

Karakteristik Fermentasi Rumen *In vitro* dengan Penambahan Sabun Kalsium Minyak Nabati pada *Buffer* yang Berbeda

S Suharti¹, DN Aliyah¹, Suryahadi¹

Email kontak:

harti_ss@yahoo.com

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan
Teknologi Pakan Fakultas
Peternakan Institut Pertanian
Bogor

Pengajuan: 3 Des 2018

Diterima: 29 Des 2018

ABSTRACT

Canola oil and flaxseed oil are vegetable oils as potential sources of unsaturated fatty acid that could improve the production and quality of beef meat. However, the use of vegetable oils need to be protected to avoid biohydrogenation by rumen bacteria. The research was aimed to analyse effect of flaxseed/canola oils calcium soap in the different buffer media on *in vitro* fermentation characteristic. The experiment was conducted in a factorial randomized block design with 2 factors and 3 blocks based on rumen sampling time. The first factor was sources of vegetable oils (canola and flaxseed) and the second factor was type of buffer (Kajikawa and Mc.Dougall). Variables observed were pH value, N-NH₃ concentration, total volatile fatty acid (VFA), dry matter and organic matter digestibility. Data were analysed using Analysis of Variance and any significant different further tested using Duncan Multiple Range Test. The results showed that there was no interaction between sources of diet and buffer. Supplementation of canola and flaxseed oils protected by calcium soap at level 6% did not affect pH value, dry matter digestibility, rumen protozoa and total bacteria. The use of different buffers affected pH value, dry matter digestibility, rumen protozoa and total bacteria. It's concluded that the used of flaxseed oil or canola oil calcium soap did not alter rumen fermentation and McDougall buffer could improve *in vitro* fermentation activity compare to Kajikawa buffer.

Keywords: biohydrogenation, calcium soap, canola oil, flaxseed oil, rumen fermentation

ABSTRAK

Minyak tanaman berpotensi sebagai sumber asam lemak tak jenuh pada daging sapi antara lain minyak kanola dan minyak *flaxseed*. Namun, penggunaan minyak tanaman sumber asam lemak tak jenuh tersebut perlu diproteksi sehingga tidak mengalami proses biohidrogenasi oleh bakteri rumen. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan sabun kalsium minyak *flaxseed* dan minyak kanola pada konsentrat sapi potong terhadap karakteristik fermentasi rumen pada *buffer* yang berbeda secara *in vitro*. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok pola faktorial dengan 2 faktor dan 3 kelompok berdasarkan pengambilan cairan rumen. Faktor pertama yaitu jenis minyak nabati (kanola dan *flaxseed*) dan faktor kedua yaitu jenis *buffer* (Kajikawa dan Mc Dougall). Variabel yang diamati meliputi nilai pH rumen, konsentrasi NH₃, produksi VFA total serta pencernaan bahan kering dan bahan organik. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* dan apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi antara jenis ransum dan jenis *buffer*. Suplementasi minyak kanola dan *flaxseed* yang diproteksi dengan teknik sabun kalsium sebesar 6% dalam ransum tidak mempengaruhi nilai pH rumen, pencernaan bahan kering, populasi bakteri total serta protozoa rumen. Penggunaan jenis *buffer* yang berbeda mempengaruhi nilai pH rumen, konsentrasi NH₃ dan pencernaan bahan kering dan bahan organik. Kesimpulan hasil penelitian bahwa penggunaan sabun kalsium minyak *flaxseed* maupun minyak kanola tidak mengganggu fermentasi rumen pada *buffer* media *in vitro* yang berbeda. Penggunaan *buffer* Mc Dougall meningkatkan aktivitas fermentasi dibandingkan *buffer* Kajikawa.

Kata kunci: biohidrogenasi, fermentasi rumen, minyak flaxseed, minyak kanola, sabun kalsium

PENDAHULUAN

Daging dari ternak ruminansia seperti sapi, kambing, dan domba mengandung asam lemak jenuh yang lebih tinggi di dibandingkan non ruminansia (Soeparno 1998). Salah satu strategi efektif untuk meningkatkan produktivitas ternak sapi potong dan sekaligus meningkatkan komposisi asam lemak tak jenuh pada produk daging adalah melalui suplementasi sumber asam lemak tak jenuh asal tanaman yaitu minyak *flaxseed*, minyak kanola, minyak wijen, minyak biji bunga matahari, dan lain-lain. Namun terdapat kendala dalam pemberian lemak (minyak) secara langsung dalam pakan adalah adanya proses hidrogenasi dalam rumen yang mengubah asam lemak tidak jenuh menjadi jenuh serta mengganggu aktivitas mikroba selulolitik sehingga menurunkan laju fermentasi dalam rumen. Apabila kadar lemak di dalam pakan terlalu tinggi maka akan timbul pengaruh negatif lemak terhadap degradasi pakan oleh mikroba dalam rumen (Enjalbert *et al.* 2017). Menurut Jenkins (1993), untuk mencegah terjadinya biohidrogenasi maka lemak (khususnya lemak tak jenuh) yang diberikan harus diproteksi, yang salah satunya dengan cara dibuat sabun kalsium sehingga dapat menurunkan proses biohidrogenasi oleh bakteri rumen.

Minyak nabati yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh dalam jumlah tinggi adalah minyak *flaxseed* dan minyak kanola yang dapat digunakan sebagai pakan sumber asam lemak tidak jenuh untuk ruminansia. Menurut Perez *et al.* (2014) antioksidan dan PUFA omega-3 yang banyak terdapat pada minyak *flaxseed* dapat mengurangi reaktif oksigen dan mencegah terjadinya oksidasi lipid. *Flaxseed* mengandung 32 - 45% lemak, yaitu 51 - 55% alpha - *linolenic acid* (famili Omega 3), 15 - 18% *linoleic acid* (Omega 6) (Carter 1993). Minyak *flaxseed* yang ditambahkan pada pakan sapi potong dapat menghasilkan produk daging dengan peningkatan level asam lemak *linolenic* (Prieto *et al.* 2012). Menurut Hollander *et al.* (2012) minyak kanola mengandung 60% *oleic acid*, 20% *linoleic acid* dan 10% *linolenic acid*. Minyak rape (kanola) mengandung minyak jenuh yang lebih rendah dibandingkan minyak nabati lainnya yaitu sebesar 6%. Menurut Mir *et al.* (1997) penambahan minyak kanola pada pakan kambing atau sapi perah dapat meningkatkan kandungan CLA pada daging. Menurut Hidayah *et al.* (2014) minyak *flaxseed* dan minyak kanola memiliki ketahanan yang lebih tinggi terhadap proses biohidrogenasi didalam rumen. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan minyak kanola dan *flaxseed* yang diproteksi dengan sabun kalsium pada taraf 4% tidak mengganggu populasi dan aktivitas mikroba rumen (bakteri dan protozoa) serta dapat meningkatkan aktivitas fermentasi mikroba rumen sapi potong. Penggunaan minyak pada level 4% tidak mengganggu kondisi pH rumen, cenderung meningkatkan pencernaan bahan organik, konsentrasi amonia dan produksi VFA total. Nilai pH rumen berkisar 6-7 yang masih dalam kisaran normal pH rumen, sehingga tidak mengganggu aktivitas fermentasi mikroba rumen. Menurut Jenkins (1993), penambahan lemak pada pakan

dapat mengganggu fungsi sel membran, aktivitas dan ekspresi enzim hidrolitik mikroba.

Kandungan asam lemak jenuh yang tinggi terjadi secara alami karena adanya proses biohidrogenasi mikroba rumen yang mengubah asam lemak tak jenuh pada pakan menjadi asam lemak jenuh. Proses biohidrogenasi ini merupakan mekanisme detoksifikasi mikroba yang bertujuan untuk menghindari efek bakteriostatik dari asam lemak tak jenuh yang dapat mengganggu integritas sel dan menghambat pertumbuhan mikroba (Maia *et al.* 2010). Oleh sebab itu perlu dilakukan upaya yang dapat mengurangi kandungan asam lemak jenuh daging sapi sehingga lebih aman untuk kesehatan.

Perubahan pH yang besar dapat dicegah dengan penambahan larutan buffer. Penggunaan saliva buatan atau buffer bertujuan untuk mempertahankan pH selama proses fermentasi berlangsung. Ada beberapa macam dan jenis buffer yang digunakan dalam bidang kimia. Salah satunya *buffer* Mc Dougall dan *buffer* Kajikawa. Namun belum ada yang mengkaji perbedaan dari masing-masing *buffer* tersebut dalam penelitian. Oleh karena itu dalam memilih *buffer* perlu memperhatikan pH optimum serta sifat-sifat biologis dari masing-masing *buffer*. Hal tersebut dapat mempengaruhi aktivitas enzim, substrat, atau kofaktor dalam mempertahankan pH rumen. Penelitian ini menggunakan buffer Mc Dougall dan *buffer* Kajikawa yang diharapkan memperoleh *buffer* atau larutan penyangga yang lebih efektif dan efisien dalam penggunaannya.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan sabun kalsium minyak *flaxseed* dan minyak kanola pada level yang lebih tinggi yaitu 6% dalam konsentrat sapi potong terhadap karakteristik fermentasi rumen (nilai pH rumen, VFA total, konsentrasi amonia (NH₃), pencernaan bahan kering, pencernaan bahan organik pada *buffer* yang berbeda secara *in vitro*).

METODE

Ternak dan Ransum

Cairan rumen yang digunakan adalah cairan rumen sapi potong (PO) berfistula yang dipelihara di Laboratorium Lapang LIPI Cibinong. Cairan rumen yang digunakan diambil dari kombinasi tiga ekor sapi potong berfistula. Bahan yang digunakan untuk percobaan *in vitro* adalah ransum kontrol (R0), ransum dengan penambahan minyak *flaxseed* terproteksi sabun kalsium (R1), dan ransum dengan penambahan minyak kanola terproteksi sabun kalsium (R2). Ransum yang disusun adalah 60% hijauan (rumput gajah) dan 40% konsentrat. Ransum perlakuan yang digunakan selama penelitian sudah mencukupi standar kebutuhan sapi potong dengan kebutuhan protein kasar (PK) 11,69% dan *Total Digestible Nutrient* (TDN) 66,15% (Kearl 1982). Komposisi konsentrat disajikan pada Tabel 1 dan kandungan nutrisi ransum perlakuan di sajikan pada Tabel 2.

Tabel 1 Komposisi konsentrat ransum perlakuan

Bahan Pakan	Komposisi		
	R0	R1	R2
Onggok	45	38,3	38,3
Pollard	9	9	9
Bungkil kelapa	28,3	29	29
Molasses	15	15	15
CaCO ₃	1	1	1
Premix	0,2	0,2	0,2
Urea	1,5	1,5	1,5
Sabun kalsium- <i>flaxseed</i>	0	6	0
Sabun kalsium-kanola	0	0	6

Perlakuan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dengan 2 faktor dan 4 ulangan. Faktor pertama adalah penambahan minyak *flaxseed* dan minyak kanola. Faktor yang kedua adalah penggunaan *buffer*, yakni *buffer* Kajikawa dan *buffer* Mc Dougall.

Adapun perlakuan yang digunakan sebagai berikut:

M0Bk = Ransum Kontrol (hijauan : konsentrat = 60% : 40%); *Buffer* Kajikawa

M0Bm = Ransum Kontrol (hijauan : konsentrat = 60% : 40%); *Buffer* Mc Dougall

MfBk = Kontrol + SCa *flaxseed*; *Buffer* Kajikawa

MfBm = Kontrol + SCa *flaxseed*; *Buffer* Mc Dougall

MkBk = Kontrol + SCa kanola; *Buffer* Kajikawa

MkBm = Kontrol + SCa kanola; *Buffer* Mc Dougall

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah karakteristik fermentasi rumen (pH rumen, NH₃, VFA total, pencernaan bahan kering dan bahan organik). Data dianalisis menggunakan *analysis of variance* dan apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test*.

Pembuatan Sabun Kalsium

Prosedur pembuatan sabun kalsium yang digunakan adalah metode dekomposisi majemuk (Jenkin dan Palmquist 1984). Bahan yang digunakan untuk pembuatan sabun kalsium adalah minyak *flaxseed* dan minyak kanola sebagai sumber lemak, Natrium hidroksida (NaOH), Kalsium Klorida (CaCl₂) serta aquadest. Pengamatan dilakukan sebelum pembuatan sabun kalsium terhadap bilangan iod, bilangan penyabunan, dan kandungan asam lemak dari minyak *flaxseed* dan rendemen dari sabun kalsium dihitung. Pembuatan sabun kalsium dimulai dengan pemanasan asam lemak pada heater, kemudian ditambahkan larutan NaOH. Setelah itu ditambahkan larutan CaCl₂. Pendinginan dilakukan setelah pemanasan yang dilakukan pada suhu ruang, setelah didinginkan bahan sabun kalsium dikeringkan pada oven 70°C selama 18 jam. Bahan yang telah dikeringkan selama 18 jam tersebut merupakan produk akhir berupa sabun kalsium.

Tabel 2 Komposisi nutrisi konsentrat dalam 100% Bahan Kering (BK)

Kadar nutrisi	Komposisi (%)		
	R0	R1	R2
BK	86,08	81,04	81,04
Abu	5,49	5,33	5,33
Protein kasar	13,55	13,53	13,53
Lemak kasar	4,96	9,20	10,02
Serat kasar	14,10	13,55	13,55
TDN*	72,39	68,11	68,11

*Berdasarkan perhitungan

Pembuatan Buffer Kajikawa

Pembuatan mineral solution I

Pembuatan larutan sebanyak 1 liter, K₂HPO₄ ditimbang sebanyak 6 g kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter dan dimasukkan ke dalam botol schott.

Pembuatan mineral solution II

Pembuatan larutan sebanyak 1 liter. Bahan yang digunakan yakni NaCl (12g), (NH₄)₂SO₄ (12g), KH₂PO₄ (6g), MgSO₄·7H₂O (2,5g), dan CaCl₂·2H₂O (1,6g). CaCl₂·2H₂O dan MgSO₄·7H₂O dilarutkan terlebih dahulu dengan aquadest sebanyak 300 ml. Kemudian ditambahkan 500 ml aquadest dan diaduk agar bahan tercampur merata. Setelah bahan tersebut larut, bahan lainnya dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml dan diaduk kembali.

Pembuatan Buffer Kajikawa

Metode pembuatan larutan *buffer* Kajikawa adalah metode Kajikawa (2007). Pembuatan larutan sebanyak 1,5 liter. Bahan yang digunakan yakni mineral solution I dan II sebanyak 112,5 ml, 0,1% resazurin sebanyak 1 ml, 8% Na₂CO₃ sebanyak 75 ml dan L-Cysteine.HCl.H₂O (1g). Semua bahan tersebut dilarutkan kecuali L-Cysteine.HCl.H₂O. Kemudian dimasukkan ke dalam *shaker waterbath* selama 15 menit. Setelah itu ditambahkan L-Cysteine.HCl.H₂O dan dialiri O₂ free CO₂ sampai warna merah resazurin hilang.

Pembuatan Buffer Mc Dougall

Metode yang digunakan untuk pembuatan *buffer* Mc Dougall adalah metode McDougall (1948) (Tilley dan Terry 1963). Pembuatan larutan 1 liter. Bahan yang digunakan yakni NaHCO₃ (9,8 g), Na₂HPO₄·7H₂O (7 g), KCl (0,57 g), NaCl (0,47 g), MgSO₄·7H₂O (0,12 g) dan CaCl₂ (0,04 g). Semua bahan tersebut dilarutkan kecuali CaCl₂, setelah semua bahan larut ditambahkan CaCl₂. Kemudian ditambahkan aquadest sampai permukaan air mencapai tanda tera. Setelah itu campuran tersebut di aliri dengan gas CO₂ selama 15 menit.

Uji Fermentabilitas dan Pencernaan secara *In Vitro*

Metode yang digunakan untuk uji fermentasi ransum berdasarkan Tilley dan Terry (1963) yang dimodifikasi. Tabung fermentor diisi dengan 600 mg sampel ransum

dengan perbandingan rasio hijauan dan konsentrat sebesar 60% : 40%. Setelah itu sampel perlakuan ditambahkan 10 ml cairan rumen dan 50 ml *Buffer*. Setiap perlakuan sample di lakukan duplo. Ransum yang ditambahkan pada perlakuan masing-masing ditimbang lalu dimasukkan ke dalam tabung fermentor. Saliva buatan (*buffer* Kajikawa) sebanyak 50 ml, (*buffer* Mc Dougall) sebanyak 40 ml dan cairan rumen sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung fermentor yang telah berisi sampel. Kemudian, Gas CO₂ dialirkan ke dalam tabung selama 30 detik dan tabung fermentor ditutup dengan penutup karet berventilasi. Tabung dimasukkan ke dalam *shaker water bath* dengan suhu 39°C, dilakukan fermentasi selama 4 jam untuk sampel VFA, NH₃, dan pengukuran pH serta fermentasi 48 jam untuk sampel KCBK dan KCBO. Menghentikan fermentasi tutup karet berventilasi dibuka dan ditetesi 2 tetes HgCl₂. Seluruh isi dari tabung fermentor (inkubasi 4 jam) disentrifugasi untuk mendapatkan supernatan yang digunakan untuk analisis VFA dan NH₃.

Pengukuran Kecernaan Bahan Kering dan Organik

Kecernaan bahan kering dan bahan organik ditentukan menggunakan prosedur Tilley dan Terry (1963). Sampel fermentasi selama 48 jam ditetesi HgCl₂, setelah itu sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Hasil sentrifugasi menghasilkan supernatan dan endapan, kemudian supernatan dan endapan dipisahkan. Endapan tersebut dilarutkan dengan 50 ml larutan pepsin-HCl dengan menggunakan vortex. Campuran tersebut diinkubasi selama 48 jam dan ditutup menggunakan aluminium foil. Setelah 48 jam sampel disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman 41 dengan bantuan pompa vakum. Hasil saringan dimasukkan ke dalam cawan porselen yang sebelumnya sudah di oven 105°C dan sudah diketahui berat cawan kosong. Sampel dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 24 jam untuk memperoleh bahan kering dan sampel diabukan ke dalam tanur selama 6 jam pada suhu 400-600°C. Koefisien Cerna Bahan Kering (KCBK) dan Koefisien Cerna Bahan Organik (KCBO) dihitung dengan rumus:

$$\text{KCBK} = \text{BK Sampel} - \frac{(\text{BK Residu} - \text{BK Blanko})}{\text{BK Sampel}} \times 100\%$$

$$\text{KCBO} = \text{BO Sampel} - \frac{(\text{BO Residu} - \text{BK Blanko})}{\text{BK Sampel}} \times 100\%$$

Keterangan: BK=Bahan Kering, BO=Bahan Organik

Pengukuran pH

Sampel dari fermentasi selama 4 jam diukur dengan menggunakan pH meter. Nilai pH yang diambil merupakan nilai pH yang konsisten ditunjukkan pH meter.

Pengukuran Konsentrasi NH₃ (Metode Mikrodifusi Conway)

Konsentrasi NH₃ di dalam cairan rumen diukur menggunakan metode mikrodifusi Conway (General Laboratory Procedure 1966). Cara pertama bibir cawan Conway diolesi dengan vaselin. Sampel supernatan diperoleh dari hasil sentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit. Kemudian 1 ml sampel diletakkan dalam satu sisi sekat conway dan pada posisi sekat lainnya diletakkan 1 ml larutan Na₂CO₃ jenuh. Posisi cawan Conway dimiringkan agar kedua larutan tersebut tidak bercampur sebelum cawan ditutup rapat. Pada bagian tengah diletakkan 1 ml asam borat. Kemudian cawan diletakkan mendatar sehingga larutan Na₂CO₃ jenuh bercampur dengan supernatan dan dalam reaksi tersebut dilepaskan gas amonia. Amonia yang dibebaskan akan segera ditangkap oleh asam borat. Proses ini akan berlangsung sempurna setelah 24 jam, kemudian asam borat dititrasi dengan H₂SO₄ 0,006 M sampai terjadi perubahan warna dari biru ke merah muda. Kadar amonia dapat dihitung dengan rumus:

$$N - \text{NH}_3 \text{ (mM)} = \frac{(\text{ml H}_2\text{SO}_4 \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1000\text{g})}{\text{g sampel} \times \text{BK Sampel}}$$

Analisis Produksi VFA Total

Pengukuran konsentrasi VFA dengan menggunakan metode steam destilasi (General Laboratory Procedures 1966). Prosedur pengukuran VFA, pertama dipersiapkan alat destilasi yaitu dengan mendidihkan air dan mengalirkan air ke kondensor atau pendingin. Kemudian masukkan 5 ml sampel dan 1 ml H₂SO₄ 15% ke dalam alat destilasi. VFA yang dihasilkan ditangkap dengan 5 ml NaOH 0,5N yang dimasukkan dalam labu *erlenmeyer*. Cairan ditampung hingga mencapai 250 ml setelah itu cairan Pp atau phenoptalien ditambahkan sebanyak 2 tetes sebagai indikator dan dititrasi dengan larutan HCl 0,5 N. Produksi VFA total dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{VFA Total} = \frac{(\text{B} - \text{S}) \times \text{Normalitas HCl} \times 1000/5}{\text{g sampel} \times \text{BK Sampel}}$$

Keterangan: B= Volume titrasi blanko, S= Volume titrasi sampel

Tabel 3 Nilai pH rumen dengan penambahan sabun kalsium dari ransum dan *buffer* yang berbeda

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
Ransum kontrol	6,75±0,31	6,93±0,15	6,84±0,24
K+Sabun Ca-Kanola	6,63±0,27	6,95±0,25	6,79±0,30
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	6,65±0,24	6,50±0,25	6,80±0,28
Rataan	6,68±0,25 ^b	6,94±0,20 ^a	

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$)

Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis ragam *Analysis of Variance*, jika perlakuan terdapat perbedaan nyata maka akan dilakukan uji lanjut Duncan Multiple Range Test (Mattjik dan Sumertajaya 2002) dan Uji T dengan menggunakan *software* statistik SPSS 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Fermentasi

Nilai pH rumen

Tidak ada interaksi antara penggunaan jenis sabun kalsium minyak nabati dan *buffer* yang berbeda terhadap nilai pH rumen. Penggunaan ransum yang berbeda tidak nyata mempengaruhi nilai pH rumen. Penggunaan jenis *buffer* Kajikawa sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan nilai pH rumen. Hasil pengukuran nilai pH disajikan pada Tabel 3.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi minyak kanola dan *flaxseed* yang diproteksi dengan sabun kalsium sebesar 6% dalam ransum tidak mempengaruhi nilai pH rumen. Hasil penelitian Jalc *et al.* (2007) menunjukkan bahwa penambahan sebesar 3,5% asam lemak tak jenuh (oleat, linoleat, dan α -linolenat) pada ransum berbasis 80% lucerne and 20% barley belum memberikan perubahan terhadap nilai pH rumen yaitu berkisar 6,73 – 6,93. Rataan nilai pH rumen menggunakan *buffer* Kajikawa lebih rendah dibandingkan menggunakan *buffer* Mc Dougall. Nilai pH yang rendah menunjukkan berlangsungnya fermentasi didalam rumen. Sayuti (1989) menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi pH rumen adalah aktivitas fermentasi atau produk dari fermentasi. Derajat keasaman (pH) cairan rumen merupakan salah satu indikator yang menunjukkan berlangsungnya proses fermentasi di dalam rumen. Nilai pH rumen yang diukur baik menggunakan *buffer* Kajikawa dan *buffer* Mc.Dougall menunjukkan bahwa nilai tersebut berada pada batas normal pH rumen yaitu 6,6 – 6,9, sehingga tidak mengganggu aktivitas mikroba di dalam rumen. Mikroba rumen berada pada kondisi pH yang sesuai maka proses pertumbuhan dan metabolisme mikroba tidak akan terganggu sehingga aktivitas mikroba berjalan dengan normal dan proses pencernaan bahan pakan akan optimal. Nilai pH cairan rumen memegang peranan penting dalam mengatur beberapa proses dalam rumen, baik mendukung pertumbuhan mikroba rumen maupun

Tabel 4 Konsentrasi amonia dengan penambahan sabun kalsium dari ransum dan *buffer* yang berbeda

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
Ransum kontrol	51,70±2,49	11,81±3,24	31,75±21,49
K+Sabun Ca-Kanola	47,84±4,30	11,47±1,57	29,66±19,67
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	46,18±4,08	10,79±2,13	28,49±19,15
Rataan	48,57±4,13 ^a	11,36±2,23 ^b	

menghasilkan produk berupa VFA dan NH_3 . Selain itu peningkatan fermentasi ransum dapat meningkatkan konsentrasi VFA total yang merupakan produk dari fermentasi ransum yang dilakukan oleh bakteri dalam rumen.

Menurut Kowalski (1997) penambahan minyak kanola bersifat *inert* didalam rumen sehingga tidak mengubah pH rumen. Minyak yang dilindungi sabun kalsium tidak akan mempengaruhi nilai pH rumen karena minyak tersebut akan langsung dibawa ke abomasum sehingga sabun kalsium akan terpisah secara sempurna pada kondisi asam abomasum. Menurut Jenkins (1993) penambahan lemak pada pakan dapat mengganggu fungsi sel membran, aktivitas dan ekspresi enzim hidrolitik mikroba, dan penyerangan sel mikroba pada permukaan tanaman.

Konsentrasi amonia (NH_3)

Tidak ada interaksi antara penggunaan ransum dan jenis *buffer* yang berbeda terhadap konsentrasi amonia. Penggunaan ransum yang berbeda berpengaruh tidak nyata terhadap konsentrasi amonia. Penggunaan jenis *buffer* Kajikawa sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan nilai konsentrasi amonia (Tabel 4). Penggunaan *buffer* Kajikawa menghasilkan produksi yang lebih besar dibandingkan dengan *buffer* Mc Dougall. Hal tersebut terjadi karena dalam pembuatan larutan *buffer* Kajikawa menggunakan bahan yang mengandung ammonium, sehingga di dalam rumen akan cepat di degradasi menjadi amonia. Konsentrasi amonia pada ransum yang mengandung minyak kanola dan minyak *flaxseed* cenderung menurun dibandingkan dengan kontrol, namun nilai amonia minyak kanola lebih tinggi dibandingkan minyak *flaxseed*.

Amonia merupakan sumber nitrogen utama untuk sintesis protein mikroba, oleh karena itu konsentrasinya dalam rumen merupakan suatu hal yang perlu diperhatikan. Mc Donald *et al.* (2002) menyatakan bahwa konsentrasi optimum dari amonia yaitu berkisar 85 sampai 300 mg/l yang setara dengan 6–21 mM. Protein ransum di dalam rumen dipecah oleh mikroba menjadi peptida dan asam amino, beberapa asam amino dipecah lebih lanjut menjadi amonia. Amonia diproduksi

Tabel 5 Produksi VFA total dengan penambahan sabun kalsium dari ransum dan *buffer* yang berbeda

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
	-----mM-----		
Ransum kontrol	113,93±5,65	120,38±5,62	117,16±6,16 ^b
K+Sabun Ca-Kanola	157,66±17,03	147,77±9,80	152,72±13,56 ^a
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	141,08±15,04	160,73±15,0	150,90±17,21 ^a
Rataan	137,56±22,42	142,96±20,16	

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$)

bersama dengan peptida dan asam amino yang akan digunakan oleh mikroba rumen dalam pembentukan protein mikroba (Mc Donald *et al.* 2002). Kadar amonia dalam rumen merupakan petunjuk antara proses degradasi dan proses sintesis protein oleh mikroba rumen. Jika pakan defisien akan protein maka konsentrasi amonia dalam rumen akan rendah dan pertumbuhan mikroba rumen akan lambat yang menyebabkan turunnya pencernaan ransum. Rataan konsentrasi amonia menggunakan *buffer* Mc Dougall cenderung menurun. Penurunan konsentrasi amonia pada penggunaan sabun kalsium diduga karena kemampuan sabun kalsium dalam melindungi protein dari degradasi mikroba rumen. Hasil penelitian Kowalski *et al.* (1997) menyatakan bahwa semakin tinggi rasio penggunaan sabun kalsium dari asam lemak *rape seed* yang dikombinasikan dengan bungkil kedelai semakin menurunkan ($P < 0,01$) tingkat degradasi protein di dalam rumen. Seperti diketahui bahwa amonia merupakan produk akhir dari degradasi protein ransum oleh mikroba rumen. Konsentrasi amonia yang tinggi tersebut juga memungkinkan peningkatan sintesis protein mikroba pada sistem rumen karena amonia merupakan prekursor utama dalam pembentukan sel mikroba. Hal ini dapat memberikan efek yang positif pada performa ternak karena sintesis protein mikroba yang tinggi dapat mensuplai protein dengan kualitas asam amino seimbang untuk tubuh ternak.

Produksi VFA Total

Tidak ada interaksi antara penggunaan ransum dan *buffer* yang berbeda terhadap produksi VFA total. Penggunaan ransum dengan penambahan minyak kanola sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan produksi VFA total. Penggunaan jenis *buffer* yang berbeda tidak nyata mempengaruhi produksi VFA total. Hasil pengukuran produksi VFA total disajikan pada Tabel 5.

Kandungan VFA merupakan hasil aktivitas bakteri dalam melakukan fermentasi di dalam rumen, sehingga jika bakteri semakin banyak akan menghasilkan VFA yang

Tabel 6 Populasi protozoa dengan penambahan minyak kanola dan *flaxseed* yang diproteksi sabun kalsium

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
	-----log sel/ml-----		
Ransum kontrol	4,08±0,18	3,95±0,13	5,02±0,16
K+Sabun Ca-Kanola	3,77±0,33	3,85±0,26	4,81±0,28
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	3,94±0,40	3,94±0,13	4,94±0,21
Rataan	4,89±0,28 ^a	4,91±0,17 ^b	

semakin banyak pula. Dengan adanya mineral kalsium ini akan meningkatkan populasi dan aktivitas bakteri rumen sehingga dapat meningkatkan fermentasi ransum. Hasil ini linier dengan data populasi bakteri pada Tabel 7 yang menunjukkan terjadinya peningkatan populasi bakteri walaupun tidak nyata secara statistik, terlihat bahwa penambahan minyak kanola yang terproteksi sabun kalsium memiliki populasi bakteri cenderung meningkat. Produksi VFA total dengan suplementasi sabun kalsium minyak kanola menandakan bahwa minyak kanola yang diproteksi dengan sabun kalsium mampu memberikan sumbangan energi paling tinggi untuk ternak ruminansia. Hal ini diduga disebabkan tingginya kandungan asam *oleic acid* (C18:1). Menurut Hollander *et al.* (2012), minyak kanola mengandung 60% *oleic acid*, 20% *linoleic acid* dan 10% *linolenic acid*. Asam lemak omega 3 ini merupakan asam lemak tidak jenuh rantai panjang yang berfungsi sebagai sumber energi, pembawa vitamin, meningkatkan efisiensi ransum dan pencernaan ransum (Prawirokusumo 1993). Jenkin *et al.* (2008) menyatakan bahwa lipid yang masuk ke dalam rumen akan mengalami lipolisis, sehingga menyebabkan lemak di degradasi menjadi asam lemak dan gliserol. Selanjutnya gliserol akan di konversi menjadi VFA.

Peningkatan jumlah VFA menunjukkan mudah atau tidaknya ransum tersebut difermentasi oleh mikroba rumen. Oleh sebab itu, produksi VFA di dalam cairan rumen dapat digunakan sebagai tolok ukur fermentabilitas ransum. VFA (*Volatile Fatty Acid*) merupakan produk akhir fermentasi utama yang berfungsi sebagai sumber energi bagi ternak ruminansia dan merupakan sumber kerangka karbon bagi pembentukan protein mikroba. VFA sangat penting karena sebagai sumber energi yang memenuhi sekitar 50 sampai 70% dari kebutuhan energi ternak ruminansia (Damron 2006). Produksi VFA yang tinggi merupakan kecukupan energi bagi ternak (Sakinah 2005). Bhatt *et al.* (2013) melaporkan bahwa penambahan 4% minyak rice bran dalam bentuk sabun kalsium secara *in vivo* nyata meningkatkan ($P < 0,05$) produksi VFA total, pertambahan bobot badan, bobot badan, konsumsi bahan kering dan

Tabel 7 Populasi bakteri total dengan penambahan minyak kanola dan *flaxseed* yang diproteksi sabun kalsium

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
	-----log cfu/ml-----		
Ransum kontrol	6,00±0,25	6,68±0,76	6,45±0,70
K+Sabun Ca-Kanola	6,50±0,72	6,27±0,25	6,38±0,58
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	6,12±0,33	6,27±0,18	6,17±0,28
Rataan	6,25±0,58	6,41±0,47	

menurunkan rasio konsumsi ransum (FCR) dibandingkan dengan penambahan minyak dalam bentuk bebas ataupun kontrol (tanpa penambahan minyak). Menurut Mir *et al.* (1997), penambahan minyak kanola pada pakan kambing atau sapi perah dapat meningkatkan kandungan CLA pada daging.

Populasi Protozoa dan Bakteri Rumen

Tidak ada interaksi antara penggunaan ransum dan *buffer* yang berbeda terhadap populasi protozoa dan populasi bakteri total. Suplementasi Sabun Ca-kanola dan Sabun Ca-*flaxseed* sampai level 6% dalam konsentrat tidak nyata menurunkan populasi bakteri total dan populasi protozoa dalam rumen. Penggunaan jenis *buffer* yang berbeda tidak nyata meningkatkan populasi bakteri total, tetapi *buffer* Mc Dougall sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan populasi protozoa. Data populasi protozoa dan populasi bakteri total disajikan pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Penambahan minyak dengan level 6% belum memperlihatkan tingkat toksik. Rataan populasi protozoa menggunakan *buffer* Mc Dougall lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata populasi protozoa menggunakan *buffer* Kajikawa. Penurunan populasi protozoa diharapkan dapat meningkatkan populasi bakteri dan mempengaruhi karakteristik fermentasi rumen. Protozoa mempunyai peranan penting pada aspek tertentu dari metabolisme dalam rumen. Protozoa berkembang di dalam rumen dalam kondisi anaerob dan mempengaruhi proses fermentasi karbohidrat ransum. Dengan adanya protozoa, sebagian bakteri dimakan sehingga zat yang mudah difermentasi agak lambat difermentasi dan pH tidak menurun dengan drastis. Selain itu, kemampuan protozoa untuk memangsa bakteri juga akan menjaga kestabilan proses fermentasi dalam rumen. Walaupun populasinya hanya setengah dari populasi bakteri yang ada dalam rumen, tetapi biomasanya jauh lebih besar yaitu mencapai 50% dari total biomassa seluruh mikroba rumen (Jouany 1991). Hanim *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa kehadiran protozoa menurunkan jumlah bakteri didalam rumen. Protozoa yang kalah bersaing dengan bakteri menyebabkan pemangsaan bakteri oleh protozoa berkurang. Protozoa merupakan predator bagi sebagian bakteri untuk memenuhi kebutuhan proteinnya. Penurunan populasi protozoa pada rumen memberi

kesempatan pada beberapa bakteri berkembang karena mengurangi kompetisi nutrisi antara bakteri dan protozoa.

Minyak telah banyak digunakan untuk defaunasi dalam rumen. Pada kondisi terjerat oleh minyak, protozoa tidak memiliki aktivitas lipolitik sebaik bakteri, sehingga aktivitas metabolik protozoa terganggu dan banyak protozoa yang mati pada kondisi lemak tinggi di dalam rumen. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Pantoja *et al.* (1994) bahwa lemak sebagai senyawa non polar di dalam rumen cenderung berasosiasi dengan partikel ransum dan mikroba rumen, bentuk asosiasinya berupa penutupan permukaan secara fisik oleh lemak. Kondisi tersebut menyebabkan akses mikroba terhadap partikel ransum tersebut menjadi terhambat dan pada akhirnya akan menurunkan metabolisme mikroba rumen. Penambahan minyak kelapa paling besar pengaruhnya terhadap defaunasi, hal ini disebabkan karena MCFA yang terkandung di dalam minyak kelapa yaitu *lauric acid* dapat meningkatkan sensitivitas mikroba pada struktur dinding sel, sehingga dapat menghambat ciliate protozoa dan gram positif archaea (Machmuller 2006). Penambahan *Medium chain fatty acid* (MCFA) berupa *lauric acid* murni sebanyak 5% (wt/vol) pada substrat berupa biji *barley* (90% DM) menyebabkan penurunan protozoa bersilia hingga mencapai 99,8%, sedangkan penambahan MUFA (*mono unsaturated fatty acids*) berupa *oleic acid* dan PUFA (*polyunsaturated fatty acids*) berupa *linoleic acid* sebanyak 5% (w/vol) pada substrat yang sama, berpengaruh secara nyata terhadap penurunan jumlah protozoa masing-masing sebesar 10,74% dan 14,90% (Hristov *et al.* 2004).

Penambahan lemak sampai level 6% dalam konsentrat sapi potong tidak memberikan efek yang negatif pada populasi dan aktivitas mikroba rumen. Seperti telah diketahui bahwa, asam lemak tak jenuh yang tinggi dalam rumen dapat menyebabkan toksik bagi bakteri rumen serta menghambat aktivitas mikroba dalam mendegradasi ransum. Bila kadar lemak di dalam pakan terlalu tinggi (di atas 5% dari total ransum) maka akan timbul pengaruh negatif lemak terhadap pencernaan serat pakan di dalam rumen. Lemak akan menyelubungi serat pakan sehingga mikroba rumen tidak mampu mendegradasi serat serta PUFA (lemak tidak jenuh majemuk) bersifat toksik terhadap bakteri rumen tertentu sehingga terjadi perubahan populasi mikroba di dalam rumen. Rataan populasi bakteri total menggunakan *buffer* Mc Dougall cenderung meningkat. Faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas populasi mikroba rumen adalah temperatur, pH, kapasitas *buffer*, tekanan osmotik, kandungan bahan kering dan potensial oksidasi reduksi (Dehority 2004). Suasana pH rumen yang asam (pH rendah) dapat menyebabkan menurunnya aktivitas mikroba dalam rumen (Mahesti 2009). Kondisi pH rendah akan menghambat pertumbuhan bakteri selulolitik, sehingga akan menghambat pencernaan hijauan. Namun demikian, pH rumen yang dihasilkan masih dalam batas normal pH rumen untuk pertumbuhan dan aktivitas

Tabel 8 Kecernaan bahan kering dengan penambahan minyak kanola dan flaxseed yang diproteksi sabun kalsium

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
Ransum kontrol	64,40±8,50	69,59±6,93	67,00±7,49
K+Sabun Ca-Kanola	65,43±8,40	70,16±6,53	67,79±7,21
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	65,39±7,90	67,35±2,02	66,37±5,27
Rataan	65,07±7,18 ^b	69,03±5,03 ^a	

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$)

mikrobia rumen atau untuk proses fermentasi di dalam rumen. Hal ini sesuai dengan pendapat (Woolford 1984) bahwa derajat keasaman akan menentukan mikroorganisme yang aktif dalam fermentasi.

Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik

Tidak ada interaksi antara penggunaan ransum dan buffer yang berbeda terhadap kecernaan bahan kering (KCBK) dan kecernaan bahan organik (KCBO). Penggunaan ransum yang berbeda tidak nyata mempengaruhi kecernaan bahan kering dan bahan organik. Penggunaan jenis *buffer* Kajikawa sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan KCBK dan KCBO. Hasil pengukuran kecernaan bahan kering dan bahan organik disajikan pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Kecernaan bahan kering menggambarkan senyawa protein, karbohidrat, lemak, dan mineral yang dapat dicerna oleh ternak. Kecernaan bahan organik menggambarkan daya cerna bahan organik dalam bahan makanan selain mineral (abu). Rataan KCBK pada penelitian ini berkisar dari 65,07%-69,03% dan KCBO 73,72% - 78,88%. Rataan kecernaan ransum ini masih tergolong tinggi karena lebih dari 60%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kecernaan bahan kering dan bahan organik menggunakan *buffer* Kajikawa lebih rendah jika dibandingkan dengan *buffer* Mc Dougall. Meningkatnya kecernaan bahan kering dan bahan organik tersebut mampu meningkatkan kecernaan serat.

Semakin tinggi nilai kecernaan bahan kering ransum maka semakin banyak nutrisi yang dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Dengan adanya suplementasi lemak yang diproteksi dapat menekan atau menurunkan efek negatif terhadap kecernaan serat. Pada ransum yang mendapat penambahan sabun kalsium akan mengakibatkan kandungan abu lebih tinggi dari pada perlakuan ransum kontrol, sedangkan kadar abu merupakan salah satu faktor yang menurunkan kecernaan nutrisi lainnya. Bahan organik merupakan bagian dari bahan kering, sehingga apabila bahan kering meningkat akan meningkatkan bahan organik, begitu juga sebaliknya. Oleh karena itu, hal tersebut juga akan berlaku pada nilai

Tabel 9 Kecernaan Bahan Organik dengan penambahan minyak kanola dan flaxseed yang diproteksi sabun kalsium

Jenis Ransum	Jenis <i>Buffer</i>		Rataan
	Kajikawa	Mc Dougall	
Ransum kontrol	74,42±12,54	81,48±10,05	77,95±10,88
K+Sabun Ca-Kanola	73,69±11,66	79,44±9,14	76,57±9,89
K+Sabun Ca- <i>Flaxseed</i>	73,06±10,78	75,71±2,70	74,38±7,17
Rataan	73,72±10,13 ^b	78,88±7,38 ^a	

kecernaannya, apabila KCBK meningkat tentu KCBO juga akan meningkat.

Penambahan mineral khususnya Ca dapat meningkatkan kecernaan dari ransum yang disuplementasi lemak. Selanjutnya dinyatakan bahwa penggunaan sabun kalsium yang tidak larut mampu meniadakan efek asam lemak terhadap bakteri, sehingga kecernaan serat dalam ransum dapat meningkat. Peningkatan KCBO selalu diiringi dengan meningkatnya KCBK ransum karena sebagian besar komponen BK terdiri atas BO sehingga faktor-faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya KCBK akan mempengaruhi juga tinggi rendahnya KCBO ransum.

Suplementasi lemak terproteksi pada level 2,5% dilaporkan dapat menurunkan konsumsi ransum pada sapi yang digemukkan (feedlot) tanpa mempengaruhi performans ternak sehingga efisiensi ransum menjadi lebih baik (Gillis *et al.* 2004). Hasil yang sama dilaporkan oleh Jalc *et al.* (2007) yang menambahkan asam lemak tak jenuh berbeda yaitu *oleic acid*, *linoleic acid* dan *α-linolenic acid* sebesar 3,5% pada ransum berbasis 80% *lucerne* and 20% *barley* tidak menurunkan kecernaan bahan kering dan degradasi NDFnya. Sirohi *et al.* (2001) melaporkan bahwa penambahan minyak yang diproteksi dalam bentuk sabun kalsium dengan jenis berbeda yaitu minyak kedelai dan mustard plus mahua pada ransum berbasis jerami gandum memberikan respon sama terhadap kecernaan bahan pakan. Penambahan minyak dengan level 4% baik dalam bentuk bebas (tanpa proteksi) dan proteksi (sabun kalsium dan mikroenkapsulasi), memberikan pengaruh yang sama terhadap KCBK dan KCBO (Hidayah *et al.* 2014). Hal ini menandakan bahwa penambahan minyak pada level 4% dalam bentuk bebas belum mengganggu kecernaan bahan pakan. Sebaliknya hasil penelitian Alexander *et al.* (2002) menunjukkan bahwa penambahan 5% minyak bunga matahari dalam bentuk bebas secara *in vivo* pada pakan 60% hay Brazilian napier dan 40% konsentrat sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan kecernaan bahan kering, Protein Kasar (PK), NDF, ADF, hemiselulosa, dan selulosa dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan minyak). Penurunan kecernaan bahan pakan semakin meningkat dengan penambahan 10%

minyak bunga matahari dalam bentuk bebas. Penambahan minyak bunga matahari dalam bentuk sabun kalsium sampai 10% tidak menurunkan pencernaan bahan kering, PK, NDF, dan ADF namun meningkatkan konsumsi TDN pakan. Penambahan mineral khususnya Ca (kalsium) dapat meningkatkan pencernaan dari ransum yang disuplementasi lemak. Sabun kalsium ini merupakan bentuk lemak terlindung dan merupakan sumber lemak yang efektif dalam bahan pakan ternak ruminansia penghasil daging dan susu.

SIMPULAN

Suplementasi sabun kalsium minyak kanola (Sabun Cakanola) dan sabun kalsium minyak *flaxseed* (Sabun Caxflaxseed) pada level 6% belum memberikan perubahan pada nilai pH rumen, konsentrasi amonia (NH₃), populasi bakteri total, populasi protozoa, serta pencernaan bahan kering dan bahan organik, namun mampu meningkatkan produksi VFA total. Penggunaan *buffer* Mc Dougall dibandingkan *buffer* Kajikawa cenderung meningkatkan populasi bakteri total, pencernaan bahan kering dan bahan organik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander G, Prabhakara Rao Z & Rama Prasad J. 2002. Effect of supplementing sheep with sunflower acid oil or its calcium soap on nutrient utilization. *Asian-Aust J Anim Sci.* 15 (9): 1288-1293
- Bhatt RS, Karim SA, Sahoo A & Shinde AK. 2013. Growth performance of lambs fed diet supplemented with rice bran oil as such or as calcium soap. *Asian-Aust J Anim Sci.* 26 (6): 812-819
- Carter JF. Potential of flaxseeds and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World.* 1993; 38:754-759
- Damron WS. 2006. *Introduction to Animal Science.* Ohio (USA): Prentice Hall
- Dehority BA. 2004. *Rumen Microbiology.* Nottingham. (UK): Nottingham University Press
- Enjalbert F, Combes S, Zened A & Meynadier A. 2017. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *Journal of Applied Microbiology* 123: 782—797
- General Laboratory Procedures. 1966. Department of Dairy Science. University of Wisconsin, Madison
- Gillis MH, Duckett SK, Sackmann JR, Realini CE, Keisler DH & Pringle TD. 2004. Effects of supplemental rumen protected conjugated linoleic acid or linoleic acid on feedlot performance, carcass quality, and leptin concentrations in beef cattle. *J Anim Sci.* 82:1419-1427
- Hanim C, Yusiati LM & Alim S. 2009. Effect of saponin as defaunating agent on in vitro ruminal fermentation of forage and concentrate. *J Indo Trop Anim Agric.* 34 (4): 231-235
- Hidayah N, Suharti S & Wiryawan KG. 2014. *In vitro* rumen fermentation of ration supplemented with protected vegetable oils. *Med Pet.* 37(2): 129-135
- Hollander UT, Michael Eskin NA & Bertrand M. 2012. *Canola and Rapeseed Production, Processing, Food Quality, and Nutrition.* London (UK): CRC Press
- Hristov AN, Ivan M & McAllister TA. 2004. In vitro effects on individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high concentrate, barley-based diet. *J Anim Sci.* 82 (9): 2693-2704
- Jalc D, Certik M, Kundrikova K, & Namestkova P. 2007. Effect of unsaturated C18 fatty acids (oleic, linoleic, and α -linolenic acid) on ruminal fermentation and production of fatty acid isomers in an artificial rumen. *J Vet Medic.* 52 (3): 87-94
- Jenkins TC. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J Dairy Sci.* 76 (12): 3851-3863
- Jouany, J.P. 1991. Defaunation of the rumen. In: *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion.* Paris (FR) : J.P. Jouany (Ed.). INRA
- Kajikawa H, Tajima K, Mitsumori M & Takenaka A. 2007. Effects of amino nitrogen on fermentation parameters by mixed ruminal microbes when energy or nitrogen is limited. *J Anim Sci* 78 (2):121-128
- Kowalski ZM. 1997. Rumen fermentation, nutrient flow to the duodenum, and digestibility in bulls fed calcium soaps of rapeseed fatty acids and soya beanmeal coated with calcium soaps. *Anim Feed sci Technol.* 69 (4): 289 - 303
- Machmuller A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agric. Ecosystem Environment.* 112: (2-3):107-114
- Mahesti G. 2009. Pemanfaatan protein pada domba lokal jantan dengan bobot badan dan aras pemberian pakan yang berbeda. Semarang (ID): Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro
- Maia MRG, Chaudhary LC, Bestwick CS, Richardson AJ, McKain N, Larson TR, Graham IA & Wallace RJ. 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J Microbiol.* 10(52): 1-10
- Mattjik AA & IM Sumertajaya. 2002. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab.* Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor Press
- McDonald PR, Edwards A, Greenhalg JFD & Morgan CA. 2002. *Animal Nutrition. 6th Edition.* New York: (US): Longman Scientific and Technical Co. Published in The United States with John Wiley and Sons Inc
- Owen FN & Zinn R. 1988. *Protein Metabolism of Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition.* New Jersey. Reston Book Prentice Hall, Englewood Cliffs
- Palmquist DL & Jenkins TC. 1980. Fat in lactation rations: review. *J Dairy Sci.* 63 (1):1-14
- Pantoja J, Firkins JL, Estridge ML & Hull BL. 1994. Effect of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 77 (8):2341-2356
- Perez JM Martinez, Robles-Perez D, Benavides J, Moran L, Andres S, Giraldez F J, Rojo-Vazquez F A & Martinez-Valladares M. 2014. Effect of dietary supplementation with flaxseed oil or vitamin E on sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica*. *Res Vet Sci.* 97 (1): 71-79
- Prawirokusumo S. 1993. *Ilmu Gizi Komparatif.* Yogyakarta (ID): Fakultas Ekonomi dan Bisnis, Universitas Gajah Mada
- Prieto N, Dugan MER, Lopez-Campos O, McAllister TA, Aalhus JL & Uttaro B. 2012. Near infrared reflectance spectroscopy predicts the content of polyunsaturated fatty acids and biohydrogenation products in the subcutaneous fat of beef cows fed flaxseed. *Meat Sci.* 90 (1): 43-51
- Sakinah D. 2005. *Kajian suplementasi probiotik bermineral terhadap produksi VFA, NH₃, dan pencernaan zat makanan pada domba.* Fakultas Peternakan, Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sayuti N. 1989. *Ruminologi.* Padang (ID): Fakultas Peternakan Universitas Andalas
- Sirohi SK, Malik R & Walli TK. 2001. Development and evaluation of protected fat in wheat straw based total mixed ration. *Asian-Aust J Anim Sci.* 14(10): 1405-1408
- Soeparno. 1998. *Ilmu dan Teknologi Daging.* Gajah Mada University Press, Yogyakarta
- Tilley JMA & Terry RA. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J Br Grassland Soc.* 18: 104-111
- Woolford MK. 1984. *The Silage Fermentation.* New York (UK): Marcel Dekker Inc