

Original Article

Efek suplementasi tepung kulit jengkol pada pelepah sawit fermentasi terhadap profil mikroba rumen dan produksi gas metan *in vitro*

Nurhaita¹, Nur Hidayah^{2*}, Neli Definiati¹

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Bengkulu, Bengkulu, 38119

²Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Tidar, Magelang, 56116

*Correspondence: nurhidayah@untidar.ac.id; Telp.: +62-812-9711-4749

Received: June 1st, 2020; Accepted: January 19th, 2021; Published online: March 18th, 2021

Abstrak

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek suplementasi tepung kulit jengkol pada pelepah sawit fermentasi terhadap profil mikroba rumen dan produksi gas metan secara *in vitro*.

Metode: Rancangan yang digunakan pada penelitian *in vitro* adalah rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan (pelepah sawit fermentasi dengan suplementasi tepung kulit jengkol pada level 0, 2, 4, dan 6%) dengan 4 kelompok sebagai ulangan. Peubah yang diamati yaitu profil mikroba rumen (populasi bakteri total, selulolitik, dan protozoa), produksi gas metan, proporsi *volatile fatty acid* (VFA) parsial dan rasio asetat / propionat (A/P). Data yang diperoleh dianalisa secara statistik menggunakan *analysis of varian* (ANOVA), perbedaan nyata antar perlakuan diuji lanjut dengan uji *Duncan Multi Range Test* (DMRT).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi kulit jengkol sebanyak 6% dari pakan meningkatkan ($P<0,05$) populasi bakteri total dan bakteri selulolitik. Suplementasi kulit jengkol sebanyak 4 dan 6% menurunkan ($P<0,05$) populasi protozoa, produksi metan, proporsi asetat dan rasio A/P. Suplementasi kulit jengkol sebanyak 2% meningkatkan ($P<0,05$) proporsi propionate.

Kesimpulan: Kesimpulannya, pelepah sawit fermentasi dapat disuplementasi dengan tepung kulit jengkol sebanyak 2% dari pakan yang efeknya tidak mengganggu profil mikroba rumen, mampu menurunkan produksi gas metan, proporsi asetat dan rasio A/P serta meningkatkan proporsi propionat.

Kata Kunci: Profil mikroba; Produksi metan; Pelepah sawit fermentasi; Tepung kulit jengkol

Abstract

Objective: This research was aimed to evaluation the effect of supplementation jengkol peel powder in fermented oil palm fronds on rumen microbes profile and methane production on *in vitro*.

Methods: The used design was factorial randomized block design with four treatments supplementation of jengkol peel powder at 0, 2, 4, and 6% and four groups as replications. The observed variables were rumen microbes profile (population of total bacteria, cellulolytic, and protozoa), methane production, partial *volatile fatty acid* (VFA) proportion and acetate/propionate (A/P) ratio. The data were analyzed using ANOVA and different among treatments means examined by *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

Results: The result showed that supplementation of jengkol peel powder at 6% substrate increased ($P<0.05$) total and cellulolytic bacteria population. Jengkol peel powder supplementation as much as 4 and 6% decreased ($P<0.05$) protozoa population, methane production, acetate proportion and A/P ratio. Supplementation of jengkol peel powder at 2% increased ($P<0.05$) propionate production.

Conclusions: In conclusion, fermented oil palm fronds can be substituted with jengkol peel powder at 2% substrate that did not disturb rumen microbes profile, decreased methane production, acetate proportion, A/P ratio and increased propionate production on *in vitro*.

Keywords: Rumen microbes profile; Methane production; Fermented oil palm fronds; Jengkol peel powder

PENDAHULUAN

Prinsip untuk meningkatkan efisiensi pakan pada ternak ruminansia yaitu meminimalkan hilangnya energi dengan cara meningkatkan kecernaan pakan dan manipulasi fermentasi rumen, Khiaosa and Zebeli [1]. Beauchemin and McGinn [2] melaporkan bahwa produksi gas metan menggambarkan hilangnya energi bruto pakan sebanyak 2-12% atau 6-10%, Jayanegara [3]. Penelitian terkait suplementasi senyawa bioaktif tanaman pada pakan ternak sudah banyak terbukti mampu memperbaiki profil mikroba rumen sehingga berdampak positif terhadap peningkatan produktifitas ternak. Hasil meta analisis *in vitro* Klevenhusen *et al.* [4] dan *in vivo* Khiaosa and Zebeli [1] melaporkan bahwa suplementasi senyawa bioaktif dapat digunakan sebagai agen modifikasi mikroba rumen dan penurun produksi gas metan.

Kulit jengkol merupakan salah satu by-produk tanaman pangan yang tidak termanfaatkan dan hanya menjadi sampah sehingga dapat mencemari lingkungan. Hidayah *et al.* [5] melaporkan bahwa kulit jengkol baik dari segi kuantitas dan kualitasnya berpotensi digunakan sebagai bahan supementasi pakan ternak. Proporsi kulit jengkol sebesar 59,99%, sedangkan proporsi bijinya hanya sebesar 40,01%. Kulit jengkol berpotensi digunakan sebagai sumber saponin (17,91-35,13%) dan mengandung beberapa senyawa bioaktif lainnya yaitu tannin, total fenol, dan flavonoid. Saponin merupakan agen defaunasi protozoa yang mampu membunuh atau melisiskan protozoa rumen, Hart *et al.* [6]. Penurunan populasi protozoa ini akan diikuti dengan penurunan produksi gas metan. Aktivitas senyawa

bioaktif yang bersifat anti protozoa bertanggung jawab terhadap terhambatnya produksi gas metan di dalam rumen, Soliva *et al.* [7].

Pelepah sawit merupakan limbah dari perkebunan sawit yang sangat berpotensi digunakan sebagai alternatif sumber hijauan pakan ternak. Ketersediaanya melimpah, namun belum dimanfaatkan secara optimal, sebagian besar pelepah sawit masih menjadi limbah karena hanya dibuang atau ditumpuk dibawah batang sawit. Nurhaita *et al.* [8] melaporkan bahwa pelepah sawit merupakan pakan limbah yang kualitas dan nilai gizinya rendah, fraksi seratnya tinggi, serta palatabilitas dan kecernaannya rendah. Berdasarkan hasil penelitian Nurhayu *et al.* [9], pelepah sawit mengandung serat kasar yang tinggi (50,94%) dan protein kasar yang sangat rendah (3,07%). Chaves *et al.* [10] menyatakan bahwa kualitas pakan berpengaruh terhadap produksi gas metan (CH_4) pada kajian *in vitro* dimana rendahnya konsentrasi karbohidrat yang tidak berserat pada legume dan hijauan berkontribusi terhadap tingginya produksi gas metan per gram bahan kering yang dikonsumsi.

Rendahnya nilai gizi dan nilai kecernaan dari pelepah sawit dapat ditingkatkan dengan teknologi pengolahan fermentasi. Produk fermentasi memiliki kualitas gizi dan kecernaan yang lebih baik dibanding produk asal yang tanpa fermentasi, Astuti *et al.* [11]. Suplementasi senyawa bioaktif pada pelepah sawit fermentasi dirasa sangat perlu sebagai upaya meningkatkan kualitas limbah pelepah sawit dengan tujuan untuk modifikasi mikroba rumen. Modifikasi mikroba rumen diharapkan mampu meningkatkan populasi bakteri rumen, menurunkan protozoa dan produksi gas metan sehingga efisiensi

pakan dan produktivitas ternak meningkat. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi suplementasi tepung kulit jengkol pada pelepah sawit fermentasi terhadap profil mikroba rumen dan produksi gas metan secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Pembuatan tepung kulit jengkol

Kulit jengkol dikumpulkan, dibersihkan, dikeringkan matahari sampai mencapai berat kering yang stabil, dan digiling sampai berbentuk tepung.

Pembuatan mikroorganisme lokal (MOL)

MOL yang dibuat berdasarkan metode Nurhaita *et al.* [8]. Sumber mikroorganisme diambil dari isi rumen kambing (2 kg) sedangkan sumber energinya dari air kelapa (15 L) dan molasses (4 kg). Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam jerigen, ditutup rapat dan diaduk rata dengan cara diguncangkan. Kemudian disiapkan jirigen lain yang ukurannya lebih kecil untuk diisi air dan ditutup rapat. Kedua tutup jirigen tersebut dilubangi dan dihubungkan dengan selang kecil pada kedua tutup jirigen tersebut. Jirigen kecil yang berisi air berfungsi menampung gas yang terbentuk selama 10 hari inkubasi dalam pembuatan MOL.

Fermentasi pelepah sawit

Pencacahan dengan menggunakan *chopper* sebanyak 3 kali dilakukan pada pelepah sawit. Penjemuran matahari sampai didapatkan kadar air sebesar \pm 60%. Pelepah sawit yang sudah kering ditambahkan MOL 10 ml/kg, urea 1% dan molases sebanyak 5 % dari pelepah sawit. Kemudian diaduk sampai rata, selanjutnya dimasukkan dalam kantong plastik, dipadatkan, diikat, dilakukan pemeraman selama 7 hari, dievaluasi kualitas fisiknya, dikeringkan dan digiling sampai berbentuk tepung.

Fermentasi *in vitro*

Fermentasi *in vitro* yang dilakukan berdasarkan metode Tilley & Terry [12]. Tabung fermentor 100 ml diisi 10 ml cairan rumen, 40 ml larutan McDougall, dan 500 mg

sampel perlakuan. Suhu *shakerwater bath* yang digunakan 39°C. Inkubasi dilakukan selama 4 jam untuk pengambilan sampel bakteri, protozoa dan VFA parsial untuk perhitungan produksi gas metan. Perhitungan populasi protozoa, bakteri total, dan bakteri selulolitik menggunakan metode Ogimoto & Imai [13]. Pengukuran produksi gas metan dengan pendekatan VFA parsial dari rumus Moss *et al.*, [14] yaitu $CH_4(\%) = 0,45C_2 - 0,275C_3 + 0,40C_4$. Pengukuran produksi VFA parsial dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography* dengan kolom kapiler tipe 10% SP-1200, 1% H₃PO₄ dan gas nitrogen sebagai karier.

Analisis statistik

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan (pelepah sawit fermentasi dengan suplementasi tepung kulit jengkol pada level 0, 2, 4, dan 6%) dengan 4 kelompok sebagai ulangan. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik menggunakan ANOVA, perbedaan nyata antar perlakuan diuji lanjut dengan uji DMRT, Stell & Torrie [15].

HASIL

Pada Tabel 1 disajikan data Kandungan gizi dan saponin pelepah sawit fermentasi, kulit jengkol, dan ransum *in vitro*.

Profil mikroba rumen

Pada Tabel 2 disajikan data profil mikroba rumen dengan suplementasi tepung kulit jengkol pada pelepah sawit fermentasi. Suplementasi kulit jengkol sebanyak 6% dari pakan basal meningkatkan ($P < 0,05$) populasi bakteri total dan bakteri selulolitik. Bakteri total meningkat sebesar 22,25% dan bakteri selulolitik sebesar 17,64% dari kontrol. Sedangkan suplementasi kulit jengkol sebanyak 4 dan 6% menurunkan ($P < 0,05$) populasi protozoa sebanyak 13,06% dan 30,86% dibandingkan dengan kontrol.

Produksi gas metan, proporsi VFA parsial dan rasio A/P

Pada Tabel 3 disajikan data produksi gas metan, proporsi VFA parsial, dan rasio A/P dengan suplementasi tepung kulit jengkol

Tabel 1. Kandungan gizi dan saponin pelepah sawit fermentasi, kulit jengkol dan ransum in vitro (100% BK)

Bahan	Abu	LK	PK	SK	BETN	Saponin
PSF	7,29	2,38	5,55	32,99	51,79	9,03
KJ	3,52	0,60	9,01	26,91	59,96	23,36
PSF + 0% KJ	7,29	2,38	5,55	32,99	51,79	9,03
PSF + 2% KJ	7,36	2,39	5,73	33,53	52,99	10,01
PSF + 4% KJ	7,43	2,40	5,91	34,07	54,19	10,15
PSF + 6% KJ	7,50	2,41	6,09	34,61	55,39	10,30

Keterangan : PSF = Pelepah Sawit Fermentasi, KJ = Kulit Jengkol. Analisa kandungan gizi di PAU, IPB University, Bogor (2019). Analisa saponin di Balitnak, Ciawi, Bogor (2019)

pada pelepah sawit fermentasi. Suplementasi kulit jengkol 2-6% menurunkan ($P < 0,05$) produksi gas metan sebesar 9,54-26,89% dibandingkan dengan kontrol. Penurunan gas metan terbesar terjadi pada suplementasi kulit jengkol 2% yaitu sebesar 26,89%. Suplementasi kulit jengkol sebanyak 2% dari pakan basal menurunkan ($P < 0,05$) proporsi asetat dan rasio asetat/propionate (A/P) serta meningkatkan ($P < 0,05$) proporsi propionat dibandingkan dengan perlakuan lain. Proporsi asetat dan rasio A/P menurun sebesar 8,90% dan rasio A/P sebesar 33,54%, sedangkan proporsi propionat meningkat sebesar 26,61% dari kontrol. Proporsi asetat, propionat, dan rasio A/P sama dengan kontrol bahkan meningkat ($P < 0,05$) dengan suplementasi kulit jengkol sebanyak 4 dan 6%. Suplementasi kulit jengkol sebanyak 6% menurunkan ($P < 0,05$) proporsi butirat.

PEMBAHASAN

Peningkatan populasi bakteri total dan selulolitik serta penurunan protozoa dengan suplementasi kulit jengkol diduga karena kandungan saponin dari kulit jengkol mampu mensimulasi pertumbuhan bakteri dan penurunan populasi protozoa. Hart *et al.* [6] melaporkan bahwa saponin mampu

membunuh atau melisiskan protozoa dengan membentuk ikatan yang kompleks dengan sterol yang terdapat pada permukaan membran protozoa sehingga mengganggu perkembangan protozoa yang menyebabkan membran pecah, sel lisis dan protozoa mati. Penghambatan protozoa akan menstimulasi pertumbuhan bakteri karena protozoa merupakan predator bakteri, Wallace [16].

Patra *et al.* [17] menyatakan bahwa penambahan saponin mampu menstimulasi secara langsung pertumbuhan bakteri *F. succinogenes*, *R. flavofaciens* dan genus *Prevotella*, yang mana bakteri tersebut bebas dari efek antiprotozoa. Penambahan *Yucca* pada dosis tinggi (0,6 g/L cairan rumen) dan *Quillaja* pada dosis rendah (0,2 g/L cairan rumen) berkontribusi terhadap peningkatan populasi bakteri selulolitik seperti *R. flavofaciens* dan *F. succinogenes* yang mampu meningkatkan efisiensi pakan. Hasil yang sama dilaporkan oleh Patra and Yu [18], bahwa penambahan saponin *Quillaja* pada dosis 0-6 g/L cairan rumen) secara *in vitro* menurunkan populasi protozoa dan meningkatkan populasi bakteri *S. ruminantium*, *R. amylophilus*, *P. ruminicola*, and *P. bryantii*.

Suplementasi kulit jengkol sebanyak 2% mampu meningkatkan kadar saponin namun

Tabel 2. Profil mikroba rumen dengan suplementasi tepung kulit jengkol pada pelepah sawit fermentasi

Perlakuan	Populasi Bakteri Total (10^9)	Populasi Bakteri Selulolitik (10^7)	Populasi Protozoa (10^5)
0%	3,46 ^a ± 1,76	8,73 ^b ± 0,74	3,37 ^c ± 0,26
2%	3,46 ^a ± 1,76	6,27 ^a ± 1,48	3,33 ^c ± 0,24
4%	3,89 ^a ± 2,01	7,73 ^b ± 1,75	2,93 ^b ± 0,21
6%	4,45 ^b ± 2,34	10,60 ^c ± 2,01	2,33 ^a ± 0,09

Keterangan: Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Tabel 3. Produksi gas metan, proporsi VFA parsial, dan rasio A/P dengan suplementasi tepung kulit jengkol pada pelepah sawit fermentasi

Perlakuan	Gas Metan (%)	Asetat (%)	Propionat (%)	Butirat (%)	A/P
0%	8,07 ^c ± 1,05	62,33 ^b ± 2,84	19,97 ^a ± 2,12	17,70 ^b ± 0,99	3,16 ^b ± 0,45
2%	5,91 ^a ± 0,84	56,78 ^a ± 2,72	27,23 ^b ± 1,90	15,99 ^b ± 1,05	2,10 ^a ± 0,24
4%	7,30 ^b ± 1,19	65,44 ^b ± 2,23	18,70 ^a ± 1,65	15,86 ^b ± 1,96	3,52 ^c ± 0,36
6%	7,01 ^b ± 1,32	66,56 ^c ± 4,35	19,90 ^a ± 4,79	13,54 ^a ± 0,63	3,04 ^b ± 0,47

Keterangan: Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

tidak diikuti dengan peningkatan serat kasar yang tinggi, sehingga tidak berkontribusi pada peningkatan produksi gas metan. Guo *et al.* [19] melaporkan bahwa saponin menghambat gen metilkoenzim *M reductase* (*mcrA*) yang mengambil peran dalam tahap akhir metanogenesis. Selain itu penurunan produksi gas metan berhubungan dengan penurunan populasi protozoa rumen, Hu *et al.* [20]. Menurut Hess *et al.* [21], pada kenyataannya protozoa menyediakan ion H⁺ untuk archae metanogen yang berhubungan dengan ektosimbiosis dan endosimbiosis. Hal ini diprediksi bahwa penurunan protozoa akan diikuti oleh menurunkan produksi gas metan.

Suplementasi kulit soapberry fruit-mangosteen sampai 4% BK pakan yang mengandung 12% tannin dan 15% saponin menurunkan ($P < 0,01$) produksi metan dengan perhitungan tidak langsung, yaitu menggunakan pendekatan produksi VFA, Pongchompu *et al.* [22]. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Anantasook *et al.* [23] bahwa suplementasi senyawa bioaktif dari *Terminalia chebula* Retz (8,4% tanin terkondensasi dan 9,9% saponin) pada dosis 12 mg secara *in vitro* menurunkan produksi metan sampai 60,9%. Jadhav *et al.* [24] melaporkan bahwa suplementasi biji teh (0,8; 0,9 dan 1,0% dari konsentrat) menurunkan populasi protozoa (54,6; 57,2; dan 60,6%) dan produksi gas metan (29,0; 33,0 dan 36,0%) secara berurutan pada rasio hijauan dan konsentrat yang berbeda (rendah, medium dan tinggi hijauan)

Kulit jengkol mengandung serat kasar sebesar 26,91% dan menurut hasil penelitian Hidayah *et al.* [5] kandungan ligninnya sebesar 15,48-17,85%. Chaves *et al.* [10] menyatakan bahwa kualitas pakan berpengaruh terhadap produksi gas metan

(CH₄) pada kajian *in vitro* dimana rendahnya konsentrasi karbohidrat yang tidak berserat pada legume dan hijauan berkontribusi terhadap tingginya produksi gas metan per gram bahan kering yang dikonsumsi. Produksi gas metan lebih tinggi 25% pada pakan kualitas rendah, hal ini dikarenakan pada pakan kualitas tinggi rendah serat sehingga hasil fermentasi digunakan dalam pembentukan propionat. Jadhav *et al.* [25] menyatakan bahwa penurunan pencernaan secara *in vitro* mempengaruhi terjadinya penurunan produksi gas metan. Hasil yang sama ditemukan dari penelitian ini yaitu pencernaan bahan kering (KCBK) dan organiknya (KCBO) menurun dengan suplementasi kulit jengkol 2-6%. KCBK dari penelitian ini 47,38% vs 42,49-43,90% dan KCBOnya yaitu 46,47% vs 41,66-42,59%, Nurhaita *et al.* [26]

Penurunan proporsi asetat dan rasio A/P serta peningkatan proporsi propionat terjadi pada suplementasi tepung kulit jengkol sebanyak 2%, namun sebaliknya ketika ditambahkan 4-6%. Hal ini diduga dikarenakan pada level 2% kulit jengkol mampu meningkatkan kadar saponin namun tidak diikuti dengan peningkatan serat kasar yang tinggi. Semakin banyak penambahan kulit jengkol (4-6%) berkontribusi terhadap peningkatan kandungan serat kasar sehingga proporsi asetat dan rasio A/P meningkat dan menurunkan proporsi propionat.

Kara *et al.* [27] menyatakan bahwa saponin berperan terhadap metabolisme hidrogen (H₂) dari pembentukan gas metan bergeser digunakan untuk membentuk propionat. Hidrogen merupakan produk fermentasi dari protozoa, fungi, dan beberapa bakteri. Archae metanogen hidup dengan mengkonsumsi H₂ di dalam rumen dan berkompetisi dengan pembentukan propionat

oleh bakteri penghasil propionat, Zinder [28]. Moss *et al.* [14] menyatakan bahwa dalam pembentukan propionat juga membutuhkan H₂ sehingga akan berkompetisi dengan produksi gasmetan, sementara pembentukan asetat akan menghasilkan H₂ yang merupakan substrat archae metanogen untuk membentuk gasmetan dengan mereduksi H₂ dan CO₂ di dalam rumen. Sehingga dengan peningkatan produksi propionat akan menurunkan produksi asetat dan gasmetan.

Hasil penelitian Feng *et al.* [29] yang menggunakan saponin dari *Tribulus terrestris in vitro* menunjukkan bahwa penambahan 0,6-0,9 g/L cairan rumen menurunkan proporsi asetat (64,69-64,92%) dan rasio A/P (2,59-2,64) serta meningkatkan proporsi propionat (24,65-25,00%) dibandingkan dengan kontrol (66,19%, 2,93, dan 22,57%). Hasil yang sama ditunjukkan oleh penelitian Anantasook *et al.* [23], konsentrasi propionat meningkat 4.1% pada dosis 12 mg/g pakan dengan suplementasi *Terminalia chebula* yang mengandung saponin. Beauchemin *et al.* [2] melaporkan bahwa penurunan secara linier pada asetat dan rasio A/P ketika disuplementasi *Schinopsis quebracho-colorado* sebanyak 10 dan 20 g/kg BK

Penambahan kulit jengkol (4-6%) berkontribusi terhadap peningkatan kandungan serat kasar yang menyebabkan proporsi asetat dan rasio A/P meningkat dan menurunkan proporsi propionat. Luthfi *et al.* [30] melaporkan bahwa kandungan serat yang rendah pada pakan berkorelasi positif terhadap rasio A/P ($r = 0,35$, $P=0,09$). Pakan dengan serat kasar tinggi akan menghasilkan A/P rasio yang tinggi juga. Terjadi peningkatan rasio A/P sebesar 0,039 setiap kenaikan 1% dari serat kasar.

KESIMPULAN

Pelepah sawit fermentasi dapat disuplementasi dengan tepung kulit jengkol sebanyak 2% dari pakan karena mengganggu profil mikroba rumen, menurunkan produksi gas metan, proporsi asetat dan rasio A/P serta meningkatkan proporsi propionat.

KONFLIK KEPENTINGAN

Kami menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang berhubungan dengan keuangan, pribadi, atau lainnya dengan orang atau organisasi lain yang terkait dengan materi yang dibahas dalam naskah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang sudah mendanai penelitian ini melalui hibah penelitian terapan tahun 2019 dengan kontrak nomor : 491/ LPPM-UMB/2019 tanggal 10 Juli 2019.

REFERENSI

1. Khiaosa-ard, R. and Q. Zebeli. 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *J. Anim. Sci.* 91:1819–1830. Doi: 10.2527/jas.2012-5691
2. Beauchemin, K.A. and McGinn. 2006. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *J. Anim. Sci.* 84:1489– 1496. Doi.org/10.2527/2006.8461489x
3. ayanegara, A. 2008. Reducing methane emissions from livestock: nutritional approaches. Proceedings of Indonesian Students Scientific Meeting (ISSM), Institute for Science and Technology Studies (ISTECS) European Chapter, 13-15 May 2008, Delft, the Netherlands: 18-21
4. Klevenhusen, F., A. Muro-Reyes, R. Khiaosa-ard, B. U. Metzler-Zebeli, and Q. Zebeli. 2012. A meta-analysis of effects of chemical composition of incubated diet and bioactive compounds on *in vitro* ruminal fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176:61–69. Doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.008
5. Hidayah, N., R. Lubis, K.G. Wiryawan, and S. Suharti. 2019. Phenotypic identification, nutrients content, bioactive compounds of two jengkol (*Archidendron jiringa*)

- varieties from Bengkulu, Indonesia and their potentials as ruminant feed. *Biodiv.* 20:1671-1680. Doi.org/10.13057/biodiv/d200624
6. Hart K. J., D. R. Ya nez-Ruiz, S.M. Duval, N.R. McEwan, and C.J. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:8–35. Doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.007
 7. Soliva, C. R., S. L. Amelchanka, S. M. Duval, and M. Kreuzer. 2011. Ruminant methane inhibition potential of various pure compounds in comparison with garlic oil as determined with a rumen simulation technique (Rusitec). *British J. of Nutr.* 106:114–122. Doi: 10.1017/S0007114510005684
 8. Nurhaita, Ruswendi, Wismalinda, R., dan Robiyanto. 2014. Pemanfaatan pelepah sawit sebagai sumber hijauan dalam ransum sapi potong. *J. Past.* 4:38-41. Doi.org/10.24843/Pastura.2014.v04.i01.p09
 9. Nurhayu, A., A. B. L. Ishak, dan A. Ella. 2014. Pelepah dan daun sawit sebagai pakan substitusi hijauan pada pakan ternak sapi potong di kabupaten luwu timur sulawesi selatan. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan. Makasar
 10. Chaves, A. V., L. C. Thompson, A. D. Iwaasa, S. L. Scott, M. E. Olson, C. Benchaar, D. M. Veira, and T. A. McAllister. 2006. Effect of pasture type (alfalfa vs. grass) on methane and carbon dioxide production by yearling beef heifers. *Can. J. of Anim. Sci.* 86:409-418. Doi.org/10.4141/A05-081
 11. Astuti, T., M. N. Rofiq, dan Nurhaita. 2017. Evaluasi kandungan bahan kering, bahan organik dan protein kasar pelepah sawit fermentasi dengan penambahan sumber karbohidrat. *J. Peter.* 14:42–47
 12. Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. of the Brit. Grasslan Soc.* 18:104-111. Doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x
 13. Ogimoto, K. and S. Imai . 1981. Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societes. Tokyo
 14. Moss, A.R., J.P. Jouany, and J. Newbold. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annal. Zootech.* 49:231-253. hal.archives-ouvertes.fr/hal-00889894/
 15. Stell, R. G. and J. H. Torrie. 1991. Prinsip dan prosedur statistik, suatu pendekatan biometrik. edisi 2. alih bahasa B. Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
 16. Wallace, R.J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceeding of the Nutrition Society* 63:621–629.
 17. Patra, A.K., J. Stiverson, and Z.Yu. 2012. Effects of quillaja and yucca saponins on communities and select populations of rumen bacteria and archaea, and fermentation *in vitro*. *J. of Appl. Microbiol.* 113:1329-1340. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05440.x.
 18. Patra, A.K. and Z. Yu. 2013. Effects of vanillin, quillaja saponin, and essential oils on *in vitro* fermentation and protein-degrading microorganisms of the rumen. *Appl. Microbiol. Biotech.* 1-9. Doi: 10.1007/s00253-013-4930-x
 19. Guo, Y.Q., J.X. Liu, Y. Lu, W.Y. Zhu, S.E. Denman, and C.S. McSweeney. 2008. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen micro-organisms. *Lett. in Appl. Microbiol.* 47:421–426. Doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02459.x.
 20. Hu, W.L., J.X. Liu, J.A. Ye, Y.M. Wu, and Y.Q. Guo. 2005. Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120:333–339. Doi: 10.1080/17450390500353119.
 21. Hess, H.D., M. Kreuzer, T.E. Diaz, C.E. Lascano, J.E. Carulla, C.R. Soliva, and A. Machmüller. 2003. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 109:79–94. Doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00212-8
 22. Pongchompu, O., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, S. Wanapat, and A. Cherthong. 2009. Manipulation of ruminant fermentation and methane production by

- dietary saponins and tannins from mangosteen peel and soapberry fruit. *Archiv. of Anim. Nutr.* 63:389-400. Doi: 10.1080/17450390903020406
23. Anantasook, N., M. Wanapat, P. Gunun, and A. Cherdthong. 2016. Reducing methane production by supplementation of *Terminalia chebula* RETZ. containing tannins and saponins. *Anim. Sci. J.* 87:783-790. Doi: 10.1111/asj.12494.
 24. Jadhav, R.V., A. Kannan, R. Bhar, O.P. Sharma, A. Gulati, K. Rajkumar, G. Mal, B. Singh, and M.R. Verma. 2018. Effect of tea (*Camellia sinensis*) seed saponins on *in-vitro* rumen fermentation, methane production and true digestibility at different forage to concentrate ratios. *J. of Appl. Anim. Research.* 46:118-124. Doi.org/10.1080/09712119.2016.1270823
 25. Nurhaita, N. Definiati, dan N. Hidayah. 2020. Karakteristik fermentabilitas dalam rumen *in vitro* pada pelepah sawit fermentasi yang disuplementasi tepung kulit jengkol. *J. Peter.* 17:39-44. Doi.org/10.24014/jupet.v17i1.7710
 26. Kara, K., B.K. Güçlü, and E. Baytok. 2015. Comparison of nutrient composition and anti-methanogenic properties of different Rosaceae species. *J. Anim. Feed Sci.* 24:308-31. Doi.org/10.22358/jafs/65613/2015
 27. Zinder, S.H. 1993. Physiological ecology of methanogens. In: J.G., Ferry (eds), *methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry & genetics.* Chapman & Hall.Inc. New York
 28. Feng, Zhi-Hua., Yu-Feng Cao, Yan-Xia Gao, Qiu-Feng. Li, and Jian-Guo Li. 2012. Effect of gross saponin of *tribulus terrestris* on ruminal fermentation and methane production *in vitro*. *J. of Anim. and Vet. Adv.* 11: 2121-2125
 29. Beauchemin, K.A., S.M. McGinn, T.F. Martinez, and T.A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 85:1990- 199. Doi: 10.2527/jas.2006-686
 30. Luthfi, N., V. Restitrisnani, and M. Umar. 2018. The optimization of crude fiber content on fattening Madura bees cattle to achieve good A:P ratio and low methane production. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 119: 1-5