

Original Article

## Pengaruh iradiasi Gamma terhadap kandungan nutrisi, fenol dan aktivitas biologis tanin daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*)

Teguh Wahyono <sup>1,\*</sup>, Yunida Maharani <sup>1</sup>, Dedi Ansori <sup>1</sup>, Shintia Nugrahini Wahyu Hardani <sup>1</sup>, Sandra Hermanto <sup>2</sup>, Wahidin Teguh Sasongko <sup>1</sup>, Faiz Nur Faiqoh <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bidang Pertanian, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jakarta Selatan, 12440

<sup>2</sup>Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta, 15412

\*Correspondence: [teguhwahyono@batan.go.id](mailto:teguhwahyono@batan.go.id)

Received: April 1<sup>st</sup>, 2020; Accepted: September 25<sup>th</sup>, 2020; Published online: November 26<sup>th</sup>, 2020

### Abstrak

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh iradiasi gamma terhadap kandungan nutrisi, fenol dan aktivitas biologis tanin daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Aktivitas biologis yang dimaksud adalah kemampuan tanin dalam mengikat protein yang terkandung dalam substrat pakan.

**Metode:** Perlakuan penelitian adalah: DN (daun nangka tanpa iradiasi gamma); DN 5 (daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy); DN 7,5 (daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy) dan DN 10 (daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy). Variabel yang diamati adalah profil nutrisi, fraksi serat, anti nutrisi dan aktivitas biologis tanin. Pada pengujian aktivitas biologis tanin, keempat perlakuan ditambahkan polietilen glikol (PEG) sebagai agen inaktivasi tanin. Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima ulangan digunakan dalam penelitian ini.

**Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi gamma tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kandungan bahan organik (BO), protein kasar (PK), *acid detergent fiber* (ADF), total fenol dan total tanin pada daun nangka. Iradiasi gamma justru menurunkan aktivitas biologis tanin yang direpresentasikan oleh produksi gas kumulatif *in vitro*. Walaupun demikian, dosis iradiasi gamma 5; 7,5 dan 10 kGy mampu menurunkan kandungan lemak kasar (LK) daun nangka berturut-turut sebesar 57,82; 83,64 dan 97,09% dari kandungan awal.

**Kesimpulan:** Kesimpulan penelitian ini adalah Aktivitas biologis tanin pada daun nangka menurun setelah diiradiasi gamma pada dosis > 5 kGy. Dosis iradiasi gamma 7,5 kGy mampu meningkatkan produksi gas kumulatif dan pencernaan bahan organik *in vitro* daun nangka.

**Kata Kunci:** Aktivitas biologis; Daun nangka; Iradiasi gamma; Tanin

### Abstract

**Objective:** This experiment aimed to evaluate the effect of gamma irradiation on nutrient, phenol content and tannin biological activity of jackfruit leaves (*Artocarpus heterophyllus*). The ability of tannin for protein bypass is the meaning of the biological activity.

**Methods:** Treatments were: DN (jackfruit leaves without gamma irradiation); DN 5 (jackfruit leaves after gamma irradiation at 5 kGy dose); DN 7,5 (jackfruit leaves after gamma irradiation at 7,5 kGy dose) and DN 10 (jackfruit leaves after gamma irradiation at 10 kGy dose). Nutrient profile, fiber

fraction content, anti nutrient compounds and tannin biological activity were observed in this experiment. Polyethylene glycol (PEG) was added in tannin biological activity procedure as tannin inactivating agent. Completely randomized design with five replications was used in this study.

**Results:** The results showed that gamma irradiation had no significant effect on organic matter (OM), crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), total phenol and total tannin content on jackfruit leaves. Gamma irradiation actually reduces the biological activity of tannin which is represented by cumulative *in vitro* gas production. Nevertheless, the doses of 5, 7.5 and 10 kGy could reduce ether extract (EE) content by 57.82; 83.64 and 97.09% respectively.

**Conclusions:** It was concluded that the biological activity of tannin could decrease after gamma irradiation treatment at > 5 kGy doses. The 7.5 kGy gamma irradiation dose could increase cumulative gas production and *in vitro* organic matter digestibility of jackfruit leaves.

**Keywords:** Biological activity; Gamma irradiation; Jackfruit leaves; Tannin

---

## PENDAHULUAN

Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*) adalah tanaman khas tropis yang sering digunakan sebagai hijauan pakan ruminansia oleh peternak rakyat di Indonesia. Sasongko et al [1] melaporkan bahwa daun nangka mengandung total phenol, tanin dan tanin terkondensasi berturut-turut sebesar 10,63; 7,08 dan 5,57%. Wahyono et al [2] melaporkan bahwa daun nangka adalah sumber tanin yang berpotensi digunakan sebagai agen *bypass protein* di Indonesia. Hal tersebut disebabkan oleh ketersediaan dan keberadaannya yang cukup familiar bagi peternak rakyat. *Bypass protein* adalah istilah mekanisme perlindungan terhadap bahan pakan maupun hijauan sumber protein agar lebih efektif dimanfaatkan oleh ternak ruminansia. Tanin memiliki kemampuan dalam melindungi pakan yang mengandung kadar protein tinggi, baik secara kualitas maupun kuantitas. Tanin akan membentuk ikatan kompleks dengan protein untuk melindunginya dari degradasi oleh mikroba rumen. Ikatan tanin-protein selanjutnya akan lepas pada pH rendah di abomasum, kemudian protein akan didegradasi oleh enzim pepsin [3]. Getachew et al [4] juga melaporkan bahwa ikatan tanin-protein akan stabil dan bertahan pada pH 3,5 – 7 kemudian akan terurai pada pH yang lebih rendah di abomasum dan interior duodenum. Hal tersebut akan meningkatkan proporsi ketersediaan asam amino dari bahan pakan sumber protein pada penyerapan pasca rumen.

Aktivitas tanin sebagai anti nutrien dapat ditingkatkan dengan perlakuan iradiasi gamma. Iradiasi gamma memiliki daya penetrasi yang tinggi untuk merubah komposisi nutrien maupun anti nutrien pada objek materi. Iradiasi gamma adalah perlakuan fisik yang aman dan efektif digunakan sebagai agen dekontaminasi mikroba, disinfektan serta meningkatkan kualitas nutrien komoditas pertanian [5]. Santos et al [6] melaporkan bahwa iradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy mampu meningkatkan kandungan total phenol dan total tanin daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*) berturut-turut sebesar 10,22 dan 14,57% dari asalnya. Iradiasi gamma 7,5 kGy juga mampu meningkatkan kadar tanin benalu teh sebesar 18,28% dibandingkan kontrol [7]. Dosis iradiasi gamma yang bervariasi juga dapat meningkatkan kandungan anti nutrien pada legume liar (*Vigna aconitifolia* (Jacq.) Marechal) [8], teh Bulgaria [9] dan kulit kacang [10].

Tingkat radiosensitivitas komoditas tanaman untuk merubah komposisi anti nutrien berbeda antar spesies. Berdasarkan beberapa riset sebelumnya, perubahan komposisi anti nutrien terjadi pada dosis radiasi 2,5 – 10 kGy. Riset terkait dosis yang tepat dan pengaruh iradiasi gamma terhadap profil nutrien dan anti nutrien pada daun nangka belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh iradiasi gamma terhadap kandungan nutrien, anti nutrien dan aktivitas biologis tanin daun nangka, serta mengetahui dosis yang tepat untuk meningkatkan aktivitas biologis tanin daun nangka.

## MATERI DAN METODE

### Persiapan bahan

Daun nangka diperoleh dari pohon nangka (*Artocarpus heterophyllus*) di Kawasan Nuklir Pasar Jumat, Cilandak, Jakarta Selatan. Pohon nangka berumur > 10 tahun yang ditanam pada tanah jenis latosol. Daun nangka yang telah dikoleksi, diangin-anginkan kemudian dikeringkan pada oven 60°C selama 48 jam. Daun yang telah kering kemudian digiling sampai berukuran mesh 35 ( $\pm 0,5$  mm).

### Iradiasi gamma

Serbuk daun nangka yang telah dikemas dalam kertas karton kemudian diiradiasi gamma di Fasilitas Iradiator Panorama Serbaguna (IRPASENA) Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN). Dosis radiasi yang digunakan adalah 5; 7,5 dan 10 kGy. Sumber radiasi berasal dari Cobalt (Co-60).

### Analisis nutrien, fraksi serat dan anti nutrien

Kandungan nutrien yang meliputi bahan organik (BO), abu, protein kasar (PK) dan lemak kasar (LK) dianalisis berdasarkan metode dalam AOAC [11]. Fraksi serat meliputi *neutral detergent fiber* (NDF) dan *acid detergent fiber* (ADF) dianalisis menggunakan metode Van Soest et al [12]. Hemiselulosa ditentukan dengan menghitung selisih fraksi NDF dengan ADF. Fraksi *non fiber carbohydrate* (NFC) ditentukan menggunakan rumus:

$$BO - NDF - PK - LK [13].$$

Anti nutrien yang meliputi kandungan total phenol dan total tanin dianalisis berturut turut menggunakan metode Folin Ciocalteu [14] dan Makkar [15].

$$\text{KcBO (\%)} = 4,88 + 0,889 \text{ gas} + 0,45 \text{ PK} + 0,0651 \text{ abu}$$

$$\text{EM (MJ/kg BK)} = 2,20 + 0,136 \text{ Gas} + 0,057 \text{ PK (hasil EM dikonversi menjadi kkal/kg BK)}$$

$$\text{VFA total (mmol; tanpa PEG)} = 0,0239 \text{ gas} - 0,0601$$

$$\text{VFA total (mmol; dengan PEG)} = 0,0207 \text{ gas} - 0,0207 \text{ (hasil VFA total dikonversi menjadi mM)}$$

### Pengukuran aktivitas biologis tanin

Pengukuran aktivitas biologis tanin dilakukan dengan menggunakan teknik inkubasi *in vitro* berdasarkan Menke et al [16]. Penambahan polietilen glikol (PEG; bobot molekul 6000; Sigma-Aldrich) sebanyak 750 mg pada setiap sampel dilakukan berdasarkan prosedur dalam Jayanegara dan Sofyan [3]. Cairan rumen diperoleh dari lima ekor domba lokal betina dengan menggunakan teknik *oral stomach tube* (OST) [17]. Domba tersebut mengkonsumsi ransum dengan komposisi rumput lapangan dan konsentrat (60:40 dalam % BK). Cairan rumen yang diambil pada pagi hari sebelum pemberian pakan, disaring menggunakan kain nilon empat lipatan kemudian ditambahkan dalam buffer tereduksi. Medium rumen-buffer dialiri dengan gas CO<sub>2</sub> selama 15 menit sebelum dimasukkan ke dalam *syringe glass* fortuna® kapasitas 100 ml. Sebanyak 200 mg sampel dimasukkan ke dalam syringe, dengan atau tanpa penambahan PEG kemudian ditutup dengan piston yang sebelumnya diolesi dengan vaselin. Sebanyak 30 ml cairan rumen-buffer dimasukkan ke dalam *syringe glass* kemudian diinkubasi ke dalam *waterbath incubator* bersuhu 39°C. Produksi gas total diamati pada jam ke-0, 3, 6, 9, 12 dan 24. Profil fermentasi rumen diamati setelah sampel diinkubasi selama 24 jam. Nilai pH diukur menggunakan pH meter Hanna Instrument®. Konsentrasi NH<sub>3</sub> dianalisis menggunakan prosedur mikrodifusi Conway [18].

Produksi VFA total diestimasi berdasarkan produksi gas total 24 jam menggunakan persamaan Makkar [19]. Kecernaan BO (KcBO) dan energi yang termetabolis (EM) juga diestimasi berdasarkan kandungan abu dan PK sampel serta produksi gas total 24 jam [20]. Persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut:

### Rancangan percobaan

Data profil nutrien, fraksi serat dan fenol yang dianalisis berasal dari empat perlakuan dan lima pengulangan. Unit percobaan/ulangan adalah kemasan sampel daun nangka pada saat diiradiasi gamma. Perlakuan yang dimaksud adalah: DN (daun nangka tanpa iradiasi gamma); DN 5 (daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy); DN 7,5 (daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy); DN 10 (daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy). Data pengujian aktivitas biologis tanin diperoleh dari delapan perlakuan dan tiga pengulangan. Keempat perlakuan tambahan pada pengujian aktivitas biologis tanin diperoleh dari penambahan PEG pada keempat perlakuan sebelumnya. Data profil nutrien, serat, anti nutrien dan aktivitas biologis tanin dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pengujian dilanjutkan dengan *duncan multiple range test* (DMRT) jika terdapat perbedaan yang nyata. Analisis statistik dilakukan menggunakan program SPSS 22.0. Analisis korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara peubah aktivitas biologis tanin dengan profil nutrien, fraksi serat dan anti nutrien [21].

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Profil nutrien dan serat

Pengaruh iradiasi gamma terhadap kandungan nutrien dan fraksi serat daun nangka disajikan pada Tabel 1. Kandungan

BO dan abu pada daun nangka berbeda nyata ( $P<0,05$ ), antara perlakuan iradiasi gamma dosis 5 – 10 kGy akan tetapi tidak berbeda dibandingkan dengan daun nangka tanpa iradiasi. Ketiga dosis iradiasi gamma tidak memberikan pengaruh terhadap kandungan PK, ADF dan hemiselulosa. Perlakuan iradiasi gamma pada dosis 5; 7,5 dan 10 kGy menurunkan ( $P<0,05$ ) kandungan LK berturut-turut sebesar 57,82, 83,64 dan 97,09% dari kandungan awal. Dosis 10 kGy mampu menurunkan ( $P<0,05$ ) kandungan NDF daun nangka sebesar 5,56% dari kandungan awal.

Dosis iradiasi gamma < 10 kGy tidak berpengaruh terhadap kandungan PK, namun sinar gamma dapat mengurangi kestabilan struktur peptida di dalamnya. Hal tersebut akan dijelaskan pada sub bahasan produksi gas total *in vitro*. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Taghinejad et al [22], Hassan et al [5], Zarei et al [23] dan Tresina et al [8] bahwa dosis iradiasi 2 – 25 kGy tidak memberikan efek yang nyata terhadap komposisi BO dan PK substrat. Iradiasi gamma akan lebih spesifik merubah komposisi asam amino bahan pakan sehingga dapat meningkatkan pencernaan protein [23]. Hasil yang kontradiktif dilaporkan oleh Osman et al [24] yang menjelaskan bahwa dosis 2 kGy sudah mampu meningkatkan kandungan PK *Vicia faba* L. Perbedaan hasil ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan tingkat radiosensitivitas antar tanaman atau kondisi kelembapan materi ketika diiradiasi. Kedua hal tersebut adalah faktor utama yang mempengaruhi penetrasi radiasi gamma

**Tabel 1.** Profil nutrien dan serat daun nangka yang diiradiasi gamma

Perlakuan	Profil nutrien dan serat (% BK)							
	BO	Abu	PK	LK	NDF	ADF	Hemiselulosa	NFC
DN	85,78 <sup>ab</sup>	14,22 <sup>ab</sup>	13,08	2,75 <sup>c</sup>	50,01 <sup>a</sup>	36,81	13,21	19,95 <sup>a</sup>
DN 5	86,95 <sup>b</sup>	13,05 <sup>a</sup>	13,07	1,16 <sup>b</sup>	50,06 <sup>a</sup>	37,13	12,94	22,65 <sup>ab</sup>
DN 7,5	86,14 <sup>ab</sup>	13,86 <sup>ab</sup>	13,48	0,45 <sup>ab</sup>	50,17 <sup>a</sup>	37,23	12,94	22,05 <sup>ab</sup>
DN 10	85,29 <sup>a</sup>	14,71 <sup>b</sup>	13,61	0,08 <sup>a</sup>	47,23 <sup>b</sup>	36,19	11,04	24,37 <sup>b</sup>
SEM	0,252	0,252	0,138	0,270	0,460	0,232	0,454	0,609

Keterangan: <sup>a,b,c</sup> superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). DN = daun nangka tanpa iradiasi gamma; DN 5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy; DN 7,5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy; DN 10 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy. BO = bahan organik; PK = protein kasar; LK = lemak kasar; NDF = *neutral detergent fiber*; ADF = *acid detergent fiber*; NFC = *non fiber carbohydrate*. SEM = *standard error mean*

dalam merubah struktur kimia materi. Kelembapan materi akan berpengaruh terhadap kandungan air sampel sehingga membentuk radikal bebas setelah berinteraksi dengan energi radiasi [7]. Radikal bebas secara tidak langsung akan mempengaruhi perubahan komponen nutrisi materi.

Iradiasi gamma secara bertahap menurunkan kandungan LK daun nangka, seiring dengan dosis yang semakin meningkat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Tresina et al [8] yang melaporkan bahwa kandungan LK *Vigna aconitifolia* cenderung semakin menurun setelah perlakuan iradiasi gamma 2 – 25 kGy. Hasil yang kontradiktif dilaporkan dalam penelitian Taghinejad et al [22] yang melaporkan bahwa perlakuan iradiasi gamma tidak berpengaruh nyata terhadap komposisi LK kedelai. Zarei et al [23] juga melaporkan bahwa dosis 5-20 kGy belum dapat merubah kandungan LK pada buah delima. Osman et al [24] bahkan melaporkan bahwa dosis iradiasi gamma 1 kGy dapat meningkatkan kandungan LK *Vicia faba* L.

Kandungan NDF yang menurun pada iradiasi gamma 10 kGy tidak diikuti dengan perubahan pada proporsi ADF dan hemiselulosa (Gambar 1). Penurunan fraksi serat mungkin terjadi pada komponen selulosa atau lignin. Hal tersebut karena fraksi NDF merupakan akumulasi dari hemiselulosa, selulosa dan lignin. Penurunan

fraksi serat juga berpengaruh terhadap peningkatan fraksi NFC (Tabel 1) secara relatif. Hal tersebut akan berpengaruh terhadap peningkatan produksi gas dan pencernaan yang dibahas pada bab aktivitas biologis tanin. Penurunan fraksi serat setelah proses iradiasi juga dilaporkan oleh Tresina et al [8] yang menjelaskan bahwa dosis 2 – 25 kGy mampu menurunkan *Total Dietary Fibre* pada legum *Vigna aconitifolia*. Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Taghinejad et al [22] yang menjelaskan bahwa perlakuan iradiasi gamma tidak berpengaruh nyata terhadap komposisi NDF kedelai. Osman et al [24] dan Zarei et al [23] bahkan melaporkan bahwa iradiasi gamma dosis rendah dapat meningkatkan kadar serat kasar dan NDF sampel. Iradiasi gamma dosis 5 kGy mampu meningkatkan ketersediaan hemiselulosa pada substrat jerami padi [25].

**Kandungan anti nutrisi**

Kandungan total phenol dan tanin pada daun nangka yang diiradiasi gamma tertera pada Gambar 1. Kandungan total phenol keempat perlakuan tidak berbeda nyata dan berkisar antara 3,50 – 3,65 mg GAE/g. Kandungan total tanin pada daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 dan 10 kGy berkisar antara 2,87 dan 2,88 mg TAE/g.

Penelitian ini membuktikan bahwa dosis iradiasi < 10 kGy belum mampu merubah komposisi kandungan total phenol dan tanin

**Tabel 2.** Efek penambahan PEG pada daun nangka terhadap profil fermentasi rumen dan pencernaan *in vitro*

Perlakuan	pH	NH <sub>3</sub> (mg/100 ml)	EM (kkal/kg BK)	VFA total (mM)	KcBO (%)
DN	6,93	10,39 <sup>abc</sup>	1905,04 <sup>a</sup>	20,61 <sup>a</sup>	44,58 <sup>a</sup>
DN 5	7,04	10,25 <sup>ab</sup>	1975,27 <sup>a</sup>	21,90 <sup>a</sup>	46,43 <sup>a</sup>
DN 7.5	7,01	10,00 <sup>a</sup>	2029,57 <sup>ab</sup>	22,80 <sup>ab</sup>	48,00 <sup>ab</sup>
DN 10	7,04	10,29 <sup>ab</sup>	2020,51 <sup>ab</sup>	22,60 <sup>ab</sup>	47,82 <sup>ab</sup>
DN + PEG	6,97	11,18 <sup>bc</sup>	2273,11 <sup>c</sup>	27,38 <sup>c</sup>	54,66 <sup>c</sup>
DN 5 + PEG	7,06	11,37 <sup>c</sup>	2283,80 <sup>c</sup>	27,58 <sup>c</sup>	54,88 <sup>c</sup>
DN 7.5 + PEG	6,97	10,49 <sup>abc</sup>	2365,16 <sup>c</sup>	28,97 <sup>c</sup>	57,19 <sup>c</sup>
DN 10 + PEG	7,01	10,10 <sup>a</sup>	2139,59 <sup>b</sup>	24,79 <sup>b</sup>	51,08 <sup>b</sup>
SEM	0,014	0,132	34,968	0,643	0,956

Keterangan: <sup>a,b,c</sup> superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). DN = daun nangka tanpa iradiasi gamma; DN 5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy; DN 7,5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy; DN 10 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy. PEG = polietilen glikol; NH<sub>3</sub> = ammonia; EM = energi metabolis; VFA = *volatile fatty acids*; KcBO = pencernaan bahan organik. SEM = *standard error mean*

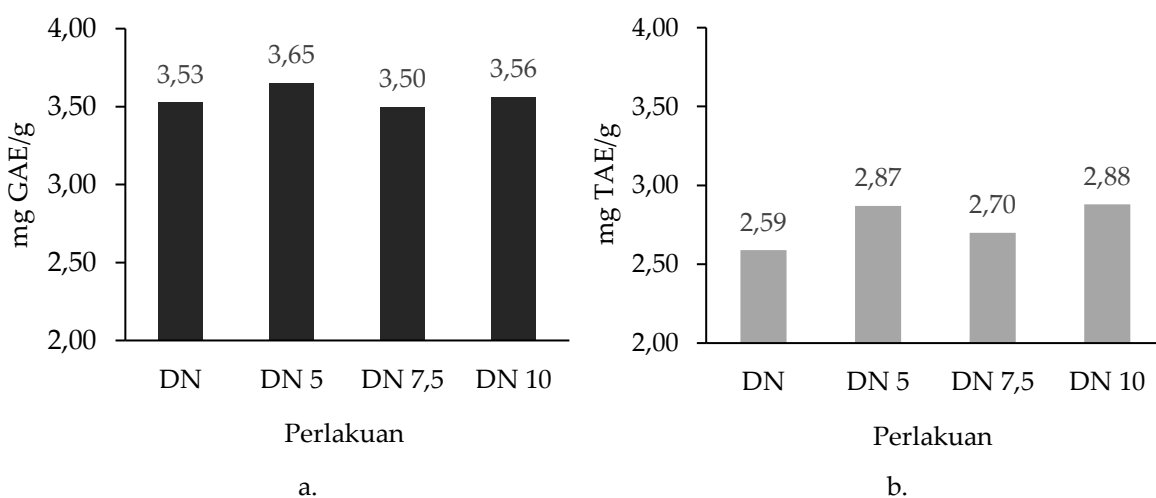
pada daun nangka. Hasil yang berbeda diperoleh oleh [24], yang melaporkan bahwa dosis 1 kGy sudah mampu menurunkan kadar tanin dari biji *Vicia faba* L. pada dosis > 5 kGy, iradiasi gamma juga mampu menurunkan kandungan tanin terkondensasi pada buah delima [23]. Kontradiksi dengan penemuan dalam penelitian ini, Hassan et al [5] melaporkan bahwa iradiasi gamma dosis 2 kGy mampu meningkatkan kadar tanin kacang walaupun dalam taraf yang rendah. Janiak et al [9] dan Sari et al [7] menjelaskan bahwa iradiasi gamma dosis 5 kGy mampu meningkatkan kandungan total phenol dan tanin pada daun teh. Pada dosis yang sama, paparan sinar gamma juga dapat meningkatkan kandungan tanin pada daun jambu monyet [6]. Pada dosis yang lebih tinggi (5 – 25 kGy), kandungan tanin pada legum juga dapat ditingkatkan [8].

Perbedaan hasil penelitian yang dilakukan dengan beberapa penelitian sebelumnya disebabkan oleh variasi efek radiasi pengion terhadap senyawa fenolik sampel. Behgar et al [26] menjelaskan bahwa penyebab hasil yang bervariasi dari perlakuan iradiasi gamma dapat disebabkan oleh perbedaan kemampuan ekstraksi dari masing-masing materi. Setiap materi bervariasi dalam merespon iradiasi melalui perubahan komponen selular dan pelepasan ikatan pada senyawa fenol yang tidak larut

air. Gambar 1 menunjukkan bahwa ketiga perlakuan iradiasi gamma cenderung menurunkan kandungan phenol non tanin. Hal tersebut dapat direpresentasikan dari selisih kadar total phenol dengan total tanin. Tanin adalah golongan fenolik yang cenderung larut dalam air. Fenomena dalam penelitian ini perlu dijelaskan melalui riset lebih lanjut berbasis molekuler. Hal tersebut karena perubahan kandungan nutrisi setelah paparan iradiasi gamma dapat disebabkan oleh perubahan molekuler materi serta pengaruh radikal bebas pasca radiasi [23].

### Produksi gas total *in vitro* dan aktivitas biologis tanin

Aktivitas biologis tanin dapat ditentukan dari selisih antara produksi gas total perlakuan dengan/tanpa penambahan PEG. Gambar 2 menampilkan ilustrasi produksi gas *in vitro* daun nangka dengan/tanpa penambahan PEG. Perlakuan dosis iradiasi 7,5 kGy menghasilkan produksi gas total *in vitro* tertinggi ( $P < 0,05$ ) dari waktu inkubasi 3 sampai 24 jam. Produksi gas perlakuan tersebut juga tertinggi ( $P < 0,05$ ) setelah ditambahkan PEG. Dosis radiasi 7,5 dan 10 kGy menghasilkan produksi gas total yang lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan daun nangka tanpa radiasi. Akan tetapi, setelah penambahan PEG, peningkatan produksi gas tertinggi dihasilkan oleh perlakuan kontrol



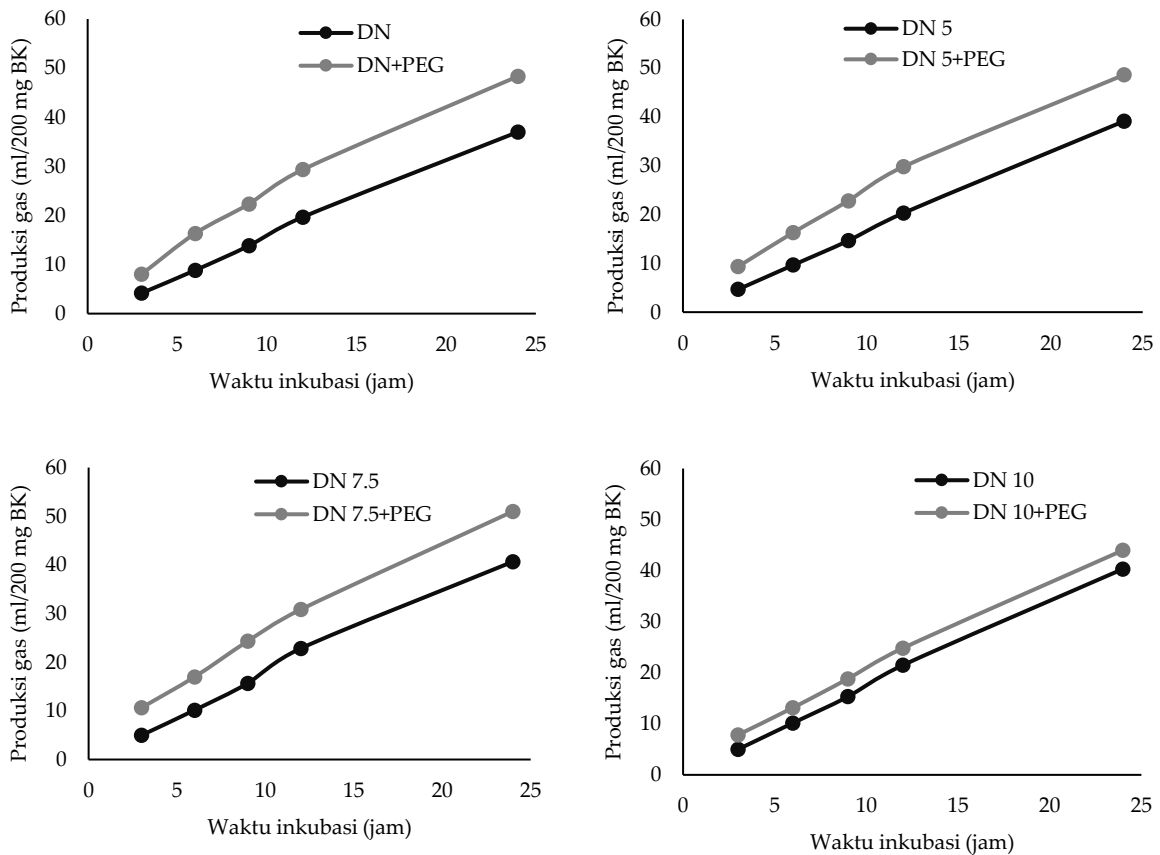
**Gambar 1.** Kandungan total phenol (a.) dan total tanin (b.) pada daun nangka yang diiradiasi gamma. DN = daun nangka tanpa iradiasi gamma; DN 5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy; DN 7,5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy; DN 10 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy. GAE = gallic acid equivalent; TAE = tannic acid equivalent

sebesar 30,63% (Gambar 3). Ketiga perlakuan iradiasi menghasilkan selisih produksi gas yang lebih rendah (9,09 – 25,41%). Hal tersebut merepresentasikan bahwa perlakuan iradiasi gamma dapat menurunkan aktivitas biologis tanin pada daun nangka.

Getachew et al [4] dan Jayanegara dan Sofyan [3] menyatakan bahwa inkubasi *in vitro* dengan penambahan PEG akan menghasilkan representasi aktivitas biologis tanin. Nilai aktivitas yang dimaksud adalah adanya selisih produksi gas total antara perlakuan dengan/atau tanpa penambahan PEG. Polietilen glikol hanya bereaksi untuk menginaktivasi tanin yang terkandung dalam bahan pakan sehingga selisih produksi gas kumulatif hanya dipengaruhi dari perbedaan aktivitas tanin. Penurunan aktivitas biologis tanin sangat terlihat pada perlakuan iradiasi 10 kGy. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Behgar et al [26] yang melaporkan bahwa dosis iradiasi gamma > 10

kGy akan menurunkan nilai ekuivalen tanin. Hal tersebut membuktikan bahwa iradiasi gamma dapat mempengaruhi kandungan kimiawi suatu bahan pakan. Perubahan ini bervariasi tergantung pada tingkat radiosensitivitas bahan tanaman. Pada daun nangka, dosis 5 kGy sudah cukup menurunkan aktivitas biologis tanin. Zarei et al [23] menyatakan bahwa kandungan dan aktivitas tanin terkondensasi akan semakin menurun setelah terpapar radiasi > 5 kGy.

Aktivitas biologis tanin yang semakin menurun juga dikonfirmasi dalam nilai produksi gas total. Kemampuan tanin daun nangka dalam berikatan dengan makronutrien semakin menurun sehingga dapat meningkatkan pencernaan nutrisi yang ada didalamnya. Nilai produksi gas kumulatif semakin meningkat seiring dengan perlakuan iradiasi gamma pada daun nangka. Osman et al [24] melaporkan bahwa tingkat pencernaan protein suatu bahan pakan akan meningkat



**Gambar 2.** Produksi gas *in vitro* daun nangka dengan atau tanpa penambahan PEG. DN = daun nangka tanpa iradiasi gamma; DN 5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy; DN 7,5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy; DN 10 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy. GAE = gallic acid equivalent; TAE = tannic acid equivalent.

setelah bahan tersebut diiradiasi gamma pada dosis 1 kGy. Hassan et al [5] melaporkan hal yang kontradiktif, yaitu terdapat peningkatan aktivitas biologis tanin pada kacang yang diiradiasi gamma pada dosis 2 kGy. Hal tersebut direpresentasikan oleh rendahnya pencernaan protein setelah perlakuan iradiasi.

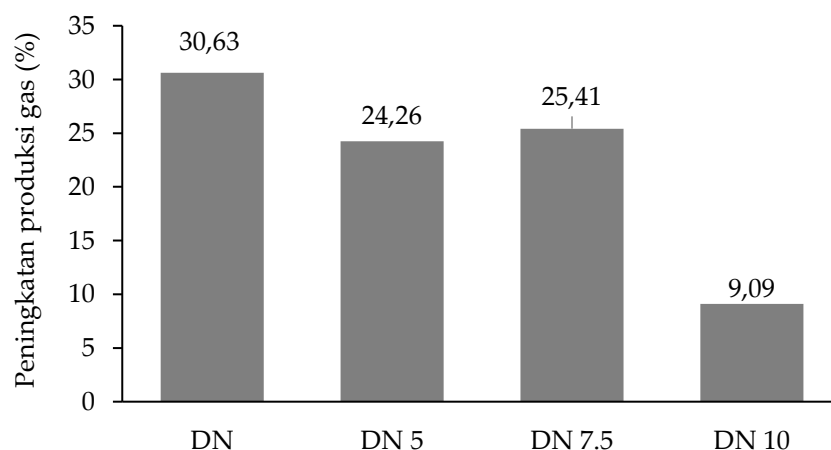
Produksi gas *in vitro* pada daun nangka yang diiradiasi gamma semakin meningkat karena pengaruh dari peningkatan fraksi NFC akibat perlakuan iradiasi. Fraksi NFC akan menyediakan sumber karbohidrat yang mudah didegradasi oleh mikroba rumen yang terinterpretasi pada produksi gas *in vitro* dan VFA total. Dugaan lainnya adalah bahwa 1) terdapat penurunan aktivitas inhibitor protein [22] selama iradiasi atau 2) terdapat pelemahan kestabilan ikatan protein sehingga mudah didegradasi mikroba rumen [24]. Taghinejad et al [22] lebih lanjut menjelaskan bahwa dosis 10 kGy adalah dosis yang efektif untuk menginaktivasi anti nutrisi berupa *trypsin inhibitors* (TI). Hal tersebut akan meningkatkan nilai nutrisi protein pada pakan.

#### Profil fermentasi rumen dan pencernaan *in vitro*

Profil fermentasi rumen dan KcBO sampel perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Perlakuan iradiasi gamma dan penambahan PEG tidak berpengaruh terhadap nilai pH.

Perlakuan iradiasi gamma juga tidak memberikan efek yang nyata terhadap konsentrasi  $\text{NH}_3$ . Penambahan PEG mampu meningkatkan ( $P < 0,05$ ) nilai EM, VFA total dan KcBO. Peningkatan KcBO daun nangka setelah ditambahkan PEG berkisar antara 6,82 – 22,61%.

Nilai pH dalam penelitian ini berkisar netral antara 6,93 – 7,04. Besaran nilai pH merepresentasikan pola degradasi mikroba rumen terhadap substrat pakan. Substrat dalam penelitian ini tergolong dalam hijauan pakan sumber serat sehingga akan mendukung perkembangan bakteri selulosa. McDonald et al [27] melaporkan bahwa nilai pH rumen  $< 6$  akan menghambat perkembangan bakteri selulolitik dan menurunkan degradasi serat pakan. Wahyono et al [2] menjelaskan bahwa nilai pH dengan substrat jerami kacang hijau yang disuplementasi tepung daun nangka berkisar antara 6,5 – 6,7. Wahyono et al [28] juga melaporkan bahwa substrat tanaman sorgum menghasilkan nilai pH kultur *in vitro* antara 6,62 – 6,79. Wanapat et al [29] melaporkan bahwa konsentrasi  $\text{NH}_3$  yang optimal pada kultur *in vitro* sistem tertutup adalah 5 mg/100 ml. Akan tetapi, nilainya bergantung pada kandungan protein substrat serta tingkat kecernaannya di dalam cairan rumen-buffer. Hal tersebut karena  $\text{NH}_3$  adalah representasi degradasi protein dalam substrat pakan



**Gambar 3.** Peningkatan produksi gas yang merepresentasikan aktivitas biologis tanin pada daun nangka yang diiradiasi gamma. DN = daun nangka tanpa iradiasi gamma; DN 5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 5 kGy; DN 7,5 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 7,5 kGy; DN 10 = daun nangka yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy. GAE = *gallic acid equivalent*; TAE = *tannic acid equivalent*



menjadi asam amino dan mengalami deaminasi untuk dimanfaatkan dalam sintesis protein mikroba [2]. Secara numerik, perlakuan penambahan PEG akan menghasilkan konsentrasi  $\text{NH}_3$  yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan PEG (kecuali perlakuan DN 10). Perbedaan nyata terlihat antara perlakuan DN 5 dengan DN 5 + PEG. Hal tersebut merepresentasikan fungsi PEG dalam menginaktivasi tanin. Jayanegara dan Sofyan [3] menjelaskan bahwa PEG akan berikatan dengan tanin karena memiliki afinitas yang lebih kuat dibandingkan dengan fraksi nutrisi yang lain. Lebih lanjut lagi, dijelaskan bahwa nutrisi-nutrisi dalam substrat akan lebih tersedia bagi mikroba rumen sehingga berpengaruh terhadap nilai EM, VFA total dan KcBO.

Nilai EM, VFA total dan KcBO daun nangka cenderung meningkat secara numerik setelah perlakuan iradiasi. Hal tersebut merefleksikan produksi gas kumulatif yang ditampilkan pada Gambar 2. Wahyono et al [28] melaporkan bahwa nilai VFA total adalah representasi dari proses fermentasi karbohidrat oleh mikroba rumen. Kondo et al [13] menyatakan bahwa nilai VFA total berkorelasi positif dengan produksi gas *in vitro* ( $r=0,96$ ). Produksi VFA total yang dihasilkan dalam penelitian ini cukup rendah (20,61 – 28,97 mM). Jayanegara dan Sofyan [3] melaporkan bahwa kultur *in vitro* sistem tertutup cenderung berdampak negatif terhadap mikroba rumen, sehingga menyebabkan produksi VFA total rendah. Nilai EM, VFA total dan KcBO perlakuan DN 10 tidak berbeda nyata setelah ditambahkan PEG. Hal tersebut merefleksikan bahwa perlakuan iradiasi gamma dosis 10 kGy justru menurunkan aktivitas biologis tanin secara signifikan.

## KESIMPULAN

Perlakuan iradiasi gamma menurunkan kandungan LK daun nangka. Kandungan PK, total phenol dan total tanin tidak mengalami perubahan yang signifikan. Perlakuan iradiasi gamma pada dosis 5 – 10 kGy belum dapat meningkatkan aktivitas biologis tanin. Penemuan yang menarik adalah bahwa dosis iradiasi gamma 7,5 kGy mampu

meningkatkan produksi gas kumulatif dan pencernaan bahan organik *in vitro* daun nangka. Hal tersebut membuktikan bahwa dosis iradiasi gamma 7,5 kGy lebih mempengaruhi tingkat pencernaan nutrisi dibandingkan dengan kandungan dan aktivitas biologis tanin pada daun nangka.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Irawan Sugoro dan Ir. Firsoni, M.P. atas bantuan teknis di laboratorium. Penelitian ini menggunakan anggaran riset daftar isian pelaksanaan anggaran (DIPA) Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR) BATAN tahun 2019.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sasongko, W. T., L. M. Yusiati, Z. Bachruddin dan Mugiono. 2010. Optimalisasi pengikatan tanin daun nangka dengan protein bovine serum albumin. *Bul. Peternak.* 34(3): 154–158.
2. Wahyono, T., W. T. Sasongko, M. Sholihah, dan M. R. Pikoli. 2017. Pengaruh penambahan tanin daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap nilai biologis daun kelor (*Moringa oleifera*) dan jerami kacang hijau (*Vigna radiata*) secara *in vitro*. *Bul. Peternak.* 41(1): 15–25. Doi: 10.21059/buletinpeternak.v41i1.22450
3. Jayanegara, A. dan A. Sofyan. 2008. Penentuan aktivitas biologis tanin beberapa hijauan secara *in vitro* menggunakan 'Hohenheim gas test' dengan polietilen glikol sebagai determinan. *Media Peternak.* 31(1): 44–52.
4. Getachew, G., H. P. S. Makkar and K. Becker. 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *Br. J. Nutr.* 84: 73–83.
5. Hassan, A. B., E. E. Diab, N. S. Mahmoud, R. A. A. Elagib, M. A. H. Rushdi and G. A.

- M. Osman. 2013. Effect of radiation processing on *in vitro* protein digestibility and availability of calcium, phosphorus and iron of peanut. Radiat. Phys. Chem. 91: 200–202. Doi: 10.1016/j.radphyschem.2013.05.008
6. Santos, G. H. F., E. B. Silva, B. L. Silva, K. X. F. R. Sena and C. S. A. Lima. 2011. Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extracts of *Anacardium occidentale* rich in tannins. Brazillian J. Pharmacogn. 21(3): 444–449. Doi: 10.1590/S0102-695X2011005000045
  7. Sari, B. L., D. P. Rahayu, D. Rohdiana, S. Nurlita dan P. S. Sahara. 2018. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap kandungan flavonoid dan tanin total teh putih (*Camellia sinensis* L.) dan benalu teh (*Scurulla atropurpurea* BL . Dans). J. Kefarmasian Indones. 8(1): 1–9.
  8. Tresina, P. S., K. Paulpriya, V. R. Mohan and S. Jeeva. 2017. Effect of gamma irradiation on the nutritional and antinutritional qualities of *Vigna aconitifolia* (Jacq.) Marechal: An underutilized food legume. Biocatal. Agric. Biotechnol. 10: 30–37. Doi: 10.1016/j.bcab.2017.02.002
  9. Janiak, M. A., A. Slavova-Kazakova, M. Karamac, V. Kancheva, A. Terzieva, M. Ivanova, T. Tsrunchev and R. Amarowicz. 2017. Effects of gamma-irradiation on the antioxidant potential of traditional Bulgarian teas. Nat. Prod. Commun. 12(2): 181–184. Doi: 10.1177/1934578X1701200210
  10. de Camargo, A. C., S. G. Canniatti-Brazaca, T. M. F. S. Viera, M. A. B. Regitano-d'Arce and M. A. Calori-Domingues. 2011. Gamma radiation effects on peanut skin antioxidants. in: International Nuclear Atlantic Conference - INAC. Belo Horizonte, MG, Brazil: Associacao Brasileira de Energia Nuclear. pp. 24–28.
  11. AOAC. 2005. Official Method of Analysis. 18<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
  12. Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 583–3597.
  13. Kondo, M., M. Yoshida, M. Loresco, R. M. Lapitan, J. R. V. Herrera, A. N. D. Barrio, Y. Uyeno, H. Matsui, T. Fujihara. 2015. Nutrient contents and *in vitro* ruminal fermentation of tropical grasses harvested in wet season in the Philippines. Adv. Anim. Vet. Sci. 3: 694-699. Doi: 10.14737/journal.aavs/2015/3.12.694.699
  14. Cindrić, I. J., M. Kunštic, M. Zeiner, G. Stinger and G. Rusak. 2011. Sample preparation methods for the determination of the antioxidative capacity of apple juices. Croat. Chem. Acta 84(3): 435–438. Doi: 10.5562/cca1756
  15. Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Rumin. Res. 49: 241–256.
  16. Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J. Agric. Sci. Cambridge 93.
  17. Ramos-Morales, E., A. Arco-Pérez, A. I. Martín-García, D. R. Yáñez-Ruiz, P. Frutos and G. Hervás. 2017. Use of stomach tubing as an alternative to rumen cannulation to study ruminal fermentation and microbiota in sheep and goats. Anim. Feed Sci. Technol. 198: 57–66. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.09.016
  18. Conway, E. J. 1951. Microdiffusion Analysis and Volumetric Error. 3<sup>rd</sup> ed. Crosby Lockwood and Sons Ltd. London.
  19. Makkar, H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. in: Assessing Quality and Safety of Animal Feeds. FAO Animal Production and Health Series 160. Rome: FAO. pp. 55–88.
  20. Menke, K. H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28: 7–55.
  21. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960). Principles and Procedures of Statistics. McGraw. New York.
  22. Taghinejad, M., A. Nikkhah, A. A. Sadeghi, G. Raisali and M. Chamami. 2009. Effects of gamma irradiation on chemical

- composition, antinutritional factors, ruminal degradation and *in vitro* protein digestibility of full-fat soybean. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 22(4): 534–541.
23. Zarei, M., F. Kafilzadeh and P. Shawrang. 2016. *In vitro* gas production and dry matter digestibility of irradiated pomegranate (*Punica granatum*) seeds. Iran. J. Appl. Anim. Sci. 6(1): 31–39.
24. Osman, A. M. A., A. B. Hassan, G. A. M. Osman, N. Mohamed, M. A. H. Rushdi, E. E. Diab, E. E. Babiker. 2012. Effects of gamma irradiation and/or cooking on nutritional quality of faba bean (*Vicia faba* L.) cultivars seeds. J. Food Sci. Technol. DOI: 10.1007/s13197-012-0662-7
25. Firsoni, S. N. W. Hardani and T. Wahyono. 2019. Fiber content and relative feed value estimation of gamma irradiated rice straw. in: 9th Annual Basic Science International Conference, Malang: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 546 pp. 1–6. Doi: 10.1088/1757-899X/546/4/042008
26. Behgar, M., S. Ghasemi, A. Naserian, A. Borzoie and H. Fatollahi. 2011. Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and *in vitro* digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. Radiat. Phys. Chem. 80(9): 963–967. Doi: 10.1016/j.radphyschem.2011.04.016
27. McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair and R. G. Wilkinson. 2010. Animal Nutrition. 7<sup>th</sup> Ed. Pearson. London.
28. Wahyono, T., I. Sugoro, A. Jayanegara, K. G. Wiryawan and D. A. Astuti. 2019. Nutrient profile and *in vitro* degradability of new promising mutant lines sorghum as forage in Indonesia. Adv. Anim. Vet. Sci. 7(9): 810–818. Doi: 10.17582/journal.aavs/2019/7.9.810.818
29. Wanapat, M., S. Kang and K. Phesatcha. 2013. Enhancing buffalo production efficiency through rumen manipulation and nutrition. Buffalo Bull. 32(1): 258–275.