

Karakteristik Kimiawi dan Biologis Senyawa Bioaktif Asam Anakardat serta Aplikasinya pada Ternak Ruminansia

(Chemical and Biological Characteristics of Anacardic acid as a Bioactive Compound and Its Application on Ruminant)

Elizabeth Wina¹ dan A Saenab²

¹Balai Penelitian Ternak Jl Veteran III, Banjarwaru- Ciawi, Bogor

²Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Jl. Raya Pajajaran Kav E59 Bogor 16128. Indonesia
Kontributor utama: winabudi@yahoo.com

(Diterima 2 Agustus 2022 – Direvisi 18 Agustus 2022 – Disetujui 8 September 2022)

ABSTRACT

The use of bioactive compounds from plants is becoming a major interest to be used as feed additives to reduce the effect of greenhouse gases on climate changes and as an alternative to antibiotic growth promoter. One of the compounds that have not been widely known and used is anacardic acid. In Indonesia, anacardic acid and its derivatives are commonly found in the waste from the cashew nut industry, namely cashew nut shells. The purpose of this paper is to describe the chemical and biological characteristics of anacardic acid and its effects on rumen fermentation and ruminant production. Anacardic acid or cashew nut shell extract that contains anacardic acid have the ability to suppress methane produced in the rumen. In addition, this compound increases propionic acid in the rumen which is useful for ruminant. Up till now, the applications of anacardic acid for ruminants that described in published papers were mostly done in vitro, while its direct application to livestock has not been widely reported and most of its use is combined with other compounds. The utilization of anacardic acid in Indonesia as a feed additive for ruminants will contribute to reducing greenhouse gases and increasing the productivity of ruminants.

Key words: Anacardic acid, chemical, biological characteristics, methane, ruminant

ABSTRAK

Penggunaan senyawa-senyawa bioaktif dari tanaman sedang menjadi perhatian utama untuk dijadikan imbuhan pakan guna menekan pengaruh gas rumah kaca terhadap perubahan iklim dan sebagai alternatif senyawa antibiotik pemacu pertumbuhan. Salah satu senyawa bioaktif yang belum banyak diketahui dan dimanfaatkan adalah senyawa asam anakardat. Di Indonesia, senyawa asam anakardat banyak ditemui pada limbah dari industri kacang mete yaitu cangkang kacang mete. Tujuan penulisan makalah ini adalah menguraikan karakteristik kimia dan biologis dari senyawa anakardat dan pengaruhnya terhadap fermentasi rumen dan produksi ternak ruminansia. Senyawa anakardat atau ekstrak cangkang kacang mete yang berisi asam anakardat dan derivatnya memiliki kemampuan menekan gas metana yang diproduksi di dalam rumen. Selain itu, senyawa ini meningkatkan produksi asam propionat di dalam rumen yang bermanfaat untuk ternak ruminansia. Sampai saat ini, pemanfaatan senyawa anakardat untuk ternak ruminansia dalam makalah yang dipublikasi lebih banyak dilakukan secara in vitro sedangkan aplikasinya langsung pada ternak belum banyak dilaporkan dan kebanyakannya dikombinasi dengan senyawa lain. Penggunaannya sebagai imbuhan pakan untuk ternak ruminansia di Indonesia akan berkontribusi menekan emisi gas rumah kaca dan meningkatkan produktivitas ternak ruminansia.

Kata kunci: Asam anakardat, karakteristik kimiawi, biologis, metana, ruminansia

PENDAHULUAN

Saat ini, pemerintah mempunyai target pembangunan pertanian ke arah kemandirian dan kedaulatan pangan. Untuk sub sektor peternakan, target peningkatan populasi terutama ternak lokal terus diupayakan dengan berbagai program pengembangan. Target peningkatan populasi ternak harus diikuti dengan pengelolaan lingkungan yang ramah. Hal ini berarti pemeliharaan ternak harus dapat mengurangi polusi lingkungan baik yang memberikan pengaruh

terhadap pemanasan global maupun yang mencemari tanah atau air. Selain itu, pemeliharaan ternak tidak boleh menggunakan antibiotik pemacu pertumbuhan yang ditambahkan ke dalam pakan ternak karena sudah dilarang oleh pemerintah berdasarkan NOMOR 14/PERMENTAN/PK.350/5/2017.

(<https://simrek.ditjenpkh.pertanian.go.id/fileinfo/Regulasi-3-Permentan142017.pdf>). Penggunaan senyawa-senyawa bioaktif dari tanaman sedang menjadi perhatian utama sebagai imbuhan pakan untuk menekan polusi lingkungan juga sebagai alternatif

senyawa antibiotik pemacu pertumbuhan. Untuk mencapai tujuan tersebut, maka banyak penelitian dilakukan untuk mencari senyawa bioaktif dari limbah pertanian/ industri atau tanaman-tanaman yang tersedia dalam jumlah yang melimpah.

Senyawa bioaktif adalah senyawa sekunder yang dibentuk di dalam tanaman bukan sebagai senyawa yang berkontribusi untuk pertumbuhan tanaman tetapi sebagai senyawa metabolit yang berfungsi sebagai pertahanan tanaman terhadap serangan predator seperti jamur, bakteri, virus, serangga dan lain-lain (Ramirez-Gomez et al. 2019). Banyak dari senyawa bioaktif ini bermanfaat bagi manusia dan ternak tetapi banyak juga senyawa bioaktif yang bersifat racun. Biasanya keberadaan senyawa bioaktif dalam setiap tanaman sangat kompleks karena tidak sebagai senyawa tunggal tetapi merupakan campuran dari beberapa senyawa kimia sehingga pengaruhnya ketika dikonsumsi oleh ternak merupakan efek gabungan dari senyawa-senyawa bioaktif tersebut.

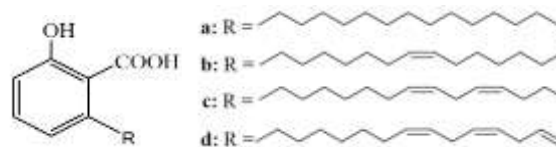
Salah satu senyawa bioaktif yang belum banyak diketahui dan dimanfaatkan adalah senyawa asam anakardat. Di Indonesia, senyawa asam anakardat banyak ditemui pada limbah dari industri kacang mete yaitu cangkang kacang mete. Studi Saenab et al. (2016, 2017, 2018) melaporkan tentang konsentrasi asam anakardat yang terdapat dalam di dalam ekstrak heksan dan pengaruhnya baik dalam bentuk ekstrak maupun yang diisolasi terhadap fermentasi rumen secara in vitro. Asam anakardat merupakan senyawa utama yang dapat menekan gas metana yang diproduksi di dalam rumen sapi. Asam anakardat juga ditemui pada tanaman-tanaman lain yang akan diuraikan di dalam tulisan ini.

Tujuan makalah ini adalah menguraikan karakteristik kimia dan biologis senyawa bioaktif asam anakardat yang spesifik dan potensi aplikasinya dalam bidang peternakan.

Struktur kimia

Asam anakardat termasuk dalam kelompok fenolik lipida adalah senyawa fenol dengan satu gugus karboksilat yang berikatan dengan asam lemak yang memiliki 15 rantai karbon (C15). Senyawa fenol dengan satu gugus karboksilat disebut juga asam salisilat. Asam lemak C15 yang berikatan dengan asam salisilat ini dapat merupakan asam lemak jenuh atau berikatan rangkap 1, 2 dan 3 (Gambar 1) sehingga asam anakardat dengan asam lemak jenuh memiliki C₂₂H₃₆O₃ dengan berat molekul 348,5 g/mol (Tyman 2001). Berat molekul ini akan berkurang sesuai dengan jumlah ikatan rangkap yang ada pada asam lemak. Jadi bila asam lemak memiliki hanya satu ikatan rangkap, maka struktur kimianya menjadi C₂₂H₃₄O₃ dengan

berat molekul 346,5 dan bila dua ikatan rangkap maka berat molekul berkurang 4 dan seterusnya.



Gambar 1. Struktur asam anakardat : 6[8 (Z)-pentadecyl]salicylic acid = 2-Hydroxy-6-pentadecylbenzoic acid. Asam salisilat (struktur utama) di mana gugus R dapat merupakan asam lemak C15 jenuh (a), rangkap 1 (b), rangkap 2 (c) atau rangkap 3 (d).

Sumber: Hamad & Mubofu (2015)

Sumber asam anakardat

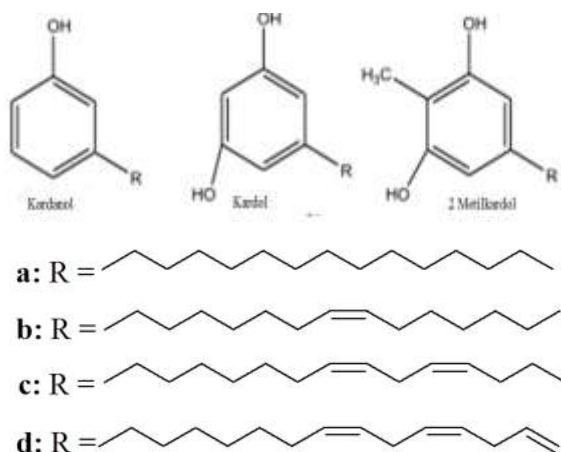
Asam anakardat dapat ditemui dalam beberapa tanaman dari famili Anacardiaceae, Geraniaceae, Ginkgoaceae, Myristicaceae. Dalam famili Anacardiaceae, asam anakardat ditemui pada tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale*) (Trevisan et al. 2006; Saenab et al. 2016), pistachio (*Psitacia vera*), belawa (*Semicarpus anacardium*), tanaman *Ozoroa mucronata* dan *O. insignis*, tanaman mangga (*Mangifera indica*). Dalam famili Ginkgoaceae, asam anakardat teridentifikasi pada tanaman *Ginkgo biloba*. Tabel 1 hanya memperlihatkan beberapa sumber asam anakardat yang ada nilai kuantitatifnya. Analisis untuk mengidentifikasi adanya asam anakardat dan derivatnya kebanyakan menggunakan alat GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectra). Analisis dengan GC-MS tidak menggunakan standar sehingga hasil yang diperoleh bukan konsentrasi melainkan hanya proporsi terhadap semua senyawa yang diperoleh dari pemisahan dengan GC-MS ini. Hal ini disebabkan karena sangat sulit mendapatkan standar dari masing-masing jenis asam anakardat dan derivatnya Trevisan et al. (2006) melakukan purifikasi senyawa anakardat dan derivatnya dan menjadikan hasil purifikasi ini sebagai standar untuk kuantifikasi menggunakan HPLC. Hasil yang diperoleh merupakan konsentrasi asam anakardat dan konsentrasi derivat asam anakardat yang sebenarnya di dalam CNSL (Tabel 1). Hasil yang diperoleh oleh Trevisan et al. (2006) mendapatkan total konsentrasi asam anakardat yang hampir sama dengan total konsentrasi derivat asam anakardatnya.

Selain di dalam tanaman, senyawa derivat asam anakardat juga teridentifikasi di dalam propolis yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* yang dipelihara di Teresina, Brazil. Keberadaan asam anakardat dalam propolis diperkirakan karena lebah tersebut dipelihara di lahan tempat tanaman jambu mete tumbuh (Silva et al. 2008). Propolis dari lebah yang dipelihara di

Thailand dan Vietnam juga mengandung senyawa asam anakardat dan derivatnya. Lebah yang dipelihara di Thailand maupun Vietnam diperkirakan mendapat senyawa asam anakardat karena menghisap bunga tanaman mangga yang tumbuh di daerah pemeliharaan ternak. Tanaman mangga (*Mangifera indica*) termasuk dalam famili Anacardiaceae dan asam anakardat dan derivatnya juga teridentifikasi di dalam getah/ kulit buah mangga dan kemudian masuk ke dalam propolis yang mengandung resin/getah mangga tersebut (Georgieva et al. 2019).

Keberadaan asam anakardat di dalam tanaman-tanaman tersebut bukan sebagai senyawa tunggal di dalam ekstrak tetapi bersama-sama dengan senyawa sekunder lainnya seperti flavanol, tanin, fenolik lipid lainnya.

Tanaman yang paling banyak mengandung asam anakardat adalah jambu mete (*Anacardium occidentale*). Ekstraksi cangkang kacang mete dengan heksan pada suhu kamar menghasilkan 30-35% ekstrak yang disebut *cashew nut shell liquid* (CNSL) atau biofat (Saenab et al. 2016). Dari hasil GC-MS, CNSL atau biofat mengandung asam anakardat yang bervariasi 60-78% (Saenab et al. 2016) atau bahkan lebih dari 80% (Salehi et al. 2019).



Gambar 2. Struktur utama kardanol dan kardol, 2 metilkardol, dengan gugus R yang dapat merupakan asam lemak C15 jenuh (a), rangkap 1 (b), rangkap 2 (c) atau rangkap 3 (d).

Selain asam anakardat, di dalam CNSL/biofat terkandung juga senyawa derivat anakardat (Gambar 2) yaitu kardol (10-20%), kardanol (4,66-10%) dan metilkardol (2-3,56%) dan senyawa-senyawa fenol lain (Njuku et al 2014, Saenab et al 2016). Masing-masing dari senyawa asam anakardat dan derivatnya mempunyai gugus R yang terdiri dari asam lemak C15 jenuh, rangkap satu, rangkap dua dan rangkap tiga, dengan jumlah bervariasi 3%, 34-36%, 21-22% dan 40-41%, secara berurutan (Njuku et al 2014). Sedangkan Oh et al (2017) dan Morais et al (2017) melaporkan bahwa asam anakardat dan derivatnya yang memiliki C15 rangkap satu, rangkap dua, rangkap tiga sebanyak 20,53-43,2%, 14,6-27,02% dan 34,9- 46,32%, secara berurutan. Perbedaan kandungan senyawa-senyawa ini dapat disebabkan oleh perbedaan lokasi penanaman, iklim dan jenis tanah, umur tanaman serta cara manajemen pemeliharaan jambu mete. Selain asam anakardat, kardol, kardanol dan metilkardol yang paling sering dilaporkan ada di dalam CNSL, telah diisolasi dan diidentifikasi 5 senyawa baru derivat asam anakardat yang memiliki dua gugus rantai asam lemak sehingga bobot molekul ke lima senyawa ini yaitu 595, 623, 621, 709 dan 731 (Suo et al, 2012), lebih besar dibandingkan dengan bobot molekul asam anakardat yang hanya memiliki satu gugus rantai asam lemak (C15) yaitu 346,5 (Hamad & Mubofu 2015).

Karakteristik kimiawi

Struktur asam anakardat yang memiliki gugus hidroksi (OH) dan karboksilat (COOH) menyebabkan asam anakardat bersifat hidrofilik (menyukai air atau polar). Tetapi adanya gugus fenol dan asam lemak rantai C15 yang bersifat hidrofobik maka asam anakardat juga bersifat hidrofobik (tidak menyukai air atau non-polar). Keberadaan kedua sifat ini dalam suatu senyawa disebut dengan sifat amfifilik dan asam anakardat memiliki sifat amfifilik yang kuat (Stasiuk & Kozubek 2010).

Asam anakardat bersifat korosif sehingga dapat menyebabkan iritasi pada kulit bila terkena cangkang kacang mete yang mengandung asam anakardat. Kulit akan terasa gatal dan akan mengelupas beberapa hari kemudian dan menjadi putih (Salehi et al. 2019).

Tabel 1. Sumber penghasil asam anakardat dan kandungannya

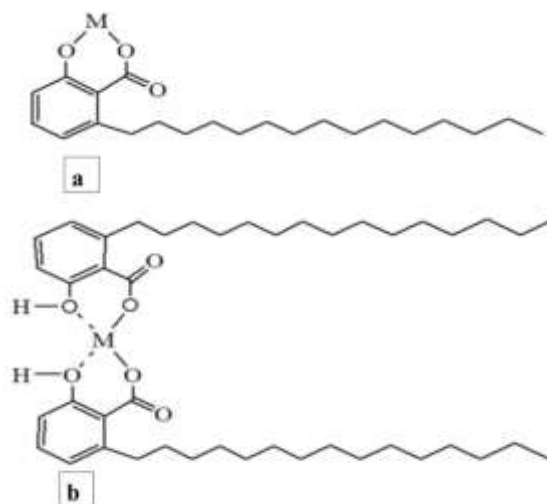
Sumber	Asam anakardat (%)	Derivat anakardat (%)	Metode	Sumber
CNSL (dari kulit mete Brasil)	35,36	36,31	HPLC	Trevisan et al. (2006)
CNSL (dari kulit mete Indonesia)	60-78	11,7-33,6	GC-MS	Saenab et al. (2016)
Ekstrak buah <i>Ginkgo biloba</i>	2,62	0,46	HPLC	Oh et al. (2016)
Ekstrak Propolis dari Vietnam	0,5	1,4	GC-MS	Georgieva et al. (2009)
Getah Mangga	1	15	GC-MS	Popova et al. (2021)

Asam anakardat dapat larut dalam beberapa pelarut organik tetapi sedikit larut dalam air. Bersifat surfaktan, asam anakardat dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat menyatukan air dengan lemak bila dicampur menjadi satu (Scorzza et al. 2010). Sifat surfaktan ini banyak dimanfaatkan sebagai emulsifier untuk mencampur beberapa bahan dalam industri cat, vernis atau resin.

Asam anakardat sangat labil terhadap panas. Bila suhu panas digunakan dalam proses ekstraksi asam anakardat, maka dapat menyebabkan asam anakardat kehilangan gugus karboksilatnya dan berubah menjadi senyawa kardanol dan karbon dioksida. Perubahan struktur ini tidak hanya menyebabkan perubahan sifat kimia tetapi juga sifat biologisnya akan berubah. Misalnya: asam anakardat memiliki sifat antioksidan yang lebih tinggi dari senyawa kardanol. Hal ini perlu menjadi perhatian ketika mengekstrak asam anakardat dari bahan tanaman untuk tujuan-tujuan yang spesifik. Saat ini, sudah dijual produk ekstrak heksan dari cangkang kacang mete yang proses ekstraksinya menggunakan suhu tinggi atau saat dan disebut technical CNSL (CNSLtek). Produk ini memiliki komposisi asam anakardat dan derivatnya yang berbeda dengan CNSL/ biofat yang diekstrak dengan heksan pada suhu dingin/suhu kamar yaitu senyawa kardanolnya menjadi senyawa utama (73,3%), kardol 16,4%, metilkardol 3,0% dan tidak ada lagi asam anakardatnya (Countiho et al. 2014).

Asam anakardat memiliki kemampuan membentuk kompleks (khelat) yang kuat dengan beberapa mineral bervalensi dua, tetapi kemampuan dalam mengikat dengan mineral bervalensi dua ini sangat selektif dan yang paling kuat adalah Fe^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+} > Ni^{2+} = Co^{2+} = Mn^{2+} (Nagabushana et al. 1995). Bila rasio molar antara asam anakardat dengan mineral (M) 1:1, maka ikatan kompleks yang terbentuk seperti pada Gambar 2 sedangkan rasio molar antara asam anakardat dengan mineral 2:1 maka ikatan kompleks yang terbentuk seperti pada Gambar 3 (Nagabushana et al. 1995; Hamad & Mubofu 2015). Asam anakardat dapat membentuk kompleks yang mengendap dengan Ca^{2+} sehingga dengan prinsip ini, asam anakardat mudah diisolasi dari ekstrak heksan cangkang kacang mete. Selain dengan ion besi yang bervalensi dua (Fe^{2+} , ferrous), asam anakardat mampu bereaksi membentuk kompleks dengan ion besi bervalensi tiga (Fe^{3+} , ferri). Kemampuan asam anakardat membentuk khelat atau kompleks dengan besi dapat menyebabkan terhambatnya aktivitas enzim lipooxygenase yang mengandung besi di dalam tubuh (Tsujimoto et al. 2007). Hayashi et al. (2007) menggunakan negative ion electrospray ionization mass spectrometric [(-)-ESI-MS] memperlihatkan adanya senyawa kompleks asam anakardat C 15:3

dengan Cu^{2+} (bicupric) dengan rasio 2 : 1 yang terdeteksi pada puncak m/z 744.4.



Gambar 3. Kompleks asam anakardat dengan mineral (M) a) rasio 1 : 1, b) rasio 2 : 1 (Hamad & Mubofu 2015).

Bila sebuah senyawa disebut memiliki sifat antioksidan yang tinggi berarti senyawa tersebut memiliki kemampuan mencegah radikal bebas yang terjadi di dalam sel. Asam anakardat dilaporkan memiliki sifat antioksidan dan Kubo et al. (2006) melakukan beberapa uji untuk mengamati mekanisme antioksidan pada asam anakardat. Sifat antioksidan yang dimiliki oleh asam anakardat bukan merupakan “*radical scavenging*” (menahan radikal bebas) tetapi antioksidan yang preventif karena menghambat beberapa enzim “*prooxidant*” seperti xanthine oxidase, lipooxygenase dan mampu menekan malondialdehyde (MDA) (Jiang et al. 2019). Selain itu, asam anakardat mampu membentuk khelat dengan zat besi yang dapat memicu oksidasi (Kubo et al. 2006). Aktivitas antioksidan di dalam asam anakardat sangat dipengaruhi oleh struktur asam anakardat tersebut. Bila gugus asam lemak terlepas dan menjadi asam salisilat, maka sifat antioksidannya akan hilang. Ini berarti ada kontribusi dari gugus asam lemak mempengaruhi aktivitas antioksidan. Di dalam asam lemak itu sendiri ada ikatan rangkap yang ternyata mempengaruhi aktivitas antioksidan. Semakin banyak jumlah ikatan rangkap maka semakin tinggi kemampuan antioksidannya yang ditandai dengan nilai (IC_{50}) yang semakin rendah (Moraes et al. 2017). Asam anakardat yang memiliki ikatan rangkap 3 memiliki kemampuan antioksidan yang lebih tinggi dari pada asam anakardat yang memiliki ikatan rangkap 2 ataupun hanya 1, dengan nilai IC_{50} (menggunakan metode DPPH) masing-masing 810 ppm, 1780 ppm, 2060 ppm (da Silva et al. 2018). Jadi hasil penelitian Moraes et al. (2017) dan da Silva et al. (2018) menunjukkan bahwa

asam anakardat mempunyai kemampuan antioksidan yang menahan radikal bebas. Berbeda dengan Morais et al. (2017), Trevisan et al. (2005) melaporkan bahwa asam anakardat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi karena menghambat timbulnya anion superoxide dan menekan aktivitas xanthine oxidase, jadi bukan menahan radikal bebas. Trevisan et al. (2005) tidak menggunakan metode dengan DPPH tetapi metode superoxide and xanthine oxidase yang mempunyai mekanisme lain untuk mengukur aktivitas antioksidan. Oleh sebab itu, penggunaan metode atau konsentrasi yang berbeda saat menganalisis aktivitas antioksidan dapat menghasilkan hasil yang berbeda.

Karakteristik biologis

Pengaruh asam anakardat terhadap beberapa bakteri penyebab penyakit pada ternak secara in vitro

Karakter biologis suatu senyawa merupakan hal yang penting dipahami agar dapat dimanfaatkan dengan tepat. Karakter biologis biasanya diawali dengan uji *in vitro* dan kemudian untuk mendapatkan level yang tepat, harus diujicobakan secara *in vivo* pada ternak. Secara *in vitro*, senyawa asam anakardat telah diuji untuk dimanfaatkan oleh industri maupun untuk manusia tetapi dalam makalah ini hanya akan dikhususkan pada uji yang berhubungan dengan ternak. Sifat antibakteri asam anakardat adalah sifat biologis yang paling sering dilaporkan. Tabel 2 memperlihatkan kemampuan asam anakardat secara langsung menghambat beberapa macam bakteri penyebab penyakit pada ternak. Uji *in vitro* yang dilakukan untuk melihat aktivitas penghambatan oleh asam anakardat memiliki banyak variasi. Pelarut untuk melarutkan asam anakardat dapat berbeda, misalnya digunakan. Sedangkan konsentrasi asam anakardat berbeda-beda dalam menghambat bakteri-bakteri tersebut, yang mungkin disebabkan oleh metode uji dan jenis bakteri

yang berbeda. Selain penghambatan langsung terhadap bakteri patogen, asam anakardat dapat merangsang pembentukan neutrophil dan meningkatkan fungsi neutrophil dalam membunuh bakteri patogen di dalam tubuh (Holland et al. 2016).

Pengaruh asam anakardat dan derivatnya terhadap beberapa bakteri rumen dan produk fermentasi rumen secara in vitro

Tabel 3 memperlihatkan kemampuan asam anakardat ketika dimasukkan ke dalam media yang mengandung beberapa mikroba di dalam rumen. Dalam pengerjaannya dengan kultur murni, Watanabe et al. (2010) mencari Minimum Inhibition Concentration (MIC) CNSL yang mengandung asam anakardat terhadap beberapa mikroba rumen. Selain itu, Watanabe et al. (2010) menghitung secara kuantitatif sel mikroba menggunakan real time pcr untuk pengaruh penambahan CNSL yang mengandung asam anakardat. Sedangkan Oh et al. (2017) melihat perubahan sel dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dari 4 jenis mikroba rumen yang yang diuji terhadap CNSL yang mengandung asam anakardat. Sel *Ruminococcus flavefaciens* menjadi rusak parah dan pecah dan sangat sensitif terhadap asam anakardat dengan MIC 1,56 µg/mL, sedangkan pada *Butyrivibrio fibrisolvens* timbul gelembung-gelembung pada permukaan sel dan pembelahan sel terhambat dengan MIC 3,13 µg/mL (Oh et al. 2017; Watanabe et al. 2010). Asam anakardat yang bersifat surfaktan akan menurunkan tegangan permukaan sel sehingga merusak membran mikroba. Kerusakan membran mikroba ditunjukkan dengan perubahan bentuk sel yang bervariasi. Hal ini mungkin karena beberapa mikroba yang termasuk Gram positif sangat sensitif terhadap asam anakardat sedangkan beberapa mikroba yang termasuk Gram negatif lebih tahan terhadap asam anakardat.

Tabel 2. Pengaruh asam anakardat terhadap beberapa bakteri penyebab penyakit pada ternak secara *in vitro*

Konsentrasi penghambatan (MIC) Asam anakardat (AA)	Bakteri	Penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri pada ternak	Pustaka
>80 µM	<i>Escherichia coli</i> (K12 – DH5α)	diare	Holland et al. (2016)
78.125 µg/mL	<i>Escherichia coli</i>	diare	Da Silva et al. (2018)
>80 µM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infeksi saluran kencing, mastitis, endometritis	Holland et al. (2016)
20 µM	<i>Staphylococcus aureus</i>	mastitis	Holland et al. (2016)
78.125 µg/mL (campuran AA)	<i>Staphylococcus aureus</i>	mastitis	Da Silva et al. (2018)
5 µM	<i>Streptococcus agalactiae</i>	mastitis	Holland et al. (2016)

Tabel 3. Pengaruh asam anakardat terhadap beberapa bakteri rumen dalam kultur murni

Konsentrasi penghambatan AA	Nama bakteri dan fungsi	Efek AA terhadap bakteri rumen	Pustaka
5-10 mg/60ml (83-166 µg/ml)	<i>Bacteroidetes</i>	Populasi turun dari 30 menjadi 18%	Danielsson et al. (2014)
200 µg/mL	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> D1 - memecah serat, -penghasil hidrogen dan asam butirat	- ukuran bakteri bertambah -pembelahan sel terhambat - struktur permukaan sel tumbuh berubah	Oh et al. (2017)
0-50 µg/mL	<i>Eubacterium ruminantium</i> memecah serat	MIC 6,25 µg/mL	Watanabe et al. (2010)
0-50 µg/mL	<i>Fibrobacter succinogenes</i> -memecah serat -penghasil asam susinat	MIC 12,5 µg/mL	Watanabe et al. (2010)
0-50 µg/ml	<i>Lactobacillus ruminis</i> penghasil asam laktat	MIC 50 µg/mL	Watanabe et al. (2010)
200 µg/mL	<i>Megasphaera elsdenii</i> LC1 penghasil asam propionat	morfologi sel tidak berubah. Populasi meningkat	Oh et al. (2017) Watanabe et al. (2010)
0-50 µg/mL	<i>Prevotella ruminicola</i> penghasil asam susinat dan propionat	MIC 3,13 µg/mL	Oh et al. (2017)
0-50 µg/mL	<i>Ruminococcus albus</i> memecah serat	MIC 6,25 µg/mL	Oh et al. (2017)
200 µg/mL	<i>Ruminococcus flavefaciens</i> C94 -memecah serat	sel rusak	Oh et al. (2017)
200 µg/mL	<i>Selenomonas ruminantium</i> .GA192 penghasil asam propionat membantu pencernaan serat berkolaborasi dengan <i>Fibrobacter succinogenes</i>	morfologi sel tidak berubah	Oh et al. (2017)
0-50 µg/mL	<i>Streptococcus bovis</i> penghasil asam laktat	MIC 25 µg/ml	Watanabe et al. (2010)
0-50 µg/mL	<i>Succinimonas amilolytica</i> -penghasil asam susinat dan	MIC 6,25 µg/ml	Watanabe et al. (2010)

Catatan: AA = Asam anakardat, MIC = Minimum Inhibition Concentration

Tetapi, tidak semua bakteri rumen dapat dihambat oleh fraksi CNSL yang mengandung asam anakardat tinggi. Watanabe et al. (2010) melaporkan bahwa hasil analisis dengan realtime pcr menunjukkan peningkatan populasi dari bakteri *S. dextrinosolvens*, *R. amylophilus*, *A. lipolytica*, *S. ruminantium*, dan *M. elsdenii*. Bakteri penghasil asam propionat termasuk *Megasphaera elsdenii* LC1 dan *Selenomonas ruminantium* GA192 tidak mengalami perubahan baik permukaan sel maupun ukuran sel ketika ditambahkan fraksi CNSL yang mengandung asam anakardat (Watanabe et al. 2010). Bertahannya kedua bakteri ini karena kedua bakteri ini memiliki membran luar yang melindungi sel dari pengaruh surfaktan dari CNSL

sehingga sel kedua bakteri ini tidak pecah atau rusak ketika ditambahkan 200 µg/ml CNSL (Oh et al. 2017).

Pengaruh penambahan minyak cangkang kacang mete (CNSL tanpa panas/ biofat) terhadap pakan yang dimasukkan ke dalam tabung fermentasi rumen in vitro ditampilkan pada Tabel 4. CNSL tanpa panas atau biofat yang mengandung asam anakardat menyebabkan penurunan produksi metana dan asam butirat, dan peningkatan produksi asam propionat di dalam fermentasi rumen (Shinkai et al. 2012, Oh et al. 2017, Saenab et al. 2018). Untuk membuktikan bahwa asam anakardat dalam CNSL/ biofat memegang peranan penting dalam menekan produksi metana maka telah dilakukan dengan dua metode.

Tabel 4. Penambahan CNSL yang mengandung asam anakardat dan derivatnya (kardanol, kardol) ke dalam pakan sapi terhadap produk fermentasi rumen *in vitro*

Penambahan	Cairan rumen ternak & metode	Pakan	pH	CH ₄	NH ₃	total VFA	Asam propionat	KCBK	Pustaka
CNSL mentah 500µg/ml	sapi perah (<i>in vitro batch culture</i>)	0,14g konsentrat dan 0,06g rumput orchard hay	td	turun 57,94%	td	tidak beda	meningkat	td	Watanabe et al. 2010
CNSL mentah 0-200µg/ml	sapi perah (Rusitec)	konsentrat tinggi (8,4g konsentrat dan 3,6g rumput orchard hay	turun dari 6,59 menjadi 6,40 (P<0,01)	turun 35,68-70,13%	naik 5,69% pada 200µg/ml, turun 16,48% pada 200µg/ml	naik 10,43%	naik 14,81-44,44%	td	Watanabe et al. 2010
CNSL mentah 5-10mg/g sampel	sapi laktasi Swedish Red	konsentrat: silase rumput (60:40)	tidak beda	turun 18%	td	tidak beda	meningkat 12,64%	td	Danielsson et al. 2014
CNSL mentah 200µg/ml	sapi perah Holstein	hay: konsentrat bervariasi (9:1 – 1:9b/b)	td	turun 49-61%	td	meningkat 2,51-10,72%	meningkat 24,98-59,22%	td	Oh et al. 2017

Keterangan: td= tidak ada data

Tabel 5. Penambahan CNSL yang mengandung asam anakardat dan derivatnya (kardanol, kardol) ke dalam pakan sapi terhadap produk fermentasi rumen *in vivo*

Penambahan	Ternak	Pakan	pH	CH4	NH3	VFA	Kecernaan	PBBH/ produksi susu	Pustaka
CNSL 2-4g/100kg BB	domba	rumput orchard hay :konsentrat (70:30)	tidak beda	turun 44,58- 61,44%	turun 25,73- 41,08	tidak beda	meningkat 3,64-36,36%	tidak beda	Kang et al 2018
CNSL 4-6g/100kg BB (CNSL dicampur dengan tepung silika)	sapi Lai Sind (sapi lokal Vietnam)	jerami kering: konsentrat (60:40)	tidak beda	turun 2,2–23,4%	tidak beda	propionat meningkat	KCP menurun 5,30% pada 6g/100BB	-	Maeda et al 2021
CNSLmentah 4g/100kg BB	sapi perah tidak laktasi	rumput kering: konsentrat (60:40)	tidak beda	turun 19,3%	tidak beda	propionat meningkat 41,38%	tidak berbeda nyata	-	Sinkai et al 2012, Mitsumori et al 2014
CNSLtek (CNSLdipanaskan) 30g/ekor/hari	sapi perah laktasi			CH4/kg BK konsumsi cenderung turun 8%			tidak beda	produksi susu tidak beda	Branco et al 2015
CNSLtek (CNSLdipanaskan) 300-1200mg/kg (tidak ada asam anakardat)	sapi Holstein dara	konsentrat tinggi	K: 6,05 P: 6,21		tidak beda		tidak beda	PBBH tidak meningkat	Osmari et al 2017
campuran asam anakardat, kardol, kardanol, ricin 0.055% dalam campuran pakan	sapi Nerole x Aberdeen Angus	konsentrat: silase sorghum (60:40)	td	td	td	td	tidak beda	PBBH meningkat	Valero et al 2016

Keterangan: CNSLtek = CNSL teknis, K= kontrol, P = perlakuan

Metode pertama dilakukan oleh Watanabe et al. (2010) yang menambahkan CNSL yang tidak dipanaskan dibandingkan dengan CNSL yang telah dipanaskan ke dalam fermentasi rumen *in vitro*. Watanabe et al. (2010) melaporkan bahwa terlihat penurunan produksi metana pada penambahan CNSL yang tidak dipanaskan (CNSLtp) dan tidak ada efek penurunan produksi metana pada penambahan CNSL yang dipanaskan (CNSLp). Perlakuan pemanasan CNSL akan mengubah senyawa asam anakardat menjadi senyawa kardanol dan senyawa kardanol dalam CNSLp ternyata tidak dapat menurunkan produksi metana sedangkan asam anakardat dalam CNSLtp memiliki kemampuan menekan produksi metana. Metode kedua dilakukan oleh Saenab et al. (2017) dengan cara mengisolasi asam anakardat lalu menambahkan isolat asam anakardat tersebut ke dalam tabung fermentasi *in vitro*. Saenab et al. (2017) melaporkan bahwa asam anakardat menekan produksi metana sebesar 39,6% sedangkan biofat menekan metana sebesar 51,2%. Hal ini berarti asam anakardat merupakan senyawa yang berkontribusi paling besar (utama) di dalam biofat dalam menekan produksi metana. Salah satu penjelasan mengapa asam anakardat menekan produksi metana ditunjukkan oleh Shinkai et al. (2012) bahwa ekspresi methyl coenzyme-M reductase ditekan oleh asam anakardat yang ada di dalam CNSL. Enzim ini merupakan enzim utama dalam sintesis metana yang diekskresikan oleh archaea metanogenik di dalam rumen. Terhambatnya produksi metana mungkin karena terjadi perubahan komposisi archaea metanogenik yaitu meningkatnya populasi *Methanobrevibacter wolinii* dan menurunnya *Methanobrevibacter ruminantium* (Kang et al. 2018). Tetapi fungsi dan peran kedua metanogen ini dalam memproduksi metana belum diketahui secara pasti.

Perlakuan CNSL (asam anakardat) terhadap total gas dan gas metana nyata berbeda dengan kontrol saat rasio konsentrat sama atau lebih tinggi dari hijauan. Penurunan total gas sekitar 23-31% sedangkan penurunan metana lebih besar sekitar 45-50% (Oh et al. 2017). Menurunnya produksi metana di dalam rumen akan mengakibatkan terjadinya kelebihan hidrogen yang dapat digunakan untuk membentuk asam propionat sehingga asam propionat meningkat di dalam rumen secara signifikan ketika ditambahkan biofat /CNSL yang mengandung asam anakardat (Saenab et al. 2018).

Oh et al. (2017) membandingkan CNSL dengan monensin dalam fermentasi *in vitro* menyatakan bahwa efek perubahan dalam menekan metana dan meningkatkan asam propionat lebih besar dibandingkan dengan efek dari monensin. Lebih lanjut, Oh et al. (2017) melaporkan bahwa pengaruh CNSL lebih jelas pada pakan yang semakin tinggi konsentrasinya sehingga CNSL yang mengandung asam anakardat

cocok ditambahkan ke dalam ransum ternak penggemukan yang tinggi konsentrat.

Pengaruh asam anakardat dan derivatnya terhadap fermentasi rumen dan performa ternak

Studi *in vivo* mengenai pengaruh asam anakardat terhadap mikroba rumen maupun terhadap performa ternak ruminansia masih terbatas (Tabel 5). Studi *in vivo* tentang penambahan asam anakardat maupun CNSL yang mengandung asam anakardat lebih ditujukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap komposisi dan keragaman mikroba rumen dan juga terhadap emisi metana oleh domba dan sapi (Shinkai et al. 2012; Kang et al. 2018, Maeda et al. 2021). Percobaan yang mereka lakukan hanya menggunakan 3-4 ekor ternak sapi. Sama seperti *in vitro*, penambahan asam anakardat atau CNSL akan menekan produksi gas metana tetapi meningkatkan total asam lemak terbang dan asam propionat di dalam rumen. Maeda et al. (2021) menggunakan sapi lokal Vietnam (sapi Sind) dalam respiration chamber melaporkan bahwa CNSL menekan populasi *Methanobacteriales* hingga mengakibatkan turunnya emisi gas metana. Maeda et al. (2021) melaporkan bahwa tidak ditemukan adanya pengaruh negatif dari CNSL terhadap konsumsi dan pencernaan pakan pada pemberian CNSL 4g/100kg BB sapi tetapi ketika CNSL ditingkatkan menjadi 6g/100kg BB, maka nilai pencernaan protein pakan menurun secara signifikan (dari 67,9 menjadi 64,3%). Hal ini menunjukkan pemberian CNSL memiliki batas maksimum 4g/100kg BB karena saat jumlah pemberian ditingkatkan, konsumsi dan pencernaan menurun. Kemungkinan adanya pengaruh negatif dari CNSL level tinggi terhadap palatabilitas pakan sehingga konsumsi menurun sedangkan pengaruh negatif CNSL level tinggi terhadap mikroba rumen mungkin menyebabkan nilai pencernaan pakan menurun. Sinkai et al (2012) melakukan 2 eksperimen dengan bentuk pelet CNSL yang berbeda tetapi konsumsi CNSL diatur mendekati sama jumlahnya per hari yaitu 4g/100kg BB. Pada eksperimen 1, CNSL dicampur dengan tepung silika (60 : 40 b/b) lalu dipelet dan diberikan kepada ternak 0,9% dari total ransum tetapi dilaporkan bahwa terjadi masalah konsumsi pelet CNSL ini sehingga membutuhkan waktu lama untuk adaptasi terhadap pakan. Berbeda dengan eksperimen 2 dimana CNSL dicampur dengan bahan pakan (20 : 80 b/b) lalu dipelet dan diberikan kepada ternak sebesar 1,3% dari total ransum. Pada eksperimen 2 tidak ditemukan masalah terhadap palatabilitas pelet CNSL. Karena bentuk CNSL merupakan cairan kental berwarna coklat pekat, maka pemberian CNSL yang mengandung asam anakardat sebaiknya diperhatikan dengan baik dan harus dicampur dengan bahan pakan agar tidak

mempengaruhi konsumsinya. Pada eksperimen 2 pencernaan protein kasar dan NDF hanya sedikit meningkat tapi tidak signifikan berbeda ($P>0,05$). Baik Shinkai et al. (2012) yang menggunakan sapi perah non laktasi maupun Maeda et al. (2021) yang menggunakan sapi lokal Vietnam sama-sama menghasilkan kenaikan asam propionat dan penurunan emisi gas metana dari rumen.

Studi in vivo yang banyak dilaporkan adalah menggunakan CNSL teknis (CNSLtek) untuk ruminansia. CNSL teknis merupakan produk yang lebih umum diproduksi karena waktu prosesnya yang lebih cepat. Komposisi senyawa bioaktif dalam CNSLtek berbeda dengan komposisi dalam CNSLtp (tanpa panas) karena CNSLtek diperoleh dari proses pengepresan dengan panas atau dari proses ekstraksi dengan pelarut organik dalam keadaan panas. Senyawa bioaktif utama asam anakardat mengalami proses dekarboksilasi selama proses pemanasan dan menjadi derivatnya yaitu kardanol sebagai senyawa utamanya (Branco et al. 2015). Ternyata senyawa kardanol di dalam rumen tidak memberikan pengaruh yang sama dengan asam anakardat. Pemberian CNSLtek yang mengandung derivat asam anakardat hingga 30 g per ekor per hari tidak mempengaruhi konsumsi, pencernaan nutrisi dan produksi susu. Selain itu, pada Tabel 5 diperlihatkan bahwa penggunaan produk CNSLtek tidak memberikan pengaruh positif terhadap kadar amonia di dalam rumen dan tidak mempengaruhi konsumsi pakan maupun pencernaan pakan (Osmari et al. 2017).

Penambahan campuran minyak yang mengandung asam anakardat, kardanol, kardanol dengan ricin sebesar 0,055% dalam campuran pakan komplit memberikan perbedaan yang nyata terhadap pertambahan bobot badan dan efisiensi pakan sapi crossbred Nerole x Aberdeen Angus (Valero et al. 2016). Pertambahan bobot badan dapat mencapai 1,53 kg/ekor/hari pada perlakuan campuran minyak yang mengandung asam anakardat dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang hanya menghasilkan pertambahan bobot badan sebesar 1,26 kg/ekor/hari (Valero et al. 2016). Pertambahan bobot badan ini diduga karena penambahan CNSL yang mengandung asam anakardat meningkatkan mikroorganisme rumen penghasil asam propionat yaitu *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium* (Shinkai et al. 2012; Kang et al. 2018) dan juga meningkatkan *Anaerovibrio lipolytica*, dan *Succinivibrio dextrinosolvens* (Shinkai et al. 2012). Hasil Shinkai et al. (2012) diperkuat dengan hasil penelitian Maeda et al. (2021) pada sapi lokal Vietnam yang menyimpulkan bahwa CNSL yang mengandung asam anakardat mengubah diversitas mikrobiom rumen sehingga CNSL terbukti mengaktifkan metabolisme pati, metabolisme dan biosintesis asam lemak termasuk

asam propionat yang akan digunakan untuk proses glukogenesis bagi ternak ruminansia.

Pemanfaatan asam anakardat pada ruminansia di Indonesia

Kemampuan asam anakardat dalam menekan gas metana akan sangat bermanfaat untuk mengurangi pengaruh gas rumah kaca terhadap perubahan iklim dan pemanfaatannya pada ruminansia akan menghasilkan ternak yang baik pertumbuhannya dan juga menghasilkan produk ternak yang ramah lingkungan. Kemampuan antioksidan yang dimiliki asam anakardat atau CNSL telah dilaporkan (Trevisan et al. 2006; Sinurat et al. 2018). Pengujian in vivo terhadap kemampuan antioksidan asam anakardat dan derivatnya perlu dilakukan karena kemampuan antioksidan ini sangat diperlukan untuk menangkal radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh ternak saat ternak mengalami stress oksidatif yang mengarah pada kerusakan sel atau terganggunya fisiologis ternak yang akhirnya mempengaruhi kesehatan ternak.

Sumber asam anakardat yang tertinggi ada pada cangkang kacang mete yang saat ini masih dibuang maka pemanfaatan cangkang kacang mete yang merupakan limbah dari industri kacang mete akan memberikan nilai tambah yang bernilai tinggi karena limbah tersebut masih dapat dimanfaatkan. Cara pemisahan asam anakardat dengan ekstraksi menggunakan pelarut heksana. Pelarut heksana dapat diperoleh kembali dan ditampung ketika ekstrak asam anakardat dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga menghasilkan ekstrak kental disebut biofat (CNSL) yang mengandung asam anakardat tinggi. Pelarut heksana yang diperoleh dapat digunakan untuk ekstrak cangkang mete yang baru lagi sehingga penggunaan pelarut heksana dapat lebih efisien. Residu setelah diekstrak dengan pelarut heksana kemudian dilanjutkan dengan proses pirolisis terhadap limbah cangkang kacang mete dan menghasilkan arang (*biochar*) dan asap cair (*biosmoke*) (Saenab et al. 2016). Keseluruhan proses ini akan menghasilkan 3 produk bioindustri (*biofat*, *biochar*, *biosmoke*) yang akan bermanfaat untuk pertanian khususnya peternakan.

Pemanfaatan asam anakardat sebagai pakan imbuhan di Indonesia menjadi sangat memungkinkan dilakukan di sentra tanaman jambu mete. Publikasi-publikasi yang ada saat ini untuk penggunaan CNSL yang mengandung asam anakardat kebanyakan dalam bentuk campuran CNSL dengan beberapa senyawa aktif sehingga perlu dicari senyawa-senyawa aktif selain asam anakardat yang tersedia melimpah di Indonesia dan menjadi campuran yang paling tepat guna meningkatkan produktivitas ternak ruminansia pada ternak ruminansia di Indonesia.

KESIMPULAN

Senyawa asam anakardat adalah senyawa fenolik yang terdapat di beberapa tanaman yang termasuk dalam famili Anacardiaceae tetapi senyawa ini menjadi senyawa bioaktif yang paling utama pada tanaman kacang mete terutama pada bagian cangkang kacang mete. Senyawa asam anakardat dalam fraksi ekstrak cangkang kacang mete (CNSL atau *biofat*) memiliki beberapa sifat/ aktivitas penting yaitu sifat antibakteri atau anti fungi, aktivitas antioksidan yang tinggi dan pada ternak ruminansia secara konsisten menunjukkan kemampuannya menekan gas metana dan meningkatkan asam propionat yang diproduksi di dalam rumen sehingga asam anakardat dalam biofat atau CNSL dapat menjadi agen pereduksi gas metana dan meningkatkan produksi ternak ruminansia.

DAFTAR PUSTAKA

- Branco AF, Giallongo F, Frederick T, Weeks H, Oh J, Hristov AN. 2015. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. *J Dairy Sci.* 98:4030-4040. doi: 10.3168/jds.2014-9015.
- Coutinho DA, Branco AF, dos Santos GT, Osmari MP, Teodoro AL, Diaz TG. 2014. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. *Acta Scientiarum Anim Sci Maringá.* 36:311-316. doi: 10.4025/actascianimsci.v36i3.2351.
- Da Silva FFM, de Medeiros Costa AK, Barbosa PT, de Paiva Mota JC, de Lemos TLG, de Sousa EYA, Silva KA, de Moraes SM. 2018. Extraction, isolation and chemical modification of the anacardic acids from the peel of the cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.) and biological assay. *Curr Res Bioorg Org Chem.* 2018:1-9. doi: 10.29011/CRBOC-110. 100010.
- Danielsson R, Werner-Omazic A, Ramin M, Schnürer A, Griinari M, Dicksved J, Bertilsson J. 2014. Effects on enteric methane production and bacterial and archaeal communities by the addition of cashew nut shell extract or glycerol - An *in vitro* evaluation. *J Dairy Sci.* 97:5729-5741. doi: 10.3168/jds.2014-7929.
- Georgieva K, Popova M, Dimitrova L, Trusheva B, Thanh LN, Phuong DTL, Lien NTP, Najdenski H, Bankova V. 2019. Phytochemical analysis of Vietnamese propolis produced by the stingless bee *Lisotrigona cacciae*. *PLoS ONE.* 14:e0216074. doi: 10.1371/journal.pone.0216074.
- Hamad FB, Mubofu EB. 2015. Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. *Int J Mol Sci.* 16:8569-8590. doi: 10.3390/ijms16048569.
- Hayashi A, Taniguchi N, Tsujimoto K, Kubo I. 2007. Mass spectrometric elucidation of phenolic oxidation process with Cu²⁺-adducts. *J Mass Spectrom Soc Jpn.* 55:7-13.
- Hollands A, Corriden R, Gysler G, Dahesh S, Olson J, Ali SR, Kunkel MT, Lin AE, Forli S, Newton AC, Geetha B, Kumar GB, Nair BG, Jefferson J, Perry P, Nizet V. 2016. Natural product anacardic acid from cashew nut shells stimulates neutrophil extracellular trap production and bactericidal activity. *J Biol Chem.* 291:13964-13973.
- Jiang X, Zhang H, Mehmood K, Li K, Zhang LH, Yao WY, Tong XO, Li Ay, Wang YP, Jiang JH, Iqbal M, Waqas M, Li, JK. 2019. Effect of anacardic acid against thiram induced tibial dyschondroplasia in chickens via regulation of Wnt4 expression. *Animal* 82:1-10. doi: 10.3390/ani9030082.
- Kang SC, Suzuki R, Suzuki Y, Koike S, Nagashima K, Kobayashi Y. 2018. Rumen responses to dietary supplementation with cashew nut shell liquid and its cessation in sheep. *Anim Sci J.* 89:1549-1555. doi: 10.1111/asj.13100.
- Maeda K, Nguyen VT, Suzuki T, Yamada K, Kudo K, Hikita C, Phong Le VP, Nguyen MC, Yoshida N. 2021. Network analysis and functional estimation of the microbiome reveal the effects of cashew nut shell liquid feeding on methanogen behaviour in the rumen. *Microbial Biotechnol.* 14:277-290. doi: 10.1111/1751-7915.13702.
- Mitsumori M, Enishi O, Shinkai T, Higuchi K, Kobayashi Y, Takenaka A, Nagashima K, Mochizuki M, Kobayashi Y. 2014. Effect of cashew nut shell liquid on metabolic hydrogen flow on bovine rumen fermentation. *Anim Sci J.* 85:227-232.
- Moraes SM, Silva KA, Araujo H, Vieira IGP, Alves DR, Fontenelle ROS, Silva AMS. 2017. Anacardic acid constituents from cashew nut shell liquid: NMR characterization and the effect of unsaturation on its biological activities. *Pharmaceuticals.* 10:1-10. doi: 10.3390/ph10010031.
- Nagabhushana KS, Shobha SV, Ravindrana B. 1995. Selective ionophoric properties of anacardic acid. *J Nat Prod.* 58:807-810.
- Njuku FW, Mwangi PM, Thiong'o GT. 2014. Evaluation of cardanol acetate as a reactive diluent of alkyd coatings. *Int J Adv Res.* 2:928-941.
- Oh S, Shintani R, Koike S, Kobayashi Y. 2016. Ginkgo fruit extract as an additive to modify rumen microbiota and fermentation and to mitigate methane production. *J Dairy Sci.* 100:1923-1934. doi: 10.3168/jds.2016-11928.
- Oh S, Suzuki Y, Hayashi S, Suzuki Y, Koike S, Kobayashi Y. 2017. Potency of cashew nut shell liquid in rumen modulation under different dietary conditions and indication of its surfactant action against rumen bacteria. *J Anim Sci Technol.* 59:27-34. doi: 10.1186/s40781-017-0150-8.

- Osmari MP, Branco AF, Goes RHTB, Diaz TG, Matos LF. 2017. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. *Arch Zootecnia*. 66:375-381.
- Popova M, Trusheva B, Ilieva N, Thanh LN, Lien NTP, Bankova V. 2021. *Mangifera indica* as propolis source: what *Mangifera indica* as propolis source: what exactly do bees collect?. *BMC Res Notes* 14:448. doi: 10.1186/s13104-021-05863-7.
- Ramírez-Gómez XS, Jiménez-García SN, Campos VB and Campos MLG. 2020. Plant metabolites in plant defense against pathogens. In: Topolovec-Pintaric S, editor. *Plant Diseases - Current Threats and Management Trends*. Chapter 4. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.87958.
- Saenab A, Wiryawan KG, Retnani Y, Wina E. 2016. Karakteristik fisik dan kimia dari produk bioindustry cangkang jambu mete (*Anacardium occidentale*) J Littri. 22:81-90. doi: 10.21082/littri.v22n2.2016.81-90.
- Saenab A, Wiryawan KG, Retnani Y, Wina E. 2017. Anacardic acid isolated from cashew nut shell (*Anacardium occidentale*) affects methane and other products in the rumen fermentation. *Media Peternakan*. 40:94-100. doi: 10.5398/medpet.2017.40.2.94.
- Saenab A, Wiryawan KG, Retnani Y, Wina E. 2018. Manipulation of rumen fermentation by bioindustrial products of cashew nut shell (*Anacardium occidentale*) to reduce methane production. *JITV* 23:61-70. doi: 10.14334/jitv.v23i2.1821.
- Salehi B, Gültekin-Özgüven M, Kırkın C, Özçelik B, Morais-Braga MFB, Carneiro NJP, Bezerra F, da Sliva TG, Coutinho HDM, Amina B, Amstrong L, Selamoglu Z, Sevindik M, Yousaf Z, Sharifi-Rad J, Muddathir AM, Devkota HP, Martorell M, Jugran AK, Martins B, Cho WC. et al. 2019. *Anacardium* plants: Chemical, nutritional composition and biotechnological applications. *Biomolecules*. 9:1-34. doi: 10.3390/biom9090465.
- Scorzza C, Nieves J, Vejar F, Bullon J. 2010. Synthesis and physicochemical characterization of anionic surfactants derived from cashew nut shell oil. *J Surfact Deterg*. 13:27–31. doi: 10.1007/s11743-009-1143-5.
- Shinkai T, Enishi O, Mitsumori M, Higuchi K, Kobayashi Y, Takenaka A, Nagashima K, Mochizuki M, Kobayashi Y. 2012. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. *J Dairy Sci*. 95:5308–5316.
- Silva MSS, De Lima SG, Oliveira EH, Lopes JAD, Chaves MH, Reis FAM, Citó AMGL. 2008. Anacardic acid derivatives from brazilian propolis and their antibacterial activity. *Ecl Quím São Paulo*. 33:53-58.
- Sinurat AP, Wina E, Rakhmani SIW, Wardhani T, Haryati T, Purwadaria T. 2018. Bioactive substances of some herbals and their effectiveness as antioxidant, antibacteria and antifungi. *JITV*. 23:18-27. doi: 10.14334/jitv.v23i1.1660.
- Stasiuk M, Kozubek A. 2010. Biological activity of phenolic lipids. *Cell Mol Life Sci*. 67:841–860. doi: 10.1007/s00018-009-0193-1.
- Suo MR, Isao H, Ishida Y, Shimano Y, Bi CX, Kato H, Takano F, Ohta T. 2012. Phenolic lipid ingredients from cashew nuts. *J Nat Med*. 66:133–139. doi: 10.1007/s11418-011-0564-4.
- Trevisan MT, Pfundstein B, Haubner R, Würtele G, Spiegelhalder B, Bartsch H, Owen RW. 2006. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food Chem Toxicol*. 44:188–197. doi: 10.1016/j.fct.2005.06.012.
- Tsujimoto K, Hayashi A, Ha TJ, Kubo I. 2007. Anacardic acids and ferric ion chelation. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 62c:710-716. doi: 10.1515/znc-2007-9-1014.
- Tyman JHP. 2001. Chemistry and biochemistry of anacardic acids. *Recent Res Dev Lipids*. 5:125–145.
- Valero MV, Farias MS, Zawadzki F, Prado RM, Fugita CA, Rivaroli DC, Ornaghi MG, Prado IN. 2016. Feeding propolis or essential oils (cashew and castor) to bulls: performance, digestibility, and blood cell counts. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 29:33-42.
- Watanabe Y, Suzuki R, Koike S, Nagashima K, Mochizuki M, Forster RJ, Kobayashi Y. 2010. *In vitro* evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. *J Dairy Sci*. 93:5258–5267.