

## Isolasi Bakteri Pendegradasi Mimosin Asal Rumen Sapi dan Domba yang Diberi Daun Lamtoro dan Pengaruhnya pada Karakteristik Fermentasi *In Vitro*

S. Suharti\*, W. Alwi, K. G. Wiryawan

Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor (IPB University), Bogor, Indonesia 16680

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri pendegradasi mimosin dari cairan rumen domba dan sapi yang diberi pakan mengandung daun lamtoro dan menganalisis pengaruh inokulasi bakteri pendegradasi mimosin pada karakteristik fermentasi rumen secara *in vitro*. Tahap pertama adalah isolasi bakteri pendegradasi mimosin dari cairan rumen domba yang diberi pakan mengandung daun lamtoro 30% dan dari rumen sapi Bali di Sumbawa yang diberi pakan daun lamtoro 100%. Tahap kedua adalah inokulasi bakteri pendegradasi mimosin pada fermentasi *in vitro* dengan substrat mengandung daun lamtoro. Rancangan yang digunakan pada percobaan *in vitro* adalah rancangan acak kelompok pola faktorial dengan 2 faktor. Pengelompokan berdasarkan waktu pengambilan cairan rumen. Faktor pertama terdiri dari 3 taraf daun lamtoro yaitu 0, 30, dan 60% dalam ransum. Faktor kedua terdiri dari 2 inokulasi pendegradasi mimosin yaitu dengan dan tanpa inokulasi bakteri pendegradasi mimosin. Peubah yang diamati adalah populasi bakteri dan protozoa, nilai pH, konsentrasi NH<sub>3</sub>, produksi *volatile fatty acid* (VFA), kecernaan bahan kering (KcBK) dan kecernaan bahan organik (KcBO). Hasil penelitian ditemukan 2 isolat bakteri pendegradasi mimosin dari rumen domba dan 3 isolat rumen sapi Bali. Kelima isolat tersebut mempunyai kemiripan dengan *Streptococcus sp.* Hasil uji *in vitro* menunjukkan tidak ada interaksi antara taraf pemberian daun lamtoro dengan inokulasi bakteri pendegradasi mimosin pada fermentasi rumen. Inokulasi bakteri pendegradasi mimosin dapat meningkatkan konsentrasi NH<sub>3</sub> dan cenderung memperbaiki produksi VFA dibandingkan dengan perlakuan tanpa inokulasi bakteri. Nilai pH, KcBK dan KcBO tidak berbeda antar perlakuan. Kesimpulan yang dapat diambil adalah inokulasi bakteri pendegradasi mimosin dapat menstimulasi fermentasi rumen secara *in vitro*.

**Kata kunci:** Lamtoro (*Leucaena leucocephala*), Bakteri pendegradasi mimosin, Domba, Fermentasi rumen

## Isolation of Mimosine-degrading Bacteria from Sheep and Cattle That Fed *Leucaena Leaves* and Its Effect on *In vitro* Fermentation Characteristics

### ABSTRACT

This research aimed to isolate mimosine-degrading bacteria obtained from rumen liquid of sheep and cattle that fed diet containing *Leucaena* leaves and to analyze the effect of mimosine-degrading bacteria inoculation on rumen fermentation characteristics *in vitro*. The first stage was the isolation of mimosine-degrading bacteria from rumen sheep fed *Leucaena* leaf meal up to 30% and Bali cattle fed with *Leucaena* leaves 100%. The second stage was inoculation of mimosine-degrading bacteria in the rumen fermentation *in vitro*. The used design was factorial randomized block design consisted of 2 factors and 3 replications. The first factor was the level of *Leucaena* consisted of 0, 30, and 60% of the total ration. The second factor was mimosine-degrading bacteria inoculation (with or without inoculation). The observed variables were pH value, NH<sub>3</sub> concentration, total volatile fatty acid (VFA), dry and organic matter digestibility, protozoal and bacterial population. The results showed that there were 2 isolates from the rumen of sheep and 3 isolates from the rumen of cattle that can degrade mimosine. Based on morphological characteristics, these had similarities with *Streptococcus sp.* In the *in vitro* fermentation, there was no interaction between inoculations of mimosine-degrading bacteria on all variables observed. Inoculation of mimosine-degrading bacteria increased ( $p < 0.05$ ) NH<sub>3</sub> concentration up to 9.30 mM and tend to improved VFA production up to 82.89 mM. pH value, dry, and organic matter digestibility were similar among treatments. In conclusion, the inoculation of mimosine-degrading bacteria has an advantage effect on rumen fermentation in the ration contain *Leucaena* leaf meal.

**Keywords:** Lamtoro (*Leucaena leucocephala*), Mimosine-degrading bacteria, Sheep, Rumen fermentation

### PENDAHULUAN

Salah satu strategi untuk mengatasi permasalahan pakan adalah penggunaan tanaman legum pohon sebagai pakan utama ternak seperti daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Tanaman lamtoro sudah dikenal luas masyarakat Indonesia karena bisa ditanam di berbagai tipe lahan bahkan di lahan marginal. Daun lamtoro sangat berpotensi sebagai

hijauan pakan sumber protein karena mengandung protein yang cukup tinggi (20-31%) yang melebihi kandungan protein rumput Alfalfa yang hanya 14,83% (Zayed *et al.*, 2014). Namun demikian, daun lamtoro juga mengandung senyawa antinutrisi yang cukup toksik dan mengganggu pertumbuhan ternak yaitu mimosin (Ghosh dan Bandyopadhyay, 2007), dengan rata-rata antara 1,40-7,19 g/100 g bahan kering (D'Mello, 2000). Struktur mimosin mempunyai kemiripan dengan asam amino tirosin (Oppenheim *et al.*, 2000), sehingga tubuh ternak yang mengkonsumsi daun lamtoro akan mengenali sebagai asam amino tirosin. Akibatnya, tubuh akan defisien asam amino tirosin dan produksi

\*Penulis Korespondensi: Sri Suharti  
Alamat: Jl. Agatis Kampus Fapet IPB Darmaga, Bogor 16680  
E-mail: [sri\\_suharti@apps.ipb.ac.id](mailto:sri_suharti@apps.ipb.ac.id)

hormon-hormon tiroksin seperti hormone T3 dan T4 menjadi terganggu (Suharti *et al.*, 2018).

Mimosin daun lamtoro dapat menimbulkan keracunan atau gangguan kesehatan apabila dikonsumsi dalam jumlah banyak dan terus menerus dalam jangka waktu yang lama. Ternak ruminansia yang mengkonsumsi mimosin menunjukkan gejala kehilangan bulu, penurunan konsumsi pakan, menurunkan bobot badan dan menghasilkan performa yang rendah walaupun dipelihara pada pastura yang berkualitas tinggi (Pattanik *et al.*, 2007). Mimosin merupakan senyawa antimitosis akut, menghambat sintesis DNA terutama saat pembelahan sel, dan dapat menyebabkan kerusakan organ internal (Prasad dan Paliwal, 1989). Gejala keracunan mimosin antara lain alopecia, adanya lesi pada oesophagus, kematian fetus dan fertilitas ternak rendah. Secara struktur, mimosin merupakan *tyrosin analogue* yang dapat menghambat beberapa fungsi enzim seperti tyrosine decarboxylase dan tyrosinase. Penghambatan enzim-enzim tersebut terutama (3+) thymidine folike sel-sel rambut dapat menyebabkan rendahnya pertumbuhan bulu dan gejala goitre.

Mimosin yang masuk ke dalam tubuh ternak ruminansia akan cepat didegradasi menjadi 2 isomer *dihydroxypyridin* yaitu *3,4 dihydroxypyridin* (3,4-DHP) dan *2,3 dihydroxypyridin* (2,3-DHP) (Halliday *et al.*, 2014). Turunan senyawa mimosin tersebut masih menyebabkan toksik untuk ternak karena kesamaan strukturnya (Puchala *et al.*, 1995, Peixoto *et al.*, 2008, Oppenheim *et al.*, 2000). Pada rumen ternak ruminansia, terdapat bakteri rumen yang mampu mendegradasi mimosin dan dikonversi menjadi 3,4-dihydroxypyridine (3,4-DHP) dan hampir 30% degradasi mimosin terjadi saat awal proses mastikasi. Meskipun mimosin sudah didegradasi menjadi 3,4-DHP, namun tidak mengakibatkan detoksifikasi racun mimosin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat bakteri rumen obligat anaerob gram negatif yaitu *Synergistes jonessi* yang mampu mendegradasi 3,4-DHP sehingga menjadi tidak toksik (Jones dan Megarity, 1986). Namun demikian, *S. jonessi* tidak mampu mendegradasi senyawa turunan lain dari mimosin yaitu 2,3-DHP yang juga masih bersifat toksik. Menariknya, pada ternak sapi pedaging di Sumbawa yang mengkonsumsi daun lamtoro dalam jangka panjang menunjukkan konsentrasi 2,3-DHP yang tinggi pada urin namun tidak menunjukkan indikasi goitre (Phaikaew *et al.*, 2012; Halliday *et al.*, 2013). Hal ini mengindikasikan bahwa pada ternak tersebut terdapat bakteri lain yang mampu mendegradasi 2,3-DHP sehingga tidak bersifat toksik pada ternak. Dengan demikian perlu dilakukan kajian yang komprehensif untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri pendegradasi senyawa turunan mimosin 2,3-DHP sehingga dapat dikembangkan menjadi inokulum komersial.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi, identifikasi dan karakterisasi bakteri pendegradasi mimosin dan pengaruh inokulasi bakteri pendegradasi

mimosin pada karakteristik fermentasi rumen secara *in vitro*.

## MATERI DAN METODE

### Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Mimosin

Sumber cairan rumen untuk isolasi bakteri pendegradasi mimosin diambil dari domba dipelihara dengan pakan mengandung tepung daun lamtoro 30% dan sapi Bali di Sumbawa yang diberi pakan 100% daun lamtoro segar. Pengambilan cairan rumen dengan menggunakan *stomach tube* dan segera setelah itu disimpan dalam media gliserol. Isolasi bakteri pendegradasi mimosin dilakukan dengan menggunakan media selektif yang mengandung mimosin (3,7 g BHI, 0,05 g glukosa, 0,05 g pati, 0,1 g sistein, 1 ml CMC 1%, 0,5 ml hemin dan 0,05 ml resazurin/100 ml aquades dan mimosin setara 1000 ppm).

Tahap pertama proses isolasi adalah pengayaan mikroba rumen dengan media selektif selama 5 hari untuk seleksi bakteri yang mampu mendegradasi mimosin (Ilham *et al.*, 2015).

Tahap kedua adalah pemurnian bakteri pendegradasi mimosin dengan menumbuhkan koloni terpilih pada media BHI yang ditambah mimosin selama 24 jam menggunakan *shaker water bath* pada suhu 39°C Untuk dilakukan koloni yang beragam, dilakukan dengan pengenceran serial sampai pengenceran 10<sup>-10</sup>.

Tahap ketiga adalah karakterisasi isolat bakteri terpilih meliputi pewarnaan gram, uji motilitas dan uji gula sederhana. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri gram positif dan gram negatif dengan teknik pewarnaan kital violet dan sapranin (Ogimoto dan Imai, 1980). Uji motilitas ini dilakukan untuk mengamati pergerakan bakteri (Jenie dan Ferdiaz, 1989). Uji gula sederhana dilakukan untuk menganalisis kemampuan bakteri mereduksi gula sederhana yaitu glukosa, fruktosa, selulosa, sukrosa dan pati (Dwidjoseputro, 1998).

Variabel yang diukur pada tahap ini adalah karakteristik morfologi isolat yang meliputi pewarnaan gram, bentuk, motilitas dan kemampuan mereduksi gula sederhana.

### Inokulasi Bakteri Pendegradasi Mimosin pada Fermentasi Rumen *In Vitro*

Percobaan ini dilakukan untuk menganalisis kemampuan bakteri pendegradasi mimosin pada ransum yang mengandung tepung daun lamtoro secara *in vitro*. Cairan rumen sebagai media *in vitro* berasal dari sapi Peranakan Ongol berfistula dengan nomor ACUC (*Ethical Approval dari Animal Care and Use Committee*) IPB 01-2013 IPB yang ada di LIPI Cibinong Bogor. Cairan dan fraksi pakan dari rumen dimasukkan ke dalam termos yang dengan suhu 39-40 °C, kemudian disaring dengan *double chessecloth* untuk fermentasi *in vitro*. Fermentasi *in vitro* dilakukan menurut prosedur Tilley dan Terry (1963) dengan

komposisi media 10 ml cairan rumen, 40 ml larutan Mc. Dougal dan 0.5 g substrat. Media fermentasi *in vitro* dimasukkan ke dalam tabung fermentor dengan kondisi anaerob dan diinkubasi ke dalam *shaker water bath* dengan suhu 39°C selama 4 dan 48 jam.

Rancangan yang digunakan pada percobaan *in vitro* adalah rancangan acak kelompok pola faktorial dengan 2 faktor. Pengelompokan berdasarkan waktu pengambilan cairan rumen. Faktor pertama terdiri dari 3 taraf daun lamtoro yaitu 0, 30 dan 60% dalam ransum. Faktor kedua terdiri dari 2 inokulasi pendegradasi mimosin yaitu dengan dan tanpa inokulasi bakteri pendegradasi mimosin. Komposisi ransum perlakuan disajikan pada Tabel 1. Komposisi nutrisi ransum setiap perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Variabel yang diukur pada tahap *in vitro* ini adalah nilai pH rumen, populasi mikroba rumen (protozoa dan bakteri), konsentrasi amonia (NH<sub>3</sub>), produksi VFA total, pencernaan bahan kering dan bahan organik.

### Pengambilan Sampel dan Pengukuran

Setelah inkubasi 4 jam, sampel cairan rumen diambil untuk analisis pH rumen, populasi protozoa, populasi bakteri, produksi VFA dan konsentrasi NH<sub>3</sub>. Nilai pencernaan bahan kering dan bahan organik diukur setelah 48 jam inkubasi dengan penambahan enzim pepsin pada tabung fermentor.

Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang sudah distandarisasi pada larutan buffer pH 4 dan 7. Analisis NH<sub>3</sub> dilakukan dengan menggunakan metode Mikrodifusi Conway (Conway, 1962). Produksi VFA total diukur dengan teknik 'steam distillation' (General Laboratory Procedure, 1966). Populasi protozoa dihitung dengan

**Tabel 1.** Formula ransum sebagai substrat fermentasi *in vitro* (dalam bahan kering)

Bahan Baku	Perlakuan Taraf Tepung Daun Lamtoro		
	P1	P2	P3
Rumput Gajah (RG)	60	30	0
Lamtoro	0	30	60
Konsentrat :			
- Bungkil kedelai	6		
- Pollard	33	20	
- Onggok		19	39
- CaCO <sub>3</sub>	1	1	
- DCP			1

**Tabel 3.** Kadar mimosin sampel pengayaan mikroba cairan rumen domba konsumsi 30% daun lamtoro setelah inkubasi 24 jam

Hari ke-	Mimosin Awal (ppm)	Mimosin 24 jam (ppm)	Penurunan Mimosin (%)
1	133,14	124,57	6,44
2	133,14	116,00	12,88
3	133,14	111,71	16,09
4	138,86	124,57	10,29
5	151,71	140,29	7,53
Rerata	138 ± 8,05	123,43 ± 10,95	10,65 ± 3,94

menggunakan *Fuchs Rosenthal Counting Chamber* dan populasi bakteri dengan menggunakan metode *roller tube* (Ogimoto dan Imai, 1981). Nilai pencernaan bahan kering dan bahan organik dianalisis dengan menggunakan prosedur Tilley dan Terry (1963).

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari tahap isolasi dianalisis secara deskriptif. Data karakteristik fermentasi *in vitro* dianalisis dengan Analysis of Variance (ANOVA) dan apabila ada perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* dengan menggunakan program SPSS ver 16.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kemampuan Degradasi Mimosin Tahap Pengayaan Isolat

Pada tahap pengayaan isolat selama 5 hari asal rumen domba dengan media selektif mengandung mimosin, terdapat kecenderungan isolat yang diperoleh mempunyai kemampuan mendegradasi mimosin antara 6,44% - 16,09% dengan rata-rata 10,65% (Tabel 3).

Terdapat kecenderungan peningkatan persentase penurunan mimosin sampai hari ke 3, namun mulai menurun sampai hari ke 5 (Tabel 4). Perubahan penurunan kadar mimosin ini mungkin disebabkan karena penurunan kemampuan isolat mendegradasi mimosin dalam sistem *in vitro*. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama maka nutrisi yang tersedia dalam media *in vitro* juga semakin berkurang. Rendahnya rata-rata mimosin yang bisa didegradasi oleh isolat bakteri juga mengindikasikan bahwa populasi bakteri pendegradasi mimosin yang ada dalam cairan rumen

**Tabel 2.** Kandungan nutrisi ransum penelitian (dalam bahan kering)

Komponen (%)	Perlakuan Taraf Tepung Daun Lamtoro		
	P1	P2	P3
Bahan Kering (BK)	47,00	49,00	51,00
Abu	11,00	8,00	6,00
Protein Kasar (PK)	14,03	14,40	16,42
Lemak Kasar (LK)	19,00	13,00	4,00
Serat Kasar (SK)	23,00	19,00	14,00
BetaN	32,00	46,00	61,00
TDN	66,24	69,88	73,14
Ca	0,77	0,98	1,00
P	0,51	0,33	0,30

Keterangan : P1 = 60% RG + 0% lamtoro + 40% konsentrat; P2= 30% RG + 30% lamtoro + 40% konsentrat; P3 = 0% RG + 60% lamtoro + 40% konsentrat

**Tabel 4.** Kemampuan degradasi mimosin setelah inkubasi 24 jam oleh isolat bakteri asal cairan rumen Sapi di Sumbawa dengan ransum 100% daun Lamtoro

Isolat	Mimosin Awal (ppm)	Mimosin 24 Jam (ppm)	Penurunan Mimosin (%)
Kontrol	95,71±4,04	95,00±3,03	0,72±1,02
Isolat 1	113,57±3,03	97,14±0,00	14,43±2,28
Isolat 2	116,43±7,07	95,71±0,00	17,64±5,00
Isolat 3	109,29±5,05	96,43±1,01	11,65±5,01

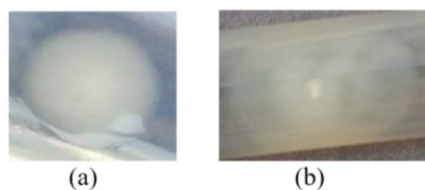
domba yang mengonsumsi 30% daun lamtoro masih sangat sedikit. Domba yang diambil cairan rumennya ini baru 3 bulan mengonsumsi lamtoro sebesar 30% dari total ransum sehingga bakteri pendegradasi mimosin belum tumbuh secara optimal. Mikroba rumen perlu beradaptasi dalam jangka panjang dengan jenis pakan baru yang mengandung senyawa antinutrisi (Hobson dan Stewart, 1997).

Pola yang sama juga terdapat pada isolat bakteri yang diperoleh dari rumen sapi di Sumbawa yang mendapat ransum 100% daun lamtoro segar. Persentase penurunan mimosin dengan penambahan isolat 1, isolat 2 dan isolat 3 berkisar antara 11,65-17,64% (Tabel 4).

Ternak ruminansia yang terus menerus diberi bahan pakan mengandung antinutrisi, maka akan mengembangkan mikroflora rumen yang toleran terhadap antinutrisi yang ada dan terus berkembang dalam rumen sehingga terkadang membatasi pertumbuhan beberapa mikroba lain (Kamra, 2005). Hasil penelitian Suharti *et al.* (2018) menunjukkan adanya mimosin dalam darah domba yang mengonsumsi lamtoro 30% yang mengindikasikan bahwa mimosin yang tidak terdegradasi di rumen akan mengalami penyerapan masuk ke dalam pembuluh darah.

#### Pemurnian Bakteri Pendegradasi Mimosin

Hasil pemurnian isolat menunjukkan bahwa ditemukan 2 koloni isolat terseleksi yang mampu beradaptasi pada media mengandung mimosin. Isolat 1 berwarna putih susu sedangkan isolat 2 berwarna bening dengan adanya titik putih di tengah (Gambar 1).



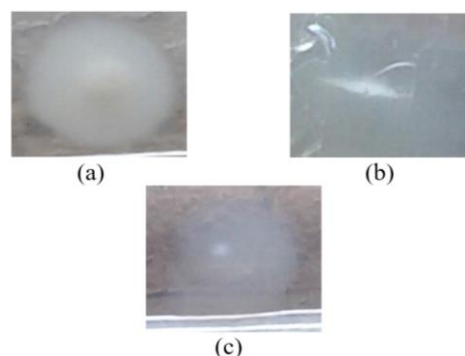
**Gambar 1.** Koloni isolat bakteri penderadasi mimosin asal rumen domba yang mengonsumsi lamtoro 30% : (a) Isolat 1; (b) Isolat 2

Pada cairan rumen sapi dari Sumbawa yang mengonsumsi 100% daun lamtoro segar ditemukan 3 koloni isolat yang mampu beradaptasi pada media mengandung mimosin. Isolat 1 mempunyai karakteristik berwarna putih susu dengan bentuk koloni bulat, isolat 2 berwarna putih bening dengan koloni lonjong dan isolat 3 berwarna putih bening dengan koloni bulat dan mempunyai titik putih di tengah (Gambar 2).

#### Karakterisasi Isolat Bakteri Terpilih

Berdasarkan uji morfologi, pewarnaan gram dan uji gula-gula pereduksi, baik 2 isolat yang diperoleh dari rumen domba dengan pakan tepung daun lamtoro 30% maupun 3 isolat dari rumen sapi di Sumbawa dengan pakan 100% daun lamtoro segar mempunyai karakteristik yang hampir sama. Karakteristik kelima isolat tersebut merupakan gram positif, suhu pertumbuhan 39°C tidak motil, bersifat fakultatif anaerob dan mampu memanfaatkan gula-gula sederhana yaitu glukosa, sukrosa, fruktosa, pati dan selulosa (Tabel 5).

Isolat yang ditemukan bersifat fakultatif anaerob yang bisa hidup pada lingkungan anaerob dan aerob. Karakter ini sangat menguntungkan untuk diaplikasikan sebagai probiotik pada ruminansia mengingat kondisi rumen itu anaerob. Karena juga



**Gambar 2.** Koloni isolat bakteri penderadasi mimosin asal rumen sapi dari Sumbawa yang mengonsumsi 100% daun lamtoro : (a) Isolat 1; (b) Isolat 2; (c) Isolat 3

**Tabel 5.** Karakterisasi isolat bakteri cairan rumen ternak yang mengonsumsi pakan daun lamtoro

Peubah	Cairan rumen				
	Domba		Sapi		
	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3
Warna koloni	Putih	Putih dengan bening disekitarnya	Putih	Putih dengan bening disekitarnya	Titik putih dengan bening disekitarnya
Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Lonjong	Bulat
Bentuk sel	Bulat	Bulat	Bulat	Lonjong	Bulat
Pewarnaan gram	+	+	+	+	+
Motilitas	-	-	-	-	-
Suhu tumbuh (°C)	39	39	39	39	39
Fakultatif anaerob	+	+	+	+	+
Pemanfaatan karbohidrat					
- Glukosa	+	++	++	++	++
- Sukrosa	+	++	++	++	++
- Fruktosa	++	+	++	++	++
- Pati	++	++	++	++	++
- Selulosa	++	++	++	++	++

mempunyai sifat aerob, maka akan memudahkan saat penanganan kultur tersebut pada kondisi rumen. Kemampuan mereduksi semua gula-gula sederhana yang diuji juga menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh mampu memanfaatkan karbohidrat pakan. Semakin banyak karbohidrat yang bisa direduksi, maka semakin tinggi kemampuan daya hidup dalam lingkungan rumen.

Berdasarkan karakteristik morfologi dan pewarnaan gram, isolat yang ditemukan berbeda dengan karakteristik bakteri *S. jonesii* yang memiliki bentuk batang oval, gram negatif serta tidak mempunyai flagela dan spora (Allison *et al.*, 1992). Derakhshani *et al.* (2015) menyatakan bahwa ada beberapa bakteri lain yang mempunyai kemampuan mendegradasi mimosin yaitu *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Colostridium butyricum*, *Lactobacillus vitulinus* dan *Streptococcus lutetiensis*.

Dari hasil karakterisasi isolat bakteri yang diperoleh baik dari rumen domba dengan ransum 30% tepung daun lamtoro, maupun dari rumen sapi di Sumbawa yang mendapat ransum 100% daun lamtoro segar menunjukkan bahwa isolat tersebut mempunyai kemiripan dengan *Streptococcus sp.*

### Pengaruh Inokulasi Bakteri Pendegradasi Mimosin pada Karakteristik Fermentasi Rumen secara *In Vitro*

#### Populasi Mikroba Rumen

Tidak ada interaksi antara pemberian berbagai taraf pemberian daun lamtoro dengan inokulasi isolat bakteri pendegradasi mimosin pada populasi mikroba rumen yaitu total protozoa dan bakteri. Populasi total protozoa dan bakteri rumen relatif sama dengan pemberian berbagai taraf tepung daun lamtoro. Pemberian isolat bakteri pendegradasi mimosin juga tidak memberikan pengaruh pada populasi total protozoa dan bakteri (Tabel 6).

Tidak adanya perubahan populasi protozoa dan bakteri rumen dengan pemberian tepung daun lamtoro sampai taraf 60% menunjukkan bahwa kandungan antinutrisi yang ada pada daun lamtoro tidak mengganggu pertumbuhan bakteri maupun protozoa. Daun lamtoro selain mengandung antinutrisi mimosin, juga mengandung tannin terkondensasi dan saponin

(Zarin *et al.*, 2016). Namun demikian, kandungan tannin dan saponin pada daun lamtoro belum menghambat pertumbuhan bakteri maupun protozoa.

Inokulasi isolat bakteri pendegradasi mimosin juga tidak berkompetisi dengan mikroba rumen yang sudah ada sehingga tidak memberikan pengaruh pada populasi protozoa dan bakteri rumen. Astuti *et al.* (2018) menyatakan bahwa penambahan bakteri lain ke dalam ekosistem rumen sangat jarang menyebabkan perubahan signifikan pada populasi bakteri total. Hasil yang berbeda disampaikan oleh Galindo (2007) yang menyatakan bahwa pemberian daun lamtoro pada ternak yang dipelihara pada padang penggembalaan menurunkan populasi protozoa dan memperbaiki komposisi mikroba rumen. Barros-Rodríguez *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa penggunaan daun lamtoro (*L. leucocephala*) sampai taraf 40% menurunkan populasi protozoa.

#### Karakteristik Fermentasi Rumen *In Vitro*

Tidak ada interaksi antara pemberian berbagai taraf tepung daun lamtoro dengan inokulasi bakteri pendegradasi mimosin pada karakteristik fermentasi rumen yang diamati. Pemberian tepung daun lamtoro sampai taraf 60% nyata menurunkan ( $p < 0.05$ ) konsentrasi  $\text{NH}_3$  dan VFA total, namun tidak memberikan pengaruh pada pH rumen serta pencernaan bahan kering dan bahan organik (KcBK dan KcBO). Inokulasi bakteri pendegradasi mimosin mampu meningkatkan ( $p < 0.05$ ) konsentrasi  $\text{NH}_3$  dan cenderung memperbaiki VFA total dibandingkan dengan yang tidak diinokulasi bakteri pendegradasi mimosin (Tabel 7).

Nilai pH yang relatif sama antar perlakuan dan berada pada kisaran normal yaitu nilai pH 7 (McDonald, 2002) menunjukkan bahwa lingkungan rumen masih stabil dengan pemberian tepung daun lamtoro sampai taraf 60% baik yang diinokulasi dengan bakteri pendegradasi mimosin maupun tanpa inokulasi. Nilai pH yang stabil ini mengindikasikan kondisi rumen yang optimal untuk mikroba rumen dalam proses degradasi dan fermentasi pakan.

Penurunan konsentrasi  $\text{NH}_3$  dengan penggunaan tepung daun lamtoro sampai taraf 60% tanpa inokulasi bakteri diduga karena adanya kandungan tanin pada

**Tabel 6.** Populasi mikroba rumen *in vitro* dengan penggunaan isolat bakteri pendegradasi mimosin dan tepung daun lamtoro pada taraf yang berbeda

Peubah	Perlakuan Ransum	Pemberian Isolat		Rerata $\pm$ SD
		Tanpa Isolat	Dengan Isolat	
Populasi Protozoa (log sel/ml)	0% Lamtoro	4,78 $\pm$ 0,66	4,55 $\pm$ 0,25	4,67 $\pm$ 0,20
	30% Lamtoro	4,62 $\pm$ 0,13	4,36 $\pm$ 0,31	4,49 $\pm$ 0,25
	60% Lamtoro	4,33 $\pm$ 0,25	4,46 $\pm$ 0,36	4,39 $\pm$ 0,29
	Rerata $\pm$ SD	4,58 $\pm$ 0,24	4,45 $\pm$ 0,28	
Populasi Bakteri (log CFU/ml)	0% Lamtoro	6,23 $\pm$ 0,31	6,16 $\pm$ 0,56	6,20 $\pm$ 0,20
	30% Lamtoro	5,62 $\pm$ 0,97	6,73 $\pm$ 0,11	6,17 $\pm$ 0,87
	60% Lamtoro	6,91 $\pm$ 1,07	6,87 $\pm$ 0,68	6,89 $\pm$ 0,68
	Rerata $\pm$ SD	6,25 $\pm$ 0,93	6,59 $\pm$ 0,33	

daun lamtoro yang seringkali mengikat protein pakan dan menyulitkan degradasinya oleh mikroba rumen. Akibatnya menurunkan konsentrasi NH<sub>3</sub> di rumen karena produk akhir dari degradasi protein pakan oleh mikroba rumen adalah NH<sub>3</sub> (Siddons dan Paradine, 1983). Sebaliknya, inokulasi bakteri pendegradasi mimosin mampu meningkatkan konsentrasi NH<sub>3</sub> yang mengindikasikan bahwa terjadi degradasi protein yang lebih tinggi. Hal ini di duga isolat bakteri pendegradasi mimosin yang ditemukan juga merupakan bakteri proteolitik sehingga protein daun lamtoro yang sangat tinggi (sekitar 24%) bisa didegradasi dengan optimal dalam rumen.

Selain itu, inokulasi bakteri pendegradasi mimosin juga berperan meningkatkan penguraian struktur mimosin daun lamtoro dan menyebabkan gugus aminonya terdeaminasi membentuk NH<sub>3</sub>. Konsentrasi NH<sub>3</sub> yang cukup memungkinkan terjadinya sintesis protein mikroba dengan optimal karena NH<sub>3</sub> merupakan salah satu senyawa prekursor dalam sintesis protein mikroba (McDonald, 2002).

Penurunan produksi VFA dengan pemberian tepung daun lamtoro sampai 60% tanpa inokulasi bakteri mengindikasikan terganggunya proses fermentasi pakan oleh mikroba rumen. Hal ini diduga karena adanya senyawa antinutrisi lain dalam daun lamtoro. Tan *et al.* (2011) melaporkan adanya penurunan total VFA dengan penambahan tanin daun lamtoro. Tanin juga berikatan dengan zat nutrisi lain seperti karbohidrat, mineral dan vitamin. Selain itu, tannin juga dapat mengikat kompleks lignoselulosa sehingga menurunkan pencernaan serat atau langsung menghambat kerja bakteri selulolitik (Sweeney *et al.*,

2001). Inokulasi bakteri pendegradasi mimosin dapat memperbaiki produksi total VFA yang menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diinokulasikan mampu menstimulasi proses fermentasi pakan dalam rumen. Selain itu, peningkatan produksi VFA pada perlakuan inokulasi isolat bakteri pendegradasi mimosin juga berkaitan dengan degradasi protein yang meningkat. Protein pakan terdegradasi menjadi asam amino dan selanjutnya dideaminasi menjadi NH<sub>3</sub> dan asam  $\alpha$  keto. Asam  $\alpha$  keto diubah iso butirir, iso valerir dan 2 metil butirir yang merupakan komponen senyawa VFA (Widodo *et al.*, 2012).

Kesamaan nilai KcBK dan KcBO dengan pemberian berbagai taraf tepung daun lamtoro sampai taraf 60% baik yang diinokulasi dengan bakteri pendegradasi mimosin maupun dengan yang tidak diinokulasi menunjukkan tidak adanya gangguan pencernaan bahan kering maupun bahan organik. Hal yang sama dilaporkan oleh Piñeiro-Vázquez *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan pencernaan bahan kering dan pencernaan bahan organik dengan pemberian daun lamtoro.

## KESIMPULAN

Ditemukan 2 isolat bakteri pendegradasi mimosin dari rumen domba dan 3 isolat rumen sapi Bali. Kelima isolat tersebut mempunyai kemiripan dengan *Streptococcus sp.* Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara taraf pemberian daun lamtoro dengan inokulasi bakteri pendegradasi mimosin pada fermentasi rumen. Inokulasi bakteri pendegradasi mimosin dapat meningkatkan konsentrasi

**Tabel 7.** Karakteristik fermentasi rumen *in vitro* dengan penggunaan isolat bakteri pendegradasi mimosin dan tepung daun lamtoro pada taraf yang berbeda

Peubah	Perlakuan Ransum	Pemberian Isolat		Rerata $\pm$ SD
		Tanpa Isolat	Dengan Isolat	
Nilai pH	0% Lamtoro	7,1 $\pm$ 0,00	7,06 $\pm$ 0,05	7,08 $\pm$ 0,04
	30% Lamtoro	7,06 $\pm$ 0,05	7,03 $\pm$ 0,05	7,05 $\pm$ 0,05
	60% Lamtoro	7,06 $\pm$ 0,05	7,00 $\pm$ 0,00	7,03 $\pm$ 0,05
	Rataan $\pm$ SD	7,07 $\pm$ 0,04	7,03 $\pm$ 0,05	
NH <sub>3</sub> (mM)	0% Lamtoro	9,12 $\pm$ 1,32	11,99 $\pm$ 2,24	10,56 $\pm$ 2,27 <sup>a</sup>
	30% Lamtoro	5,60 $\pm$ 1,74	8,08 $\pm$ 1,02	6,84 $\pm$ 1,86 <sup>b</sup>
	60% Lamtoro	5,11 $\pm$ 2,27	7,84 $\pm$ 1,83	6,48 $\pm$ 2,37 <sup>b</sup>
	Rataan $\pm$ SD	6,61 $\pm$ 2,46 <sup>a</sup>	9,30 $\pm$ 2,53 <sup>b</sup>	
VFA (mM)	0% Lamtoro	96,39 $\pm$ 25,98	115,26 $\pm$ 41,02	105,82 $\pm$ 32,40 <sup>a</sup>
	30% Lamtoro	67,76 $\pm$ 29,28	67,80 $\pm$ 5,67	67,78 $\pm$ 18,86 <sup>b</sup>
	60% Lamtoro	52,48 $\pm$ 6,50	65,61 $\pm$ 17,20	59,04 $\pm$ 13,67 <sup>b</sup>
	Rataan $\pm$ SD	72,21 $\pm$ 27,68	82,89 $\pm$ 33,05	
KcBK (%)	0% Lamtoro	70,81 $\pm$ 5,75	70,02 $\pm$ 2,70	70,42 $\pm$ 4,04
	30% Lamtoro	70,32 $\pm$ 3,14	69,96 $\pm$ 2,83	70,14 $\pm$ 2,68
	60% Lamtoro	70,54 $\pm$ 1,89	70,69 $\pm$ 3,31	70,62 $\pm$ 2,41
	Rataan $\pm$ SD	70,56 $\pm$ 3,41	70,22 $\pm$ 2,59	
KcBO (%)	0% Lamtoro	69,46 $\pm$ 4,97	67,43 $\pm$ 3,26	68,44 $\pm$ 3,92
	30% Lamtoro	68,56 $\pm$ 2,69	68,14 $\pm$ 2,00	68,35 $\pm$ 2,13
	60% Lamtoro	66,22 $\pm$ 3,44	68,29 $\pm$ 2,74	67,25 $\pm$ 3,00
	Rataan $\pm$ SD	68,08 $\pm$ 3,61	67,95 $\pm$ 2,39	

<sup>a,b</sup>Superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (p<0,05). VFA=volatile fatty acid, KcBK=kecernaan bahan kering, KcBO=kecernaan bahan organik

NH<sub>3</sub> dan cenderung memperbaiki produksi VFA dibandingkan dengan perlakuan tanpa inokulasi bakteri. Nilai pH, KcBK dan KcBO tidak berbeda antar perlakuan. Inokulasi bakteri pendegradasi mimosin dapat menstimulasi fermentasi rumen secara *in vitro*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terimakasih yang setinggi-tingginya kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang sudah mendanai penelitian ini melalui hibah Kerjasama Luar Negeri dan Publikasi Internasional (KLN) dengan nomor kontrak: 011/SP2H/LT/DRPM/IV/2017 tanggal 20 April 2017 dan hibah Addendum dengan nomor kontrak: 011/SP2H/LT/DRPM/VIII/2017 tanggal 21 Agustus 2017.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allison, M.J., W.R. Mayberry, C.S. McSweeney and D.A. Stahl. 1992. *Synergistes jonesii*, gen. nov. sp. nov: a rumen bacterium that degrades toxic pyridinediols. *Systemic and Applied Microbiology* 15: 522-529.
- Astuti, W.D., K.G. Wiryawan, E. Wina, Y. Widyastuti, S. Suharti and R. Ridwan. 2018. Effects of selected *Lactobacillus plantarum* as probiotic on *In vitro* ruminal fermentation and microbial population. *Pakistan Journal of Nutrition* 17: 131-139.
- Barros-Rodríguez, M.A., F.J. Solorio-Sánchez, C.A. Sandoval-Castro, A. Klieve, R.A. Rojas-Herrera, E.G. Briceño-Poot, and J.C. Ku-Vera. 2015. Rumen function *in vivo* and *in vitro* in sheep fed *Leucaena leucocephala*. *Tropical Animal Health Production* 47: 757-764.
- Conway, E.J. 1962. *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*. 5th revised edition, Crosby Lockwood and Son Ltd., London
- D'Mello, J.P.F. 2000. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CABI Publ. Wallingford, UK.
- Derakhshani, H., W. Sean, Corley and R. Al Jassim. 2016. Isolation and characterization of mimosine, 3. 4 DHP and 2. 3 DHP degrading bacteria from a commercial rumen inoculum. *Journal of Basic Microbiology* 56: 580-585.
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta
- Galindo J, C. García, Y. Marrero, E. Castillo, A.I. Aldana, V. Torres and L. Sarduy. 2007. Effect of the composition of a grassland of *Lecucaena leucocephala* with grasses on the microbial rumen population of bulls. *Cuban Journal of Agricultural Science* 41(2):137-140.
- General Laboratory Procedures. 1966. Department of Dairy Science. University of Wisconsin. Madison.
- Ghosh, M.K. and S. Bandyopadhyay. 2007. Mimosine toxicity-a problem of *leucaena* feeding in ruminants. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 2(2): 63-73.
- Halliday, M.J., J. Padmanabha, C.S. Mcsweeney, G. Kerven and H.M. Shelton. 2013. *Leucaena* toxicity: a new perspective on the most widely used forage tree legume. *Tropical grasslands-Forrages Tropicales* 1: 1-11.
- Halliday, M.J., T. Panjaitan, J. Nulik, Dahlanuddin, J. Padmanabha, C.S. Mcsweeney, S. Depamede, D.K. Hau, Kurniawan, M. Fauzan, Sutarttha, B.T. Yuliana, C. Pakereng, P. Ara, D. Liubana, R.G. Edison and H.M. Shelton. 2014. Prevalence of DHP toxicity and detection of *Synergistes jonesii* in ruminants consuming *Leucaena leucocephala* in eastern Indonesia. *Tropical Grasslands-Forrages Tropicales* 2: 71-73.
- Hobson, P.N. and C.S. Stewart. 1997. *The Rumen Microbial Ecosystem*. Blackie Academic & Professional. London, UK.
- Ilham, Z., H. Hamidon, N.A. Rosji, N. Ramli and Osman. 2015. Extraction and quantification of toxic compound mimosine from *Leucaena leucocephala* leaves. *Procedia Chemistry* 16: 164-170.
- Jenie, B.S.L. dan S. Fardiaz. 1989. *Uji Sanitasi dalam Industri Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Jones RJ, Megarrity RG. 1986. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. *Australian Veterinary Journal* 63: 259-262.
- Kamra, D.N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science* 89(1): 124-135.
- McDonald, P., R.A. Edward, J.F.D. Greenhalgh, C.A. Morgan, L.A. Sinclair and R.G. Wilkinson. 2002. *Animal Nutrition*. 8<sup>th</sup> Edition.: Longman London. New York.
- McSweeney, C.S., B. Palmer, D.M. McNeill and D.O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Feed Technology* 91: 83-93.
- Ogimoto, K. and S. Imai. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology: Japan Sci Societies Pr.* Tokyo.
- Oppenheim, E.W., I.M. Nasrallah, M.G. Matri and P.J. Stover. 2000. Mimosine Is a cell-specific antagonist of folate metabolism. *Journal of Biological Chemistry* 275(25): 19268-19274.
- Pattanaik, A.K., S.A. Khan and T.K. Goswami. 2007. Influence of iodine on nutritional, metabolic and immunological response of goats fed *Leucaena leucocephala* leaf meal diet. *Journal of Agricultural Science* 145: 395-405.
- Peixoto, P.V., T.N. França, B.M. Cunha, D. Valadão, A.M. Tavares and M.F. Brito. 2008. Spontaneous poisoning by *Leucaena*

- leucocephala* in a goat from Rio de Janeiro State, Brazil. *Cienc Rural* 38(2): 551-555.
- Phaikaew, C., W. Suksaran, J. Ted-Arsen, G. Nakamane, A. Saichuer, S. Seejundee, N. Kotprom and H.M. Shelton. 2012. Incidence of subclinical toxicity in goats and dairy cows consuming leucaena (*Leucaena leucocephala*) in Thailand. *Animal Production Science* 52: 283-286.
- Piñero-Vázquez, A.T., G.O. Jiménez-Ferrer, A.J. Chay-Canul, F. Casanova-Lugo, V.F. Díaz-Echeverría, A.J. Ayala-Burgos, F.J. Solorio-Sánchez, C.F. Aguilar-Pérez and J.C. Ku-Vera. 2017. Intake, digestibility, nitrogen balance and energy utilization in heifers fed low-quality forage and *Leucaena leucocephala*. *Animal Feed Science and Feed Technology* 228: 194-201.
- Prasad, J. and O.P. Paliwal. 1989. Pathological changes in experimentally induced leucaena toxicity in lambs. *Indian Veterinary Journal*. 66: 711-714
- Puchala, R., T. Sahlu, J.J. Davis and S.P. Hart. 1995. Influence of mineral supplementation on 2,3-dihydroxypyridine toxicity in Angora goats. *Animal Feed Science and Feed Technology* 55: 253-262.
- Siddons, R.C. and J. Paradine. 1983. Protein degradation in the rumen of sheep and cattle. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34(7): 701-708.
- Suharti, S., F.X.S. Kurnia, B. Pambudi and K.G. Wiryawan. 2018. Fate of mimosine, concentration of blood metabolites and thyroid hormones of sheep fed with leucaena and glyricidia leaf meal. *Pakistan Journal of Nutrition* 17: 268-273.
- Tan, H.Y., C.C. CSieo, N. Abdullah, J.B. Liang, X.D. Huang and Y.W. Ho. 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. *Animal Feed Science and Feed Technology* 169: 185-193.
- Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. A two stage technique for the in-vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science* 18: 104-111.
- Widodo, F., Wahyono and Sutrisno. 2012. Kecernaan bahan kering, kecernaan bahan organik, produksi VFA dan NH<sub>3</sub> pakan komplit dengan level jerami padi berbeda secara *in vitro*. *Indonesian Journal of Food Technology* 1: 1-15.
- Zayed, M.Z., M.A. Zaki, F.B. Ahmad, H. Wei-Seng and P. Shek-Ling. 2014. The reduction of mimosine content in *Leucaena leucocephala* (petai belalang) leaves using ethyl methanesulphonate (EMS). *Archives of Applied Science Research* 6(4): 124-128.
- Zarin, M.A., H.Y. Wan, A. Isha and N. Armania. 2016. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. *Food Science and Human Wellness* 5(2): 65-75.