

Penggunaan Mikroba Selulolitik Campuran dari Ekstrak Rayap, Larutan Feses Gajah dan Cairan Rumen Kerbau untuk Meningkatkan Kecernaan *In Vitro* Rumput Raja

AGUNG PRABOWO¹, SOEMITRO PADMOWIJOTO², ZAENAL BACHRUDDIN² dan ABDUL SYUKUR³

¹BPTP Sumatera Selatan, Jl. Kol. H. Barlian km 6 Palembang, Sumatera Selatan,
Telp. 0711-410155, HP: 08882773723,
e-mail: agungs3pt_ugm@yahoo.com;

²Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada

³Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

(Diterima dewan redaksi 11 Maret 2007)

ABSTRACT

PRABOWO, A., S. PADMOWIJOTO, Z. BACHRUDDIN and A. SYUKUR. 2007. Utilization of mixed cellulolytic microbes from termite extract, elephant faecal solution and buffalo ruminal fluid to increase *in vitro* digestibility of King Grass. *JITV* 12(2): 105-111.

Cellulose is a compound of plant cell walls which is difficult to be degraded because it composed of glucose monomers linked by β -(1,4)-bound. It will be hydrolysed by cellulase enzyme secreted by cellulolytic microbes. The effective digestion of cellulose needs high activity of cellulase enzyme. This research aims to increase *in vitro* king grass digestibility utilizing mixed cellulolytic microbes of termite extract, elephant faecal solution, and buffalo ruminal fluid. Twelve syringes contained gas test media were randomly divided into four treatments based on sources of microbe (SM), namely: S (SM: cattle ruminal fluid [S]), RGK (SM: mixed cellulolytic microbes of termite extract, elephant faecal solution, and buffalo ruminal fluid [RGK], with composition 1 : 1 : 1), S-RGK (SM: S + RGK, with composition 1:1), and TM (without given treatment microbe). Digestibility was measured using gas test method. Average of gas production treatment of S-RGK (70.2 ± 0.6 ml) was higher and significantly different ($P < 0.01$) compared to treatment of S (60.3 ± 0.8 ml), RGK (40.8 ± 2.3 ml), and TM (13.3 ± 2.0 ml). Utilization of mixed cellulolytic microbes of termite extract, elephant faecal solution, and buffalo ruminal fluid (RGK) that combined with microbes of cattle ruminal fluid (S) could increase *in vitro* digestibility of king grass.

Key Words: Cellulolytic Microbe, Termite Extract, Elephant Faecal, Buffalo Ruminal Fluid

ABSTRAK

PRABOWO, A., S. PADMOWIJOTO, Z. BACHRUDDIN dan A. SYUKUR. 2007. Penggunaan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah dan cairan rumen kerbau untuk meningkatkan kecernaan *in vitro* rumput Raja. *JITV* 12(2): 105-111.

Selulosa adalah penyusun dinding sel tanaman yang sukar didegradasi karena monomer glukosanya dihubungkan dengan ikatan β -(1,4). Ikatan ini akan dipecah oleh enzim selulase yang hanya dapat disekresikan oleh mikroba selulolitik. Untuk meningkatkan pemecahan ikatan β -(1,4) diperlukan enzim selulase dengan aktivitas yang lebih tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kecernaan *in vitro* rumput raja dengan menggunakan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau. Dua belas *syringe* berisi media tes gas secara acak dibagi menjadi empat perlakuan berdasarkan sumber mikroba (SM), yaitu: S (SM: cairan rumen sapi [S]), RGK (SM: mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau [RGK], dengan komposisi 1 : 1 : 1), S-RGK (SM: S + RGK, dengan komposisi 1 : 1), dan TM (tanpa diberi perlakuan mikroba). Pada penelitian ini kecernaan diukur menggunakan metode tes gas. Rerata produksi gas perlakuan S-RGK ($70,2 \pm 0,6$ ml) lebih tinggi dan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dibandingkan dengan perlakuan S ($60,3 \pm 0,8$ ml), RGK ($40,8 \pm 2,3$ ml), dan TM ($13,3 \pm 2,0$ ml). Penggunaan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau (RGK) yang digabungkan dengan mikroba cairan rumen sapi (S) dapat meningkatkan kecernaan *in vitro* rumput raja.

Kata Kunci: Mikroba selulolitik, Ekstrak Rayap, Larutan Feses Gajah, Cairan Rumen Kerbau

PENDAHULUAN

Pakan hijauan memiliki tingkat kecernaan lebih rendah dibandingkan dengan pakan konsentrat. Hal ini disebabkan karena pakan hijauan lebih banyak mengandung selulosa yang sukar didegradasi karena

monomer-monomernya dihubungkan dengan ikatan β -(1,4) (SAXENA dan BROWN, 2005). Ikatan ini hanya dapat dipecah oleh enzim selulase yang hanya dapat disekresikan oleh mikroba selulolitik (MCDONALD *et al.*, 2002), seperti yang ada di dalam saluran pencernaan rayap, gajah, kerbau, dan sapi. Mikroba selulolitik pada

umumnya akan mensekresikan tiga jenis enzim selulase, yaitu endoglukanase atau carboxymethylcellulase (CMC-ase), eksoglukanase, dan β -glukosidase (CAI *et al.*, 1999; BEAUCHEMIN *et al.*, 2003). Secara sinergis ketiga jenis enzim ini mendegradasi selulosa menjadi glukosa. CMC-ase memecah ikatan hidrogen yang ada di dalam struktur kristalin selulosa sehingga terbentuk rantai-rantai individu selulosa, eksoglukanase memotong ujung-ujung rantai individu selulosa sehingga menghasilkan disakarida dan tetrasakarida, misalnya seperti selobiosa, dan β -glukosidase menghidrolisis disakarida dan tetrasakarida menjadi glukosa. Pada penelitian ini hanya enzim CMC-ase yang diamati karena menurut HOBSON (1988), DING *et al.* (2001), dan CHEN *et al.* (2004), CMC-ase merupakan enzim pertama dalam sistem enzim selulase sehingga tingkat aktivitasnya sangat menentukan dalam proses degradasi selulosa.

Di dalam saluran pencernaan rayap terdapat mikroba selulolitik yang berperan dalam mendegradasi partikel-partikel kayu menjadi senyawa terlarut (ATLAS dan BARTHA, 1981; LEHNINGER, 1982), yang menurut SJÖSTRÖM (1981), banyak mengandung selulosa (kurang lebih 40-45% bahan kering).

Gajah merupakan hewan monogastrik yang dapat memanfaatkan pakan berserat tinggi karena adanya peranan mikroba selulolitik di dalam saluran pencernaannya (ENSIKLOPEDI INDONESIA, 1988). Pakan gajah pada umumnya berupa hijauan. Dilihat dari kotorannya, pencernaan pakan pada gajah lebih rendah dibandingkan pada sapi dan kerbau. Kotoran gajah masih berbentuk bolus dengan serat yang masih panjang.

Menurut McDONALD *et al.* (2002), rumput mengandung sekitar 20-30% selulosa. PUPPO *et al.* (2002) melaporkan bahwa kemampuan mikroba rumen sapi dalam mendegradasi bahan organik dan selulosa lebih baik daripada mikroba rumen kerbau.

Berdasarkan tempat dan bahan yang didegradasi, maka mikroba selulolitik yang ada di dalam saluran pencernaan rayap, gajah, kerbau, dan sapi mempunyai karakteristik yang berbeda-beda, misalnya ada yang mempunyai aktivitas CMC-ase tinggi, tetapi aktivitas eksoglukanase maupun β -glukosidasenya rendah, demikian pula sebaliknya. Dengan demikian apabila mikroba selulolitik yang berasal dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau digabungkan, maka akan terjadi suatu keseimbangan sistem enzim selulase yang baru yang mempunyai aktivitas lebih tinggi. Diharapkan mikroba ini dapat diinokulasikan ke dalam rumen sapi untuk meningkatkan pemecahan ikatan β -(1,4) yang ada dalam selulosa sehingga pencernaan pakan hijauan meningkat. Namun sebelum digunakan untuk inokulum pada ternak sapi, maka mikroba ini perlu dikaji terlebih dahulu secara *in vitro*.

Dilaporkan bahwa terdapat hubungan sinergis antara enzim yang diproduksi oleh mikroba organisme rumen sapi dan enzim eksogenous yang diproduksi oleh fungi aerobik *T. longibrachiatum* dalam mendegradasi selulosa (MORGAVI *et al.*, 2000). COLOMBATTO *et al.* (2003) melaporkan bahwa aktivitas enzim CMC-ase dapat meningkat dengan penambahan enzim yang disekresikan oleh *Trichoderma reesei* yang mempunyai aktivitas utama xilanase dan selulase.

Penelitian ini menggunakan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mikroba selulolitik campuran tersebut mempunyai aktivitas spesifik CMC-ase lebih tinggi dibandingkan dengan mikroba selulolitik dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, atau cairan rumen kerbau saja, serta lebih tinggi pula dibandingkan dengan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap dan larutan feses gajah, ekstrak rayap dan cairan rumen kerbau. Berdasarkan alasan tersebut di atas, maka dipilihlah mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau untuk digunakan dalam penelitian ini. Sebelum dicampurkan mikroba dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau terlebih dahulu ditumbuhkan dalam media terbatas (media selulolitik) sehingga hanya mikroba selulolitik saja yang dapat hidup, kemudian mikroba tersebut dan beberapa kombinasinya ditumbuhkan ke dalam media pertumbuhan.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan pencernaan *in vitro* rumput raja dengan menggunakan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk meningkatkan produktivitas ternak sapi.

MATERI DAN METODE

Materi penelitian ini adalah dua belas syringe ukuran 100 ml yang masing-masing berisi 300 mg berat kering rumput raja dan 30 ml media tes gas. Media ini berisi larutan mineral A dan B, buffer, resazurin, reduksi, dan aquades. Larutan mineral A dibuat dengan cara melarutkan 5,7 g Na_2HPO_4 ; 6,2 g KH_2PO_4 ; 0,6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ke dalam aquades sehingga total volume 1 liter. Larutan mineral B dibuat dengan cara melarutkan 13,2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 10,0 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 1,0 g $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,8 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ke dalam aquades sehingga total volume 100 ml. Larutan buffer dibuat dengan cara melarutkan 35 g NaHCO_3 dan 4 g $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ ke dalam aquades sehingga total volume 1 liter. Larutan resazurin dibuat dengan cara melarutkan 100 mg resazurin ke dalam aquades sehingga total volume 100 ml. Larutan reduksi dibuat dengan cara

menambahkan 1 ml NaOH 1N dan 142,5 mg $\text{Na}_2\text{S}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ke dalam 23,75 ml aquades, larutan ini dipreparasi segar (LABORATORIUM BOKIMIA NUTRISI, 2003).

Media tes gas dibuat dengan cara mencampur 237 ml aquades; 0,6 ml larutan mineral B; 118,5 ml larutan buffer; 118,5 ml larutan mineral A; 0,61 ml larutan resazurin ke dalam labu. Campuran ini kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan pada suhu 39°C. Gas CO_2 selanjutnya dialirkan, sementara itu 24,75 ml larutan reduksi ditambahkan. Cairan rumen sapi dimasukkan setelah larutan yang berwarna kebiru-biruan berubah menjadi agak merah kemudian menjadi tidak berwarna. Cairan rumen ini terlebih dahulu diautoklaf karena hanya berfungsi sebagai bahan media. Autoklaf dilakukan pada temperatur 121°C selama 15 menit (DWIDJOSEPUTRO, 1998). Rasio cairan rumen dan buffer 1:2 (v/v). Penambahan CO_2 diteruskan setelah cairan rumen dimasukkan ke dalam labu. Campuran ini selanjutnya siap digunakan sebagai media tes gas.

Sebagai sumber mikroba adalah: 1.) mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau (RGK), dan 2.) mikroba cairan rumen sapi (S).

Ekstrak rayap diperoleh dengan cara menggerus rayap sampai berbentuk pasta, kemudian pasta ini ditambah dengan aquades sebanyak 10 x dari berat rayap. Larutan yang terbentuk kemudian disaring dengan kain kassa dan ditampung dalam botol, selanjutnya dialiri gas CO_2 selama 30 menit.

Larutan feses gajah diperoleh dengan cara menambahkan aquades sebanyak 10% (v/w) dari berat basah feses ke dalam kantong plastik yang telah berisi feses, selanjutnya feses diremas-remas sampai aquades merata ke dalam feses. Setelah aquades merata, salah satu ujung kantong plastik dilubangi kemudian feses diperas sampai ke luar cairannya. Cairan ini kemudian disaring dengan kain kassa dan ditampung dalam erlenmeyer, kemudian dialiri gas CO_2 selama 30 menit.

Cairan rumen kerbau dan sapi diperoleh dengan cara mengambil isi rumen kerbau dan sapi berfistula pada pagi hari sebelum ternak diberi pakan. Isi rumen

diambil pada bagian atas, bawah, tengah, depan, dan belakang rumen, kemudian diperas dan cairannya ditampung dalam termos yang sebelumnya termos ini diisi penuh dengan air hangat dengan temperatur 39°C. Cairan ini selanjutnya disaring dengan kain kassa dan ditampung dalam erlenmeyer, kemudian dialiri gas CO_2 selama 30 menit.

Enzim dipersiapkan dengan memusingkan 1,5 ml sampel larutan yang mengandung enzim dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai sumber enzim.

Semua materi penelitian secara acak dibagi menjadi empat kelompok perlakuan berdasarkan sumber mikroba (SM), yaitu: 1.) S (SM: cairan rumen sapi [S]), 2.) RGK (SM: mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau [RGK], dengan komposisi 1:1:1), 3.) S-RGK (SM: S + RGK, dengan komposisi 1:1), dan 4.) TM (tanpa diberi perlakuan mikroba). Inokulasi dengan mikroba sesuai perlakuan dilakukan dengan dosis 1 ml per syringe, sedangkan TM sebagai kontrol tanpa diinokulasi mikroba. Syringe ini selanjutnya diinkubasikan selama 72 jam. Produksi gas diamati pada jam ke 0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 18; 24; 36; 48; 72. Dari produksi gas ini selanjutnya dihitung nilai a (fase lag), T (waktu yang dibutuhkan untuk fase lag, t pada saat $p = 0$), b (potensi volume gas yang dapat diproduksi), dan c (laju produksi gas). Aktivitas spesifik CMC-ase dan gula mereduksi media tes gas diamati pada akhir penelitian (jam ke 72). Nilai a, T, b, dan c dihitung dengan menggunakan rumus: $p = a + b(1 - e^{-ct})$ (Ørskov, 1992).

Pengamatan aktivitas spesifik CMC-ase dilakukan dengan mengukur kadar gula mereduksi dan kadar protein enzim. Aktivitas spesifik CMC-ase adalah kadar gula mereduksi per kadar protein enzim.

Pengukuran gula mereduksi dilakukan dengan cara mengisi tabung-tabung reaksi terlebih dahulu berturut-turut dengan aquades, buffer, substrat, dan enzim sesuai dengan Tabel 1. Semua tabung selanjutnya diinkubasi pada suhu 39°C selama 45 menit. Aktivitas enzim

Tabel 1. Jumlah enzim, buffer, substrat, dan aquades pada pengukuran gula mereduksi

Tabung	Sumber Enzim (ml)	Buffer Na-Asetat pH 5,5 (ml)	Substrat CMC 1% (ml)	Aquades (ml)	Total Volume (ml)
ES	0,1	0,4	1,0	0,3	1,8
E	0,1	0,4	-	1,3	1,8
B	-	0,4	-	1,4	1,8
S	-	0,4	1,0	0,4	1,8

ES: enzim dan substrat; B: blangko; E: enzim; S: substrat

dihentikan dengan menambahkan 1 ml sianida karbonat, 0,2 ml sodium karbonat (2%), dan 2 ml kalium ferrisianida, kemudian sampel dihomogenkan dengan vortex dan selanjutnya dipanaskan dalam air mendidih selama 30 menit dalam keadaan tertutup. Setelah 30 menit tabung dimasukkan ke dalam air dingin selama 5 menit. Sisa warna kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm.

Hasil pembacaan spektrofotometer selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus: $Y = (BL - ES) - (BL - S) - (BL - E)$ dan $X = (Y + 0,003508) / 4,328$. Kadar gula mereduksi ($\mu\text{mol/ml/menit}$) = $(X \times \text{pengenceran} \times 10 \times 1,8) / 45$ (LABORATORIUM BIOKIMIA NUTRISI, 2004).

Pengukuran protein enzim dilakukan dengan cara menambahkan 2,5 ml Lowry B [Lowry B1 (2% NaCO_3 dalam 0,1 N NaOH) : Lowry B2 (1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) : Lowry B3 (2% K Na Tartrat) = 100:1:1] ke dalam tabung yang telah berisi 0,5 ml sampel enzim, dan diamkan selama 10 menit, kemudian ditambah 0,25 ml Lowry A (folin: aquades = 1 : 1) dan divortex, selanjutnya diamkan selama 30 menit. Perubahan warna yang terjadi selanjutnya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Hasil pembacaan dimasukkan ke dalam rumus:

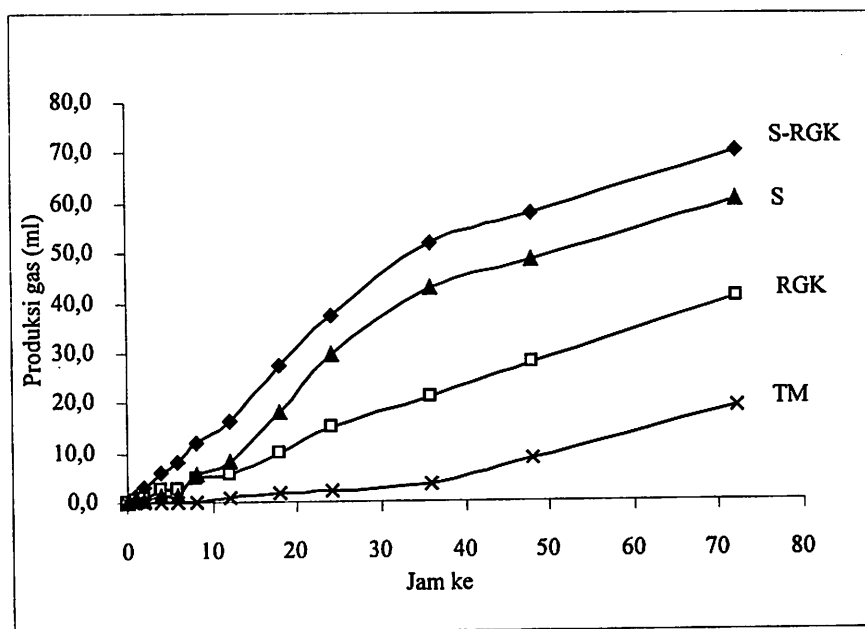
$X = (Y - 0,03267) / 2,512$. Kadar protein enzim (mg/ml) = $X \times \text{pengenceran}$ (LABORATORIUM BIOKIMIA NUTRISI, 2004).

Semua data dianalisis dengan analisis variansi dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola searah dan apabila terdapat perbedaan diantara rerata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) (GASPERSZ, 1991). Pengolahan data dilakukan dengan program microsoft excel 2000 dan SPSS 10.0 (SANTOSO, 2000). Data disajikan dalam bentuk nilai tengah dan disertai dengan nilai standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kinetika rerata produksi gas perlakuan S-RGK lebih baik dibandingkan dengan perlakuan S, RGK, dan TM, sedangkan perlakuan S lebih baik dibandingkan dengan perlakuan RGK dan TM (Gambar 1). Hasil ini menunjukkan bahwa penggabungan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau (RGK) dengan mikroba cairan rumen sapi (S) dapat meningkatkan produksi gas.

Rerata produksi gas perlakuan S-RGK lebih banyak dan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dibandingkan dengan perlakuan S, RGK, dan TM. Demikian pula, perlakuan S lebih banyak dan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dibandingkan dengan perlakuan RGK dan TM, sementara perlakuan RGK lebih banyak dan



- S : perlakuan yang menggunakan mikroba cairan rumen sapi
 RGK : perlakuan yang menggunakan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau
 S-RGK : perlakuan yang menggunakan mikroba S dan RGK
 TM : kontrol, tanpa perlakuan mikroba

Gambar 1. Kinetika rerata produksi gas perlakuan S, RGK, S-RGK, dan TM

Tabel 2. Rerata produksi gas, nilai a, T, b, dan c, serta aktivitas spesifik CMC-ase (AS) dan gula mereduksi (GM) media tes gas

Variabel	Perlakuan			
	S	RGK	S-RGK	TM
Produksi gas (ml)	60,3 ± 0,8 ^a	40,8 ± 2,3 ^r	70,2 ± 0,6 ^p	13,3 ± 2,0 ^s
Nilai a (ml)	-12,4 ± 1,1 ^s	-2,8 ± 1,3 ^q	-9,1 ± 1,1 ^r	-0,7 ± 0,1 ^p
Nilai T (jam)	4,8 ± 0,4 ^b	2,9 ± 1,4 ^a	3,0 ± 0,3 ^a	4,6 ± 0,7 ^b
Nilai b (ml)	72,8 ± 1,6 ^q	43,6 ± 3,0 ^r	79,2 ± 0,6 ^p	14,0 ± 2,0 ^s
Nilai c (per jam)	0,039 ± 0,001 ^a	0,023 ± 0,003 ^b	0,040 ± 0,001 ^a	0,010 ± 0,002 ^c
AS (U/mg)	0,0015 ± 0,0001 ^c	0,0184 ± 0,0011 ^a	0,0020 ± 0,0002 ^c	0,0065 ± 0,0021 ^b
GM (μmol/ml)	0,326 ± 0,007 ^a	0,393 ± 0,012 ^b	0,308 ± 0,021 ^a	0,400 ± 0,033 ^b

^{a,b,c} Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)^{p,q,r,s} Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata (P<0,01)

berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan TM (Tabel 2).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan TM juga terbentuk gas. Hal ini disebabkan karena tumbuhnya mikroba yang terbawa oleh sampel rumput raja. Mikroba ini tentunya juga tumbuh pada perlakuan S, RGK, dan S-RGK bersama-sama dengan mikroba yang diinokulasikan sesuai dengan perlakuan.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa rerata produksi gas perlakuan S-RGK lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan S dan RGK. Hasil ini menunjukkan bahwa penggabungan mikroba RGK dan S dapat meningkatkan kecernaan *in vitro* rumput raja. Menurut ØRSKOV (2002), ada korelasi positif antara produksi gas dengan kecernaan bahan kering. Semakin banyak gas yang dihasilkan, maka semakin tinggi kecernaannya. Kecernaan yang meningkat dapat memperpendek waktu yang dibutuhkan untuk fase lag (nilai T), menaikkan potensi volume gas yang dapat diproduksi (nilai b) dan laju produksi gas (nilai c).

Rerata nilai a perlakuan TM lebih tinggi dan berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan S, RGK, dan S-RGK. Demikian pula, perlakuan RGK lebih tinggi dan berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan S dan S-RGK, dan perlakuan S-RGK lebih tinggi dan berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan S. Menurut LIDYA dan DJENAR (2000), pada fase ini sebagian besar mikroba terlebih dulu menyesuaikan diri (adaptasi) dengan lingkungan dan belum mengadakan perbanyakan sel, bahkan sebagian sel mati, hanya sebagian mikroba bertahan hidup. Secara khusus ada hal yang memungkinkan terjadinya fase lag, yaitu pembentukan enzim induktif. Enzim ini dihasilkan oleh sel hanya sebagai tanggapan terhadap adanya substrat tertentu (PELCZAR dan CHAN, 1986).

Rerata nilai T perlakuan RGK dan S-RGK lebih rendah dan berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan

dengan perlakuan S dan TM, sedangkan perlakuan RGK dengan S-RGK dan perlakuan S dengan TM berbeda tidak nyata (P>0,05). Hasil ini menunjukkan bahwa penggabungan mikroba RGK dan S dapat menghasilkan mikroba campuran yang mempunyai waktu yang dibutuhkan untuk fase lag lebih pendek daripada mikroba S. Hal ini terlihat pada Tabel 2, yang mana rerata nilai T perlakuan RGK lebih rendah dan berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan dengan perlakuan S.

Rerata nilai b perlakuan S-RGK lebih tinggi dan berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan S, RGK, dan TM. Demikian pula, perlakuan S lebih tinggi dan berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan RGK dan TM. Sementara perlakuan RGK lebih tinggi dan berbeda sangat nyata (P<0,01) dibandingkan dengan perlakuan TM. Hasil ini menunjukkan bahwa penggabungan mikroba RGK dan S dapat meningkatkan potensi volume gas yang dapat diproduksi. Hal ini disebabkan karena meningkatnya peranan mikroba selulolitik yang ada. Seperti yang terlihat pada Tabel 2, aktivitas spesifik CMC-ase perlakuan S-RGK menunjukkan angka yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan S, walaupun berbeda tidak nyata (P>0,05). Angka yang lebih tinggi ini dapat disebabkan karena peranan mikroba selulolitik RGK atau adanya keseimbangan baru antara mikroba selulolitik S dan RGK. Menurut PELCZAR dan CHAN (1986), ada hubungan linear antara aktivitas enzim dengan kadar substrat. Semakin tinggi aktivitas enzim, maka semakin banyak substrat yang dapat diubah menjadi produk, sedangkan menurut LEHNINGER (1982), 1 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah yang menyebabkan pengubahan 1 mikromol (μmol = 10⁻⁶ mol) substrat per menit pada temperatur 25°C pada keadaan pengukuran optimal.

Seperti yang telah diketahui bahwa selulosa merupakan penyusun dinding sel tanaman. Oleh karena

itu apabila degradasi selulosa meningkat, maka degradasi nutrisi lain yang ada di dalam sel dan yang terikat dalam dinding sel akan meningkat pula sehingga secara keseluruhan hal ini akan meningkatkan pencernaan. Rendahnya pencernaan *in vitro* rumput raja perlakuan RGK jika dibandingkan dengan perlakuan S dan S-RGK, sementara aktivitas spesifik CMC-ase perlakuan RGK lebih tinggi kemungkinan disebabkan karena pada penelitian ini menggunakan produksi gas sebagai indikator pencernaan. Menurut ØRSKOV (2002), pada metode produksi gas, didasarkan pada produk fermentasi, yaitu gas CH₄ dan CO₂, dengan asumsi komposisi kandungan gas CH₄ dalam rumen antara 30-40%, sedangkan CO₂ sekitar 40% (MCDONALD *et al.*, 2002). Mengingat spesies dan jenis mikroba yang ada pada perlakuan RGK mikroba selulolitik, maka kemungkinan besar gas yang diproduksi hanya gas CO₂ karena spesies mikroba penghasil gas CH₄ tidak ada. Hal ini berbeda dengan perlakuan S dan S-RGK yang spesies dan jenis mikrobanya lebih banyak dan beragam sehingga pada perlakuan S dan S-RGK, spesies mikroba penghasil gas CH₄ dipastikan ada. Sejalan dengan hal tersebut, kadar gula mereduksi media tes gas perlakuan S dan S-RGK lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan RGK (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas mikroba pada perlakuan S dan S-RGK lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan RGK.

Rerata nilai *c* perlakuan S-RGK dan S lebih tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan RGK dan TM, demikian pula perlakuan RGK lebih tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan TM, sedangkan perlakuan S-RGK dengan S berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Kondisi ini menunjukkan bahwa penggabungan mikroba RGK dan S dapat menghasilkan mikroba campuran yang mempunyai laju produksi gas lebih cepat daripada mikroba RGK. Hal ini terlihat pada Tabel 2, dimana rerata nilai *c* perlakuan S lebih tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan RGK. Hal tersebut, boleh jadi disebabkan karena penggabungan mikroba RGK dan S tidak hanya menggabungkan mikroba selulolitik saja, sehingga kemampuan mikroba gabungan tersebut didukung oleh banyak proses enzimatis. Menurut PELCZAR dan CHAN (1986), selama fase pertumbuhan, aktivitas diukur sebagai aktivitas total yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bila semua enzim dan sistem enzim berfungsi secara harmonis di dalam sel. Keadaan optimum harus diperkirakan dalam arti apa yang terbaik bagi seluruh sistem enzim. Dalam menilai aktivitas suatu enzim tertentu hasil isolasi, keadaannya sama sekali berbeda. Enzim tersebut tidak lagi ada dalam lingkungan yang normal, jadi tidak terpadu ke dalam reaksi-reaksi yang amat banyak yang terjadi di dalam sel karena itu keadaan optimum bagi aktivitas suatu enzim tidak berarti optimum bagi berfungsinya seluruh sel. Hal ini seperti yang

ditunjukkan oleh mikroba RGK pada penelitian ini. Mikroba RGK ini setelah digabungkan dengan mikroba S tidak menunjukkan aktivitas spesifik CMC-ase yang tinggi, seperti yang terlihat pada Tabel 2, aktivitas spesifik CMC-ase perlakuan S-RGK lebih rendah dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan RGK. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas optimum enzim CMC-ase pada perlakuan S-RGK berbeda dibandingkan dengan perlakuan RGK, walaupun pada perlakuan S-RGK terdapat mikroba RGK, namun karena aktivitas enzim CMC-ase-nya telah terpadu dengan aktivitas enzim-enzim lainnya sehingga diperoleh keadaan optimum bagi seluruh aktivitas sistem enzim.

KESIMPULAN

Penggunaan mikroba selulolitik campuran dari ekstrak rayap, larutan feses gajah, dan cairan rumen kerbau (RGK) yang digabungkan dengan mikroba cairan rumen sapi (S) dapat meningkatkan pencernaan *in vitro* rumput raja. Hasil ini menunjukkan bahwa mikroba RGK ini dapat digunakan sebagai inokulum pada ternak sapi untuk meningkatkan pencernaan pakan hijauan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya ucapkan terima kasih kepada: 1.) Dr. Ir. Lies Mira Yusiati, SU selaku kepala Lab. Biokimia Nutrisi, Fapet UGM yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian di Lab. Biokimia Nutrisi, Fapet UGM; 2.) Ibu Karyanti selaku staf Lab. Biokimia, Fapet UGM yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- ATLAS, R.M. and R. BARTHA. 1981. Microbial Ecology: Fundamentals and Applications. Addison-Wesley Publishing Company, Inc. Philippines.
- BEAUCHEMIN, K.A., D. COLOMBATTO, D.P. MORGAVI and W.Z. YANG. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81 (E. Suppl. 2): E37-E47.
- CAI, Y.J., S.J. CHAPMAN, J.A. BUSWELL and S.T. CHANG. 1999. Production and distribution of endoglucanase, cellobiohydrolase, and β -glucosidase components of the cellulolytic system of *volvariella volvacea*, the edible straw mushroom. *App. Env. Microb.* 65: 553-559.
- CHEN, P.J., T.C. WEI, Y. T. CHANG and L.P. LIN. 2004. Purification and characterization of carboxymethyl cellulase. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 111-118.

- COLOMBATTO, D., F.L. MOULD, M.K. BHAT, D.P. MORGAVI, K.A. BEAUCHEMIN and E. OWEN. 2003. Influence of fibrolytic enzymes on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose and xylan by mixed ruminal microorganism in vitro. *J. Anim. Sci.* 81: 1040-1050.
- DING, S.J., W. GE. and J.A. BUSWELL. 2001. Endoglucanase I from the edible straw mushroom, *volvariella volvacea*. *Eur. J. Biochem.* 268: 5687-5695.
- DWIDJOSEPUTRO, D. 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan, Jakarta.
- ENSIKLOPEDI INDONESIA. 1988. Ensiklopedi Indonesia Seri Fauna Indonesia. P.T. Dai Nippon Printing, Jakarta.
- GASPERSZ, V. 1991. Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan. Tarsito. Bandung.
- HOBSON, P.N. 1988. The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science, London.
- LABORATORIUM BOKIMIA NUTRISI. 2003. Biokimia Nutrisi. *Petunjuk Praktikum*. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- LABORATORIUM BOKIMIA NUTRISI. 2004. Biokimia Ternak. *Petunjuk Praktikum*. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- LEHNINGER, A.L. 1982. Dasar-Dasar Biokimia. M. THENAWIDJAJA (pen.). 1997. Cetakan kelima. PT Gelora Aksara Pratama, Erlangga, Jakarta.
- LIDYA, B. dan N.C. DJENAR. 2000. *Dasar Bioproses*. Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.
- MCDONALD, P., R.A. EDWARDS, J.F.D. GREENHALGH and C.A. MORGAN. 2002. *Animal Nutrition*. 6th ed. Ashford Colour Press, Gosport.
- MORGAVI, D.P., BEAUCHEMIN, V.L. NSEREKO, L.M. RODE, A.D. IWAASA, W.Z. YANG, T.A. MCALLISTER and Y. WANG. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *T. longibrachiatum*. *J. Dairy Sci.* 83: 1310-1321.
- ØRSKOV, E.R. 1992. Protein Nutrition in Ruminants. Academic Press, Inc. San Diego.
- ØRSKOV, E.R. 2002. Trails and Trials in Livestock Research. Andi Offset. Yogyakarta, Indonesia.
- PELCZAR, M.J. dan E.C.S. CHAN. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. R.S. HADJOETOMO, T. IMAS, S.S. TJITROSOMO dan S.L. ANGKA (pen.). UI Press, Jakarta.
- PUPPO, S., S. BARTOCCI, S. TERRAMOCCIA, F. GRANDONI and A. AMICI. 2002. Rumen microbial counts and in vivo digestibility in buffaloes and cattle given different diets. *Animal Sci.* 75: 323-329.
- SANTOSO, S. 2000. SPSS. Statistik Parametrik. P.T. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- SAXENA, I.M. and R.M. BROWN. 2005. Cellulose Biosynthesis: Current Views and Evolving Concepts. *Annals of Botany* 96: 9-21.
- SJÖSTRÖM, E. 1981. *Kimia Kayu*. H. SASTROHAMIDJOJO (pen.) dan SOENARDI PRAWIROHATMODJO (Ed.). 1998. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.