen yang optimal bagi pertumbuhan dan perkembangan bakteri khususnya bakteri proteolitik dalam cairan rumen. Menurut Zain *et al.* (2011), suplementasi *S. cerevisiae* sebanyak 0,5% efektif dalam meningkatkan populasi bakteri total. Dhia *et al.* (2019) menjelaskan bahwa penambahan *S. cerevisiae* dapat mengoptimalkan perkembangan bakteri proteolitik. Selain itu *S. cerevisiae* juga dapat memanfaatkan oksigen sehingga kondisi rumen menjadi lebih anaerob (Hidayat *et al.*, 2013). Kadar protein semakin meningkat dengan penambahan minyak kedelai. Pemberian minyak kedelai selain berfungsi sebagai sumber energi dalam hal ini juga berfungsi sebagai agen defaunasi yang menyebabkan penurunan populasi protozoa. Menurunnya populasi protozoa dalam rumen menyebabkan populasi bakteri meningkat.

Setelah mencapai titik puncak optimalisasi pencernaan fermentatif, maka kadar protein cairan rumen akan mengalami penurunan kembali atau mengalami fase tetap. Ristanti *et al.* (2017)

menjelaskan bahwa semakin lama waktu inkubasi maka populasi bakteri akan semakin tinggi karena bakteri mengalami penggandaan pada setiap 15 menit. Terjadinya pertumbuhan dan perkembangan mikroba rumen menyebabkan penurunan grafik kadar protein cairan rumen karena substrat pakan sudah digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba rumen sehingga semakin lama waktu inkubasi maka kadar protein akan mengalami penurunan. Penurunan kadar protein dapat dilihat pada Tabel 3 yang menunjukkan bahwa semua perlakuan mengalami penurunan kadar protein pada inkubasi jam ke 8. Mikroba rumen setelah pada fase pertumbuhan maka selanjutnya akan menuju pada fase penurunan atau fase stationer. Kurniawati *et al.* (2019) menjelaskan bahwa pada jam ke 8 masa inkubasi merupakan fase stationer, dimana pada tahap ini laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Fase stationer akan terjadi mulai jam ke 8 sampai jam ke 16 masa inkubasi. Menurut Rolfe *et al.* (2012) fase stasioner merupakan fase terjadinya keseimbangan penambahan aktivitas dan penurunan aktivitas, artinya yang mati jumlahnya sama dengan yang tumbuh. Sehingga kurva dalam fase ini cenderung datar.

## KESIMPULAN

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan kombinasi isobutirat, *S. Cerevisiae*, dan minyak kedelai pada substrat pakan merupakan perlakuan yang paling efektif dalam meningkatkan aktivitas protease dan mampu meningkatkan kadar protein cairan rumen pada jam ke 4 inkubasi secara *in vitro*.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dengan hubungan keuangan, pribadi, atau lainnya dengan orang atau organisasi lain yang terkait dengan materi yang dibahas dalam naskah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, S., R. Ana, & H. Iman. 2016. Pengaruh tingkat penambahan complete rumen modifier (crm) dalam ransum berbasis jerami jagung terhadap produksi gas metan dan degradasi bahan kering di rumen (*in vitro*). Students E-Journal 6(1):1-16.
- Bain, A., K.G. Wiryawan, D.A. Astuti, C. Arman, & S. Suharti 2018. Optimalisasi penggunaan level sabun kalsium minyak

- kedelai dalam ransum terhadap karakteristik fermentasi, populasi mikroba, dan kecernaan nutrien secara *in vitro* menggunakan cairan rumen sapi bali. Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis 5(3):11-19.
- Brandford. M.M. 1976. A Rapid And Sensitive Method for the Quantitation Of Microgram Quantities Of Protein Utilizing the Principle Of Protein-Dye Binding Anal. Biochem. pp: 248-254.
- Dali, S., H., Natsir, & Gusti. 2012. Pengaruh senyawa kofaktor dan stabilitas terhadap aktivitas enzim  $\beta$ -1,3-glucanase dari isolat bakteri termofil Bacillus licheniformis HSA3-1a. J As-Syifaa 4(2):203-208.
- Dhia, S., K. Khanza, A. Kamil, & U.T. Hidayat. 2019. Kecernaan dan fermentabilitas substrat kombinasi mineral-fungi dalam rumen. Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu 7(2):217-222.
- Fathul, F., Tantalo, S., Liman, dan Purwaningsih. 2013. Pengetahuan pakan dan formulasi ransum. Universitas lampung. Bandar Lampung.
- Hidayat, R., & D. I. Rahwanandi. 2013. Pengaruh penggunaan yea-sacc  $\text{\textcircled{R}}1026$  terhadap performan sapi potong. Jurnal Ziraa'ah 37(2):63-71.
- Khampa, S., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, N. Nontaso, M.A. Wattiaux, & P. Rowilson. 2006. Effect of levels of sodium dl-malate supplementation on ruminal fermentation efficiency of concentrates containing high levels of cassava chip in dairy steers. Aisan-Aust. J Anim.Sci 19(1):368-375.
- Kurniawati., L., E. Kusdiyantini, & Wijanarka. 2019. Pengaruh variasi suhu dan waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase dari bakteri *Serratia marcescens*. Jurnal Akademika Biologi 8(1):1-9.
- Muslim, G., J.E. Sihombing, S. Fauziah, A. Abrar, & A. Fariani. 2014. Aktivitas proporsi berbagai cairan rumen dalam mengatasi tannin dengan tehnik *in vitro*. J Pet Sriwijaya 3(1):25-36.
- Natsir, M.H. 2008. Pengaruh penggunaan beberapa jenis enkapsulan pada asam laktat terenkapsulasi sebagai acidifier terhadap daya cerna protein dan energi metabolis ayam pedaging. J Ternak Tropika 6(2):13-17.
- Ristanti, E., S. Wahyu, Kismiati, & D.W. Harjanti. 2017. Pengaruh lama pemaparan pada suhu ruang terhadap total bakteri dan ph kandungan protein daging ayam di pasar tradisional Kabupaten Semarang. Agromedia 5(1):1-10.
- Rolfe., M.D., C.J. Rice, S. Lucchini, C. Pin, A. Thompson, A.D. Cameron, M. Alston, M. F. Stringer, R.P. Betts, J. Baranyi, & M.W. Peck. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. Journal of Bacteriology 194(3):686-701.
- Suryapratama, W. & F.M., Suhartati. 2012. Fermentasi jerami padi menggunakan white rot fungi dan suplementasi saccharomyces cerevisiae pengaruhnya terhadap kecernaan nutrien secara *in vitro*. Jurnal Agripet 12(2):1-6.
- Sutardi, T. 1979. Ketahanan protein bahan makanan terhadap degradasi mikroba rumen dan manfaatnya bagi peningkatan produktivitas ternak. Prosiding Seminar Penelitian dan Penunangan Peternakan. LPP Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 1-6.
- Syamsi, A.N., F.M. Suhartati, & W. Suryapratama. 2015. Pengaruh daun turi (*Sesbania grandiflora*) dan lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dalam ransum sapi berbasis indeks sinkronisasi protein-energi terhadap sintesis protein mikroba rumen. Prosiding online Seminar Nasional IV HITPI. Fakultas Peternakan, Unsoed. Purwokerto, 18-20 Oktober 2015. Pp: 141-150.
- Wahyuni, I., M.D.A., Muktiani, & M. Christianto. 2014. Penentuan dosis tanin dan saponin untuk defaunasi dan peningkatan fermentabilitas pakan. JITP 3(3):133-140.
- Waldi, L. 2017. Pengaruh penggunaan bungkil kedelai dan bungkil kelapa dalam ransum berbasis indeks sinkronisasi energi dan protein terhadap sintesis protein mikroba rumen sapi perah. JLSP 1(1):1-12.
- Walter, H.E. 1984. Proteinases (Protein as Substrat). In Methodes of Analysis, Bergmeyer, H.U. (Ed). 3<sup>rd</sup> Ed., Verlag-Chemie, Weinheim, Germany. pp: 270-278.

Yanuartono, A., S. Nururrozi, Indarjulianto, & H. Purnamaningsih. 2019. Peran protozoa pada pencernaan ruminansia dan dampak terhadap lingkungan. Jurnal Ternak Tropika 20(1):16-28.

Zain, M., N. Jamarun, A. Arnim, W.S.N. Ningrat & R. Herawati. 2011. Effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on fermentability, microbial population and digestibility low quality roughage (*in vitro*). Archiva Zootechnica 14(4):51-58.