

POLIFENOL SEBAGAI ADITIF ALAMI DALAM UPAYA MITIGASI EMISI GAS METANA ASAL TERNAK RUMINANSIA

Anuraga Jayanegara

Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

ABSTRAK

Ternak ruminansia berkontribusi secara signifikan terhadap laju akumulasi gas metana di atmosfer yang terkait dengan efek pemanasan global. Di samping itu, emisi gas metana dari ternak ruminansia merupakan bentuk kehilangan energi yang sejatinya dapat dimanfaatkan untuk proses produksi dan reproduksi. Polifenol merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder tanaman yang dapat digunakan untuk menekan emisi gas metana. Hasil sejumlah penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif antara kadar polifenol berupa tanin dalam hijauan dengan emisi gas metana. Suplementasi tanaman mengandung tanin dan tanin yang sudah dipurifikasi pada pakan basal semisal rumput hay dan jerami dapat menurunkan metana. Baik tanin dapat dihidrolisis maupun tanin terkondensasi berkontribusi dalam mitigasi gas metana. Tidak hanya tanin, senyawa fenol non-tanin juga dapat mengurangi emisi metana. Hasil meta-analisis mengkonfirmasi efek tersebut, khususnya pada level tanin >2% dari bahan kering ransum. Namun demikian penggunaannya dalam ransum sebaiknya tidak melebihi 5% agar juga dapat berefek positif terhadap penampilan produksi ternak ruminansia.

Kata kunci: Polifenol, tanin, metana, produksi, ruminansia

1. PENDAHULUAN

Sektor peternakan berkontribusi secara signifikan terhadap pembangunan sumber daya manusia Indonesia dan daya saing bangsa melalui penyediaan berbagai sumber protein hewani seperti daging, susu dan telur. Pertambahan jumlah penduduk yang pesat, pertumbuhan ekonomi dan perubahan gaya hidup masyarakat yang terjadi pada beberapa dasawarsa terakhir mengakibatkan meningkatnya permintaan terhadap produk-produk peternakan. Namun demikian, kemampuan produksi peternakan dalam negeri masih jauh dari memadai sehingga sebagian produk peternakan seperti daging dan susu perlu dipasok melalui impor dari negara lain. Ketahanan pangan hewani akan terwujud apabila pasokan impor ini ke depannya dapat dipenuhi oleh produksi dalam negeri. Kondisi dan tantangan tersebut merupakan peluang yang sangat baik untuk menggiatkan usaha peternakan, termasuk di dalamnya upaya-upaya intensifikasi produksi ternak.

Di sisi lain, sektor peternakan khususnya dari ternak ruminansia berkontribusi terhadap permasalahan pemanasan global melalui emisi gas metana hasil fermentasi enterik di saluran pencernaan. Ternak ruminansia memproduksi sekitar 80 juta ton gas metana setiap tahunnya (Beauchemin et al., 2008). Jumlah emisi tersebut merepresentasikan 28% dari total emisi gas metana antropogenik yang merupakan hasil aktifitas manusia, sedangkan total emisi gas metana di atmosfer sekitar 63%-nya berasal dari emisi antropogenik (EPA, 2010). Meskipun dari segi konsentrasinya di atmosfer gas metana merupakan kontributor terbesar kedua setelah karbondioksida, indeks *global warming potential* atau potensi meretensi panas dari gas metana >20 kali lipat lebih besar dibandingkan dengan karbon dioksida (Iqbal et al., 2008). Besarnya kontribusi emisi gas metana dari sektor peternakan ini mendorong munculnya berbagai kebijakan dan program untuk mengurangi laju akumulasi gas tersebut, termasuk dari pendekatan pakan dan nutrisi (Cottle et al., 2011).

Selain berkontribusi terhadap pemanasan global, sebenarnya emisi gas metana dari ternak ruminansia merupakan salah satu bentuk kehilangan energi bagi ternak yang dapat menyebabkan berkurangnya jumlah energi untuk pertumbuhan serta berbagai fungsi produksi lainnya. Immig (1996) menyatakan bahwa sekitar 6-10% dari energi bruto pakan yang dikonsumsi ternak ruminansia dikonversi menjadi gas metana, sedangkan McCrabb dan Hunter (1999) menyatakan proporsi yang hilang tersebut sebesar 12%. Proporsi tersebut akan semakin tinggi pada ternak yang mengkonsumsi pakan berserat tinggi yang umumnya didapati di berbagai negara tropis, termasuk Indonesia. Dengan demikian upaya mitigasi emisi gas metana tidak hanya bermanfaat bagi konservasi lingkungan dalam menurunkan laju pemanasan global, melainkan juga sebagai upaya menurunkan energi yang hilang dari ternak. Dengan kata lain, upaya mitigasi gas metana akan juga menunjang terhadap peningkatan produktifitas ternak ruminansia.

Sejumlah antibiotik seperti monensin dan lasalocid telah digunakan dalam menurunkan emisi gas metana sekaligus meningkatkan produksi ternak ruminansia secara simultan (Van Nevel dan Demeyer, 1996; Guan et al., 2006; Castro-Montoya et al., 2012). Namun demikian, meningkatnya kekhawatiran masyarakat akan penggunaan antibiotik sebagai zat aditif pada ternak (sebagai contoh, di Uni Eropa sudah dilarang sejak 2006) mendorong perlu dilakukannya berbagai pendekatan alternatif yang lebih bersifat alami. Salah satu hal yang dapat dieksplorasi adalah potensi berbagai jenis tanaman atau hijauan

pakan yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti polifenol. Terkait hal ini, Indonesia sebagai salah satu negara dengan biodiversitas tanaman terbesar di dunia memiliki potensi yang sangat besar untuk pengembangannya, baik secara *scientific knowledge*, aplikasinya di masyarakat, serta potensi komersialisasi aditif alami ini pada skala nasional maupun global.

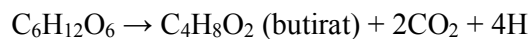
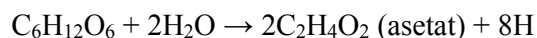
2. TUJUAN

Di dalam tulisan ini akan diulas mengenai efek mitigasi gas metana dari senyawa polifenol asal tanaman dari hasil-hasil penelitian terkini, pengaruhnya terhadap produktifitas ternak, serta rekomendasi penggunaannya dalam ransum ternak ruminansia.

3. LANDASAN TEORI

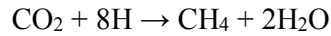
3.1. Pembentukan Gas Metana

Pakan yang dikonsumsi oleh ternak ruminansia akan mengalami proses degradasi di saluran pencernaan menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana melalui aksi berbagai jenis mikroba (bakteri, protozoa dan anaerobik fungi) dan enzim. Proses pencernaan ini terjadi utamanya di rumen dan usus halus, meskipun sebagian kecil juga terjadi di usus besar. Protein dan polisakarida (pati, selulosa, hemiselulosa, dsb.) didegradasi menjadi berbagai asam amino dan monosakarida (umumnya glukosa). Untuk monosakarida, glukosa difermentasi melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas dalam suasana anaerobik di rumen dengan menghasilkan asam lemak terbang (volatile fatty acids, VFA) seperti asetat, propionat dan butirir ([Moss et al., 2000](#)).

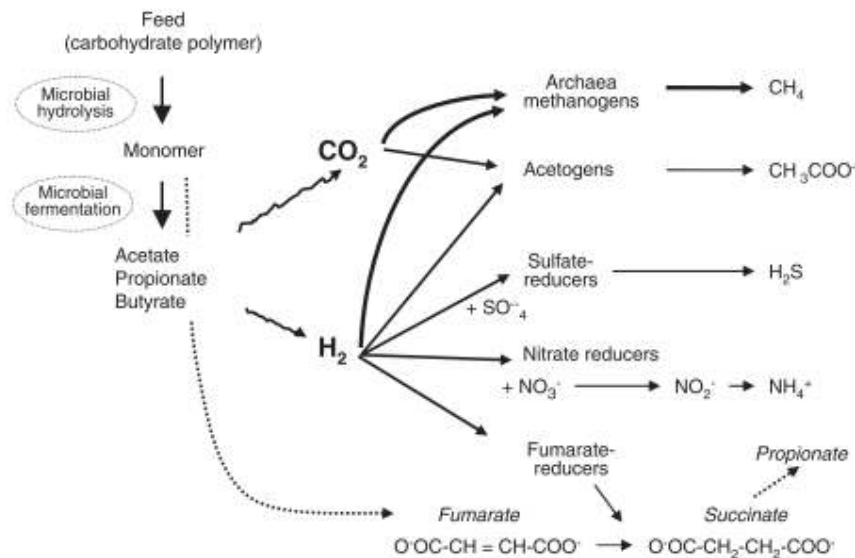


Selama proses oksidasi ini, NAD^+ direduksi menjadi $NADH$ yang kemudian akan dioksidasi kembali menjadi NAD^+ agar fermentasi dapat berlangsung secara kontinu ([McAllister dan Newbold, 2008](#)). Oleh karena lingkungan rumen bersifat anaerob, regenerasi NAD^+ dilakukan melalui transfer elektron dengan akseptor elektron berupa selain dari oksigen seperti CO_2 , sulfat, nitrat dan fumarat ([Gambar 1; Morgavi et al., 2010](#)).

Di antara akseptor-akseptor elektron tersebut, yang utama adalah melalui reduksi CO₂ menjadi CH₄ atau metana. Proses ini dinamakan dengan metanogenesis atau pembentukan gas metana.



Ketika terjadi keterbatasan konsentrasi akseptor elektron atau terjadi akumulasi hidrogen, maka tekanan parsial dari hidrogen meningkat yang dapat menghambat aktifitas enzim yang terlibat dalam proses transfer elektron seperti NADH dehidrogenase. Hal ini mengakibatkan terhambatnya fermentasi oleh mikroba di dalam rumen (Morgavi et al., 2010).



Gambar 1. Proses pencernaan dan fermentasi karbohidrat di dalam rumen berikut jalur reduksi hidrogen melalui aksi mikroba (Morgavi et al., 2010).

Metanogenesis di rumen dilakukan oleh sebuah grup mikroba yakni metanogen. Metanogen diklasifikasikan terpisah dengan bakteri karena perbedaan pada komposisi dinding sel serta sekuen 16S RNA ribosom (Baker, 1999). Metanogen hidup secara anaerobik obligat dan tumbuh berkembang pada lingkungan dengan potensial redoks < -300 mV dengan pH netral, yakni pada kisaran 6-8 (Boadi et al., 2004). Terdapat sekurang-kurangnya 5 spesies metanogen di rumen, yakni *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina mazei*, *Methanobacterium formicicum* dan

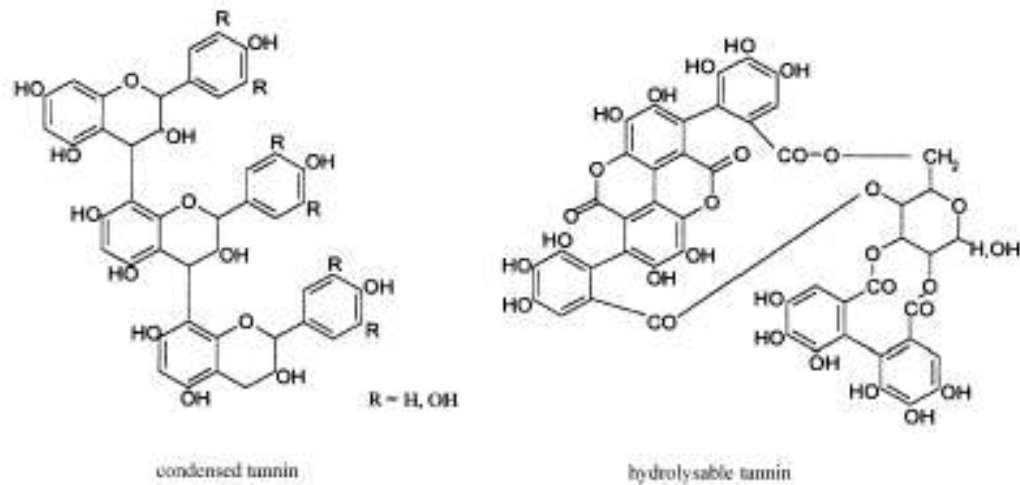
Methanomicrobium mobile (Morgavi et al., 2010). Spesies *M. ruminantium* dan *M. barkeri* memegang peranan penting dalam metanogenesis karena populasinya yang tinggi di rumen, yakni lebih dari 10^6 /ml. Metanogen menggunakan proses pembentukan metana untuk menghasilkan energi untuk pertumbuhannya (Van Nevel dan Demeyer, 1996; Martin et al., 2010). Substrat utama proses metanogenesis di rumen adalah H_2 , CO_2 dan format, meskipun penggunaan substrat lainnya juga dimungkinkan (Moss et al., 2000). Sebagian populasi metanogen hidup bersimbiosis dengan protozoa di mana simbiosis ini dapat berkontribusi hingga 37% dari emisi gas metana rumen (Finlay et al., 1994).

3.2. Polifenol pada Tanaman dan Karakteristiknya

Polifenol merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder tanaman dengan berbagai struktur dan konsentrasi yang bervariasi. Keberadaan polifenol di tanaman umumnya berperan sebagai agen proteksi atau mekanisme pertahanan dari serangan herbivora, serangga maupun mikroba (Scalbert, 1991). Polifenol secara garis besar dapat diklasifikasikan menjadi dua, yakni (1) tanin yang dapat mengikat dan mengendapkan protein, serta (2) fenol non-tanin yang tidak dapat mengendapkan protein. Umumnya tanin memiliki bobot molekul serta struktur yang lebih kompleks dibandingkan dengan senyawa fenol non-tanin seperti katekol, pirogallol, asam gallat, katekin dan flavanol-flavanol lainnya (Scalbert, 1991).

Berdasarkan struktur kimianya (Gambar 2), tanin dapat diklasifikasikan menjadi tanin dapat dihidrolisis (hydrolysable tannin, HT) dan tanin terkondensasi (condensed tannin, CT; juga dikenal dengan nama proantosianidin). Terdapat juga jenis tanin lainnya yang sebetulnya merupakan kombinasi dari dua struktur dasar tanin tersebut (McSweeney et al., 2001). Keragaman struktur tanin sangat tinggi di antara berbagai jenis spesies tanaman. Tanin dapat dihidrolisis mempunyai struktur karbohidrat (umumnya berupa molekul glukosa) dengan gugus hidroksil yang berikatan ester dengan struktur fenolik. Sedangkan tanin terkondensasi tidak memiliki struktur karbohidrat; keseluruhan strukturnya merupakan oligomer atau polimer dari unit-unit flavanoid yang berikatan secara kovalen dengan bobot molekul antara 2.000-4.000 kDa (Goel et al., 2005). Tanin dapat dihidrolisis, sesuai dengan namanya, lebih rentan terhadap hidrolisis baik enzimatis maupun non-enzimatis dibandingkan dengan tanin terkondensasi, serta lebih mudah larut dalam air. Lebih lanjut, berdasarkan produk hidrolisisnya, tanin dapat dihidrolisis terbagi

menjadi gallotanin (menghasilkan asam gallat dan glukosa) dan ellagitanin (menghasilkan asam ellagat dan glukosa).



Gambar 2. Struktur kimia tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (McSweeney et al., 2001).

Banyaknya gugus hidroksil pada tanin menyebabkan tanin dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Selain protein, tanin juga dapat berinteraksi dengan polisakarida dan mineral. Terkait interaksi antara tanin dengan protein, kekuatan ikatan di antara keduanya bergantung pada karakteristik dari baik tanin maupun protein tersebut, seperti bobot molekul, struktur tersier, titik isoelektrik dan kompatibilitas lokasi ikatan (Reed, 1995). Interaksi antara tanin dan protein terjadi melalui tiga macam ikatan, yakni (1) melalui ikatan hidrogen pada gugus hidroksil tanin, (2) ikatan hidrofobik antara struktur aromatik tanin dengan bagian hidrofobik dari protein, serta (3) ikatan kovalen melalui reaksi polimerisasi oksidatif yang diinduksi oleh panas, radiasi ultraviolet, dan aksi enzim polifenol oksidase (Silanikove et al., 2001).

Polifenol mempunyai efek biologis baik yang bersifat positif maupun negatif, tergantung pada konsentrasi serta sumber tanamannya (Makkar, 2003). Beberapa efek positif polifenol diantaranya adalah meningkatkan efisiensi penggunaan protein ransum, pertumbuhan ternak yang lebih cepat, meningkatkan produksi susu, meningkatkan fertilitas, mencegah terjadinya kembung atau bloat, serta menghambat infeksi nematoda (Mueller-Harvey, 2006). Efek positif polifenol ini umumnya terjadi pada konsentrasi

rendah hingga medium. Pada konsentrasi tinggi, polifenol dapat mengurangi konsumsi ransum dikarenakan rasanya yang *astringent* serta menurunkan pencernaan (Mueller-Harvey, 2006). Polifenol dalam konsentrasi yang tinggi juga menyebabkan efek toksik pada mikroba rumen melalui mekanisme inhibisi enzim, rusaknya dinding sel dan atau membran mikroba, serta pengikatan berbagai jenis mineral (Scalbert, 1991). Efek toksik polifenol pada ternak ruminansia diantaranya adalah menyebabkan pendarahan pada saluran pencernaan, nekrosis hati dan kerusakan ginjal; toksisitas ini khususnya terjadi pada ternak yang mengkonsumsi hijauan mengandung kadar tanin dapat dihidrolisis yang tinggi (Reed, 1995). Makkar (2003) menjelaskan bahwa efek toksik yang terjadi dikarenakan absorpsi derivat produk hasil degradasi tanin dapat dihidrolisis (degradasi parsial oleh mikroba rumen), kemudian konsentrasi fenol di darah meningkat, sementara kapasitas hati dalam mendetoksifikasi fenol tersebut terbatas.

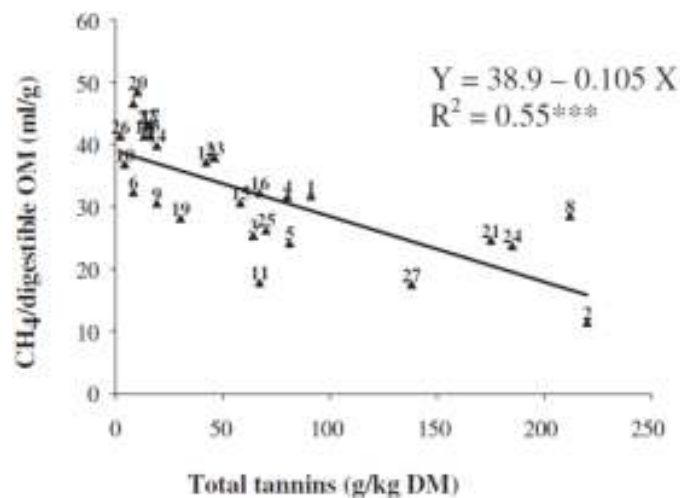
4. PEMBAHASAN

4.1. Tanaman Mengandung Polifenol

Tahap pertama untuk mengetahui bagaimana pengaruh polifenol pada tanaman atau hijauan dan emisi gas metana yang dihasilkannya adalah dengan melakukan studi korelasi di antara kedua variabel tersebut. Studi diawali oleh Jayanegara et al. (2009a) yang mengamati kandungan polifenol berbagai spesies tanaman herbal (n = 17 spesies) yang mayoritas berasal dari Mongolia serta mengamati emisi gas metana yang dihasilkan ketika diinkubasi secara *in vitro* menggunakan cairan rumen. Hasilnya menunjukkan bahwa spesies tanaman yang kadar polifenol-nya tinggi menghasilkan emisi gas metana yang rendah, terbukti dari adanya korelasi negatif antara kandungan total tanin tanaman dengan konsentrasi gas metana ($r = -0.60$, $P < 0,05$). Ketika tanaman ditambahkan polietilen glikol (PEG), yakni suatu zat yang dapat mendeaktivasi aktifitas biologis tanin (Jayanegara dan Sofyan, 2008), maka tanaman yang tinggi tanin tersebut kehilangan karakteristik rendah emisi gas metananya.

Penelitian kemudian dilanjutkan dengan menggunakan spesies tanaman yang disampling dari Indonesia (n = 27 spesies), di mana mayoritasnya adalah sampel yang berasal dari dedaunan pohon (Jayanegara et al., 2011a). Hasilnya mengkonfirmasi apa yang didapat pada penelitian sebelumnya, di mana tanaman bertanin tinggi (*Swietenia*

mahagoni, *Acacia villosa*, *Eugenia aquea*, *Myristica fragrans* dan *Clidemia hirta*) menghasilkan emisi gas metana yang rendah secara *in vitro*. Secara keseluruhan terdapat korelasi negatif antara kandungan total tanin dan emisi gas metana (Gambar 3). Hubungan antara kandungan total tanin dengan emisi gas metana sekali lagi diuji menggunakan sumber tanaman (n = 17 spesies) dari daerah yang kondisi lingkungannya berbeda, yakni dari pegunungan Alpen di Swiss dengan ketinggian di atas 2.100 m di atas permukaan laut (Jayanegara et al., 2011b). Menariknya, hasilnya tetap menunjukkan korelasi negatif antara konsentrasi total tanin dan emisi gas metana. Dengan demikian, melalui sejumlah penelitian dengan menggunakan tanaman dari berbagai lokasi sampling dapat disimpulkan bahwa kandungan polifenol di tanaman merupakan faktor penting yang berkontribusi terhadap mitigasi emisi gas metana dari saluran pencernaan ternak ruminansia.

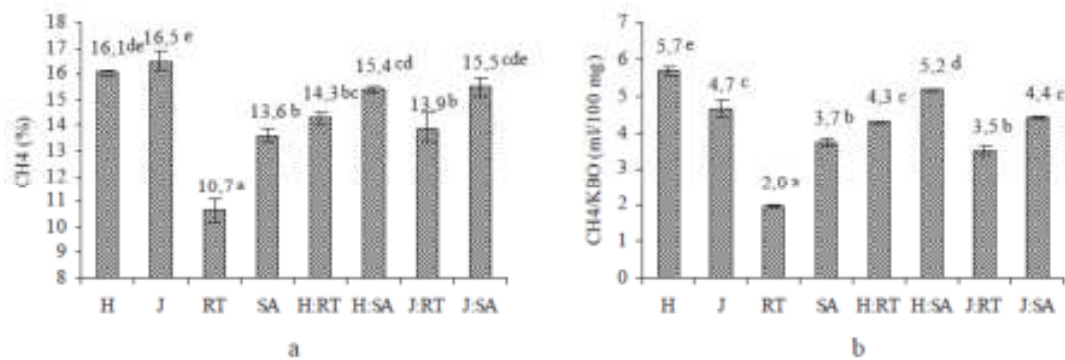


Gambar 3. Hubungan antara total tanin dan emisi gas metana per unit bahan organik tercerna (Jayanegara et al., 2011a).

4.2. Suplementasi Tanaman Mengandung Polifenol

Setelah terbukti bahwa tanaman yang mengandung kadar polifenol tinggi menghasilkan emisi gas metana yang rendah, maka pertanyaan berikutnya yang perlu dijawab adalah apakah karakteristik ini dapat diamati atau dapat dipertahankan ketika tanaman tersebut dicampur dengan bahan pakan lainnya (kontrol) atau ketika dilakukan suplementasi. Jayanegara et al. (2009b) menguji suplementasi hijauan mengandung polifenol yakni *Rhus typhina* (kandungan total tanin = 20,93% dari bahan kering, BK) dan

Salix alba (total tanin = 3,55% BK) pada rumput hay dan jerami barley pada level suplementasi 30% BK. Hasilnya menunjukkan bahwa suplementasi kedua jenis hijauan bertanin tersebut dapat menurunkan secara nyata ($P < 0,05$) emisi gas metana dibandingkan tanpa suplementasi (Gambar 4). Lebih lanjut, suplementasi kedua jenis hijauan tersebut meningkatkan pencernaan bahan organik hay dan jerami ($P < 0,05$; Tabel 1). Hal ini disebabkan karena baik *R. typhina* maupun *S. alba* memiliki pencernaan bahan organik yang tinggi. Kecernaan pakan yang tinggi akan mendorong tingkat produktifitas ternak yang lebih tinggi (Ferraretto et al., 2013). Mekanisme lainnya terkait peningkatan produktifitas ternak sebagai akibat dari suplementasi hijauan mengandung polifenol adalah melalui proteksi protein berkualitas tinggi dari degradasi oleh mikroba rumen (Mueller-Harvey, 2006; Jayanegara et al., 2010a), sehingga protein lebih tersedia bagi hewan inangnya.



Gambar 4. Produksi gas metana (a) dan produksi metana per unit bahan organik tercerna (b) dari ransum perlakuan (Jayanegara et al., 2009b).

KBO, pencernaan bahan organik; H, hay; J, jerami; RT, *Rhus typhina*; SA, *Salix alba*; H:RT, Hay:*R. typhina* 70:30 (w/w); H:SA, Hay: *S. alba* 70:30 (w/w); J:RT, Jerami:*R. typhina* 70:30 (w/w); J:SA, Jerami: *S. alba* 70:30 (w/w).

Superskrip berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf $P < 0,05$.

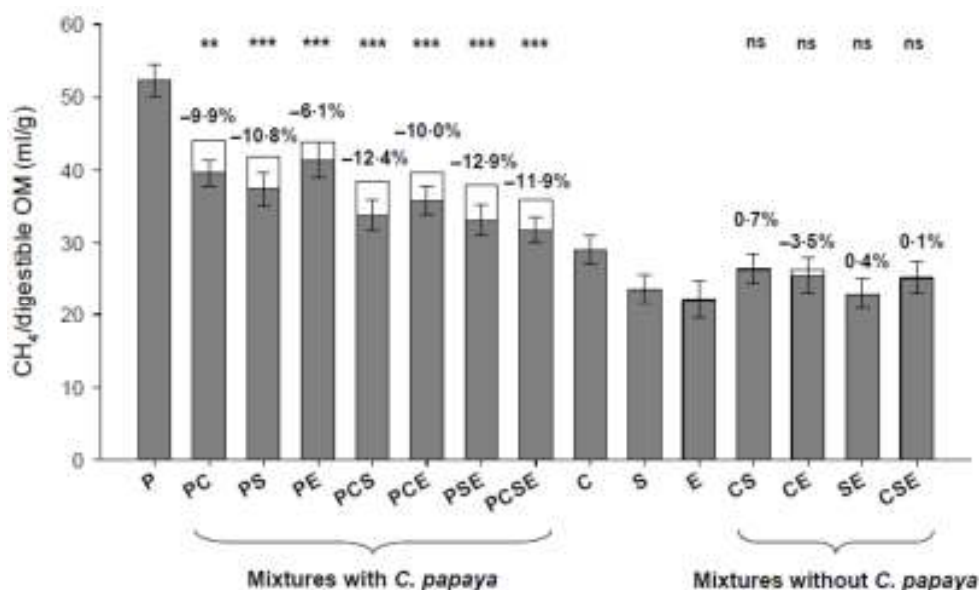
Tabel 1. Produksi gas, konstanta a + b dan c, serta kecernaan bahan organik ransum perlakuan (Jayanegara et al., 2009b).

Perlakuan	Gas ^a (ml)	a + b (ml)	c (ml/jam)	KBO (%)
H	68,8 ^a	85,3 ^c	0,071 ^{ad}	64,2 ^e
J	33,8 ^a	td ^a	0,003 ^a	41,2 ^a
RT	48,8 ^c	53,9 ^d	0,101 ^e	85,7 ^f
SA	74,2 ^f	83,6 ^e	0,090 ^f	86,7 ^f
H:RT	63,4 ^d	73,8 ^b	0,081 ^{de}	68,9 ^e
H:SA	72,7 ^f	84,2 ^c	0,082 ^{de}	70,8 ^e
J:RT	38,3 ^b	49,1 ^a	0,063 ^c	51,1 ^b
J:SA	46,9 ^c	71,2 ^b	0,045 ^b	55,4 ^c
SEM	3,35	3,52	0,007	3,13

Keterangan: KBO=kecernaan bahan organik; H=hay; J=jerami; RT=*Rhus typhina*; SA=*Salix alba*; H:RT=Hay:*R. typhina* 70:30 (w/w); H:SA=Hay:*S. alba* 70:30 (w/w); J:RT=Jerami:*R. typhina* 70:30 (w/w); J:SA=Jerami:*S. alba* 70:30 (w/w); a=setelah inkubasi selama 24 jam; a + b=produksi gas maksimum pada t mendekati tak hingga (asintot); c=laju produksi gas kumulatif; *td=tidak ditentukan. Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

4.3. Efek Asosiatif Tanaman Mengandung Polifenol dalam Mitigasi Gas Metana

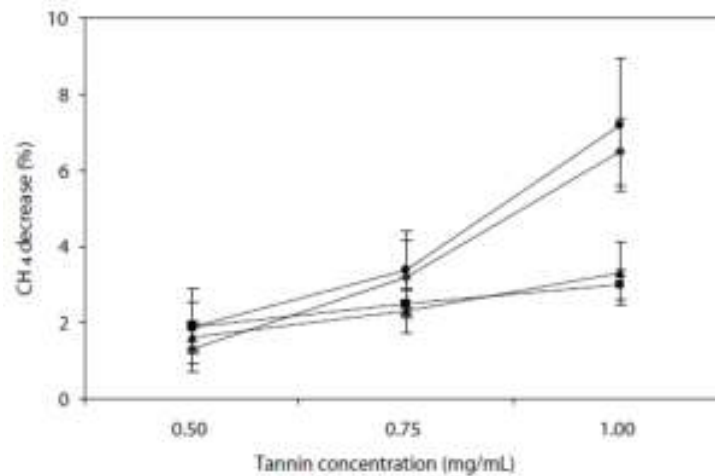
Hijauan yang kadar tanin-nya rendah secara umum menghasilkan emisi metana yang tinggi. Ketika hijauan bertanin tinggi dicampurkan dengan hijauan yang rendah kadar tanin-nya tersebut, emisi metana menjadi berkurang. Menariknya, emisi metana dari campuran tersebut lebih rendah dari hanya sekedar rata-rata keduanya. Ini mengindikasikan adanya efek asosiatif atau interaksi. Hal ini terlihat dari penelitian yang dilakukan oleh Jayanegara et al. (2013). Inkubasi *in vitro* daun *Carica papaya* (kandungan tanin rendah) menghasilkan gas metana 181 ml/l total gas. Sementara itu inkubasi beberapa hijauan bertanin yakni daun *Clidemia hirta*, *Swietenia mahagoni* dan *Eugenia aquea* menghasilkan metana yang lebih rendah (P<0,05), yakni masing-masing 112, 91, dan 122 ml/l total gas. Kombinasi salah satu atau lebih dari spesies hijauan bertanin dengan *C. papaya* menghasilkan emisi gas metana yang lebih rendah dari sekedar rata-ratanya sehingga hubungannya tidak bersifat aditif, melainkan ada interaksi/efek asosiatif (Gambar 5). Ketika antar hijauan bertanin tersebut dicampurkan satu dengan lainnya (tanpa ada hijauan dengan tanin rendah), maka efek asosiatif menjadi tidak nyata.



Gambar 5. Efek spesies tanaman atau kombinasinya terhadap emisi gas metana per unit bahan organik tercerna *in vitro* (Jayanegara et al., 2013). Warna abu-abu merepresentasikan nilai hasil observasi sedangkan warna putih merupakan nilai ekspektasinya. Nilai yang berada di atas histogram menunjukkan efek asosiatif, yakni $(\text{nilai observasi} - \text{nilai ekspektasi}) / \text{nilai ekspektasi} \times 100\%$. Signifikansi efek asosiatif: **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$; ns, tidak signifikan. C, *Clidemia hirta*; E, *Eugenia aquea*; P, *Carica papaya*; S, *Swietenia mahagoni*.

4.4. Purifikasi Tanin dan Efeknya Terhadap Emisi Gas Metana

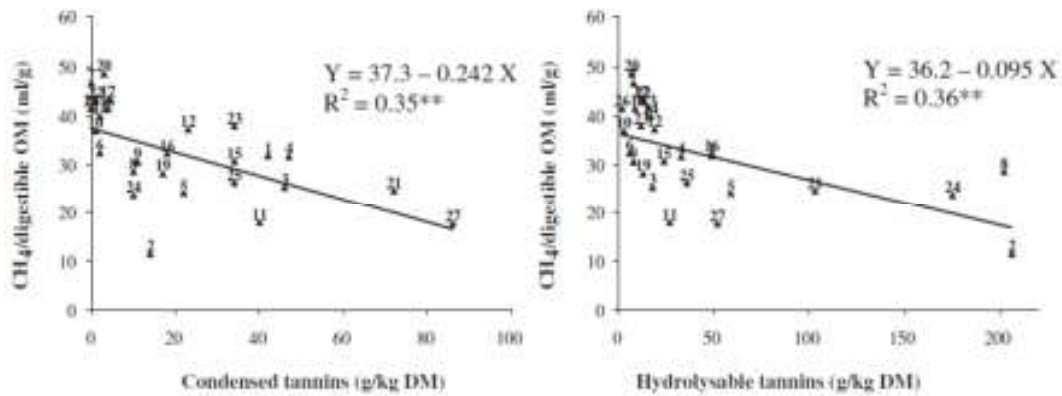
Paparan data sebelumnya menunjukkan bahwa tanin yang terdapat dalam hijauan berpotensi sebagai agen dalam mitigasi emisi gas metana dari hasil proses fermentasi rumen. Namun demikian, kesimpulan tersebut terkendala dengan adanya komponen lain, baik berupa nutrisi maupun senyawa metabolit sekunder lain, yang dapat berpengaruh terhadap emisi gas metana. Untuk mengkonfirmasi hasil tersebut, tanin dari beberapa sumber (chestnut, mimosa, quebracho dan sumach) dipurifikasi menggunakan metode gel kromatografi (Jayanegara et al., 2009c; Jayanegara et al., 2010b). Kemudian tanin yang telah dipurifikasi tersebut ditambahkan dengan beberapa level berbeda (0,5, 0,75, 1,0 mg tanin/ml cairan rumen-buffer) pada pakan campuran rumput hay:konsentrat 70:30. Hasilnya menunjukkan bahwa meningkatnya kadar tanin murni yang ditambahkan menyebabkan emisi gas metana semakin menurun (Gambar 6; Jayanegara et al., 2010b). Terlihat pula bahwa setiap sumber tanin terpurifikasi memiliki kapasitas mitigasi metana yang berbeda-beda.



Gambar 6. Efek tanin terpurifikasi dari chestnut (-◆-), mimosa (-■-), quebracho (-▲-) dan sumach (-●-) terhadap penurunan emisi metana ketika ditambahkan pada ransum hay:konsentrat (70:30) pada konsentrasi 0,5, 0,75 dan 1,0 mg/ml (Jayanegara et al., 2010b).

4.5. Tanin dapat Dihidrolisis vs Tanin Terkondensasi

Tanin dari chestnut dan sumach merupakan sumber tanin yang dapat dihidrolisis, sedangkan mimosa dan quebracho merupakan sumber tanin terkondensasi. Dari Gambar 6 di atas (Jayanegara et al., 2010b) terlihat bahwa kemampuan mitigasi metana chestnut dan sumach lebih tinggi dibandingkan dengan mimosa dan quebracho. Melalui data tersebut dapat disimpulkan bahwa baik tanin dapat dihidrolisis maupun tanin terkondensasi dapat menurunkan emisi gas metana, di mana efeknya sangat tergantung pada konsentrasi tanin yang ditambahkan. Selain itu juga tanin dapat dihidrolisis terlihat lebih efektif dalam mitigasi gas metana jika dibandingkan dengan tanin terkondensasi.



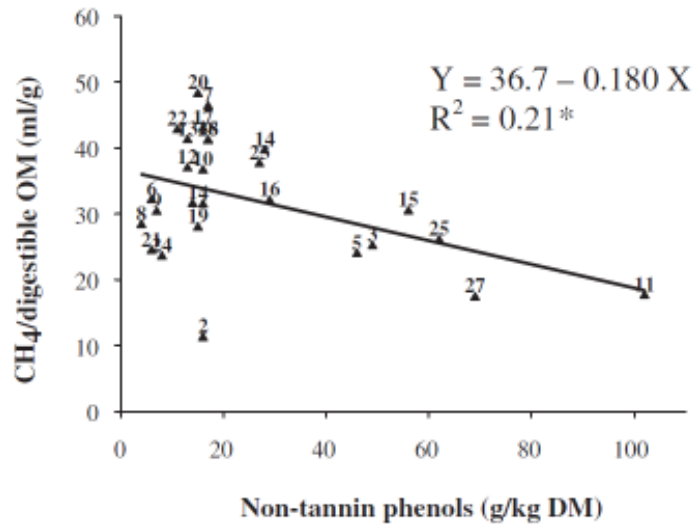
Gambar 7. Hubungan antara tanin terkondensasi atau tanin dapat dihidrolisis dengan emisi gas metana per unit bahan organik tercerna (Jayanegara et al., 2011a).

Pada penelitian lain, [Jayanegara et al. \(2011a\)](#) mengkonfirmasi bahwa baik tanin terkondensasi maupun tanin dapat dihidrolisis berkontribusi secara signifikan terhadap mitigasi emisi gas metana dengan nilai koefisien determinasi yang hampir sama (Gambar 7). Namun, berbeda dengan [Jayanegara et al. \(2010b\)](#), kapasitas mitigasi tanin terkondensasi lebih tinggi dibandingkan dengan tanin dapat dihidrolisis. Hal ini terlihat dari *slope* atau kemiringan persamaan regresi linier yang terdapat pada Gambar 7, di mana *slope* untuk tanin terkondensasi lebih besar nilainya dibandingkan dengan tanin dapat dihidrolisis. Respon yang berbeda ini diduga disebabkan struktur tanin yang bervariasi dalam setiap sumber tanaman ([Makkar, 2003](#); [Mueller-Harvey, 2006](#)). Lebih lanjut, [Jayanegara et al. \(2010b\)](#) mengemukakan bahwa kemampuan mitigasi emisi gas metana dari tanin lebih ditentukan oleh kapasitas presipitasi protein dari masing-masing jenis tanin dibandingkan dengan struktur dari tanin tersebut (tanin terkondensasi vs tanin mudah dihidrolisis).

4.6. Senyawa Fenolik Non-Tanin

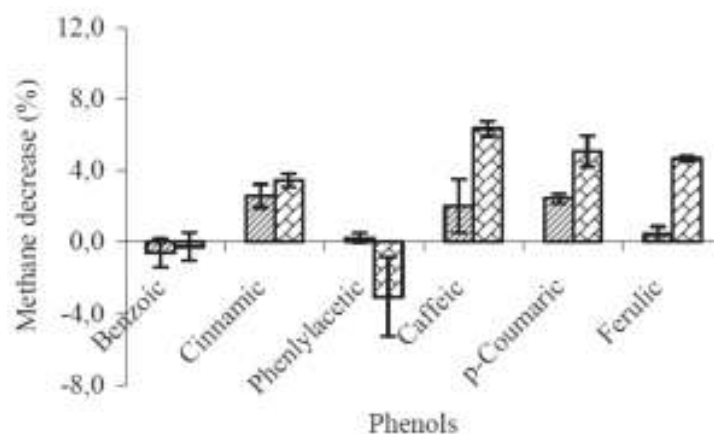
Efek mitigasi metana tidak hanya dari tanin (polifenol yang dapat mengendapkan protein), namun juga dari golongan senyawa fenolik non-tanin atau fenolik sederhana. Terdapat korelasi negatif yang signifikan antara kandungan fenolik non-tanin di hijauan dengan emisi gas metana per unit bahan organik tercerna (Gambar 8; [Jayanegara et al., 2011a](#)). Ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik non-tanin juga berperan dalam

menurunkan emisi gas metana yang diproduksi oleh metanogen di dalam rumen ternak ruminansia.



Gambar 8. Hubungan antara senyawa fenolik non-tanin dengan emisi gas metana per unit bahan organik tercerna (Jayanegara et al., 2011a).

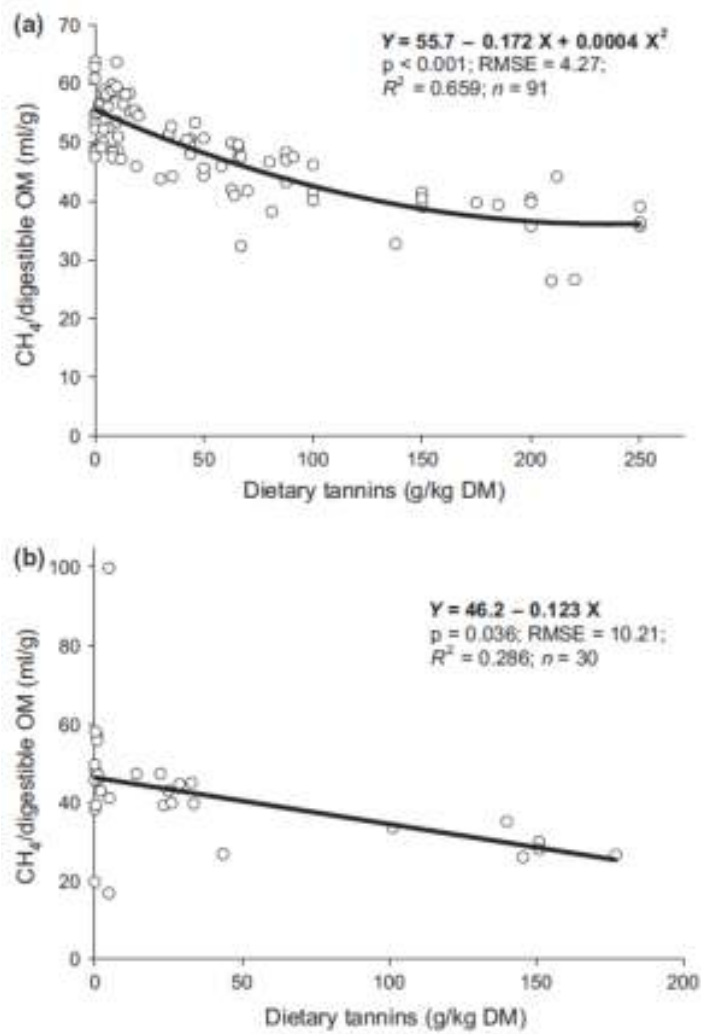
Pada studi lainnya, [Jayanegara \(2009d\)](#) menguji efektifitas beberapa jenis senyawa fenol sederhana dalam bentuk asamnya, yakni asam benzoat, sinamat, fenilasetat, kafeat, p-koumarat dan ferulat pada konsentrasi penambahan yang berbeda, yakni 2 dan 5 mM (Gambar 9). Hasilnya menunjukkan bahwa asam benzoat dan fenilasetat tidak efektif dalam menurunkan gas metana pada kedua level pengujian. Sementara itu, asam sinamat, kafeat, p-koumarat dan ferulat dapat menurunkan emisi gas metana secara signifikan dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan senyawa fenol sederhana). Semakin tinggi konsentrasi penambahan dari senyawa-senyawa tersebut (5 vs 2 mM) maka penurunan emisi metana juga semakin tinggi. Dari studi ini dapat dilihat pola bahwa semakin banyak gugus fenolik yang terdapat dalam senyawa-senyawa yang diujikan maka kapasitas mitigasi metananya semakin meningkat.



Gambar 9. Persentase penurunan emisi metana dibandingkan kontrol dari penambahan beberapa senyawa fenol sederhana pada level 2 dan 5 mM (Jayanegara, 2009d).

4.7. Meta-analisis Kadar Polifenol dan Emisi Gas Metana

Beberapa penelitian di atas membuktikan bahwa polifenol dapat menurunkan emisi gas metana. Namun demikian terdapat sejumlah penelitian lain yang menyimpulkan sebaliknya, yakni bahwa tanin tidak efektif dalam mitigasi gas metana (Sliwinski et al., 2002; Beauchemin et al., 2007; De Oliveira et al., 2007). Diduga bahwa konsentrasi tanin yang diujikan pada penelitian-penelitian tersebut terlalu rendah sehingga belum dapat memunculkan efek mitigasi gas metana dari tanin. Oleh karena itu Jayanegara et al. (2012) melakukan sebuah studi meta-analisis efek kadar tanin dalam pakan dan emisi gas metana dengan cara mengkompilasi berbagai studi yang terkait, baik baik yang berasal dari eksperimen *in vitro* maupun eksperimen *in vivo*. Melalui studi meta-analisis ini terlihat dengan jelas bahwa kadar tanin dalam pakan sangat mempengaruhi emisi gas metana; semakin tinggi kadar tanin maka emisi gas metananya semakin berkurang, baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Gambar 10). Pada studi *in vitro*, kadar tanin dengan emisi metana berhubungan secara kuadratik sementara pada studi *in vivo* hubungan keduanya bersifat linier. Khusus untuk studi *in vivo*, pada kadar tanin yang rendah terlihat variasi emisi gas metana yang besar. Ini menunjukkan adanya perbedaan emisi metana dari pakan basal yang diberikan dan tanin masih belum dapat menunjukkan efeknya secara jelas. Pada level tanin sekitar 2% atau lebih dari bahan kering, maka efek mitigasi gas metana secara *in vivo* mulai terlihat secara jelas.



Gambar 10. Hubungan kadar tanin dalam pakan (g/kg bahan kering) dan emisi gas metana per unit bahan organik tercerna (ml/g) dari (a) eksperimen *in vitro* dan (b) eksperimen *in vivo* (Jayanegara et al., 2012).

Meskipun pada kadar tanin lebih tinggi akan lebih menurunkan emisi gas metana, namun kondisi yang demikian juga akan menyebabkan berkurangnya tingkat pencernaan pakan karena aksi tanin yang berinteraksi dengan komponen protein dan karbohidrat dari pakan, khususnya fraksi tanin terkondensasi (Jayanegara dan Palupi, 2010c). Oleh karena itu, kadar polifenol yang direkomendasikan untuk menurunkan emisi gas metana sekaligus dapat meningkatkan produktifitas ternak atau tidak berefek negatif terhadap penampilan produksi ternak adalah pada kisaran 2 hingga 5% dari konsumsi bahan kering pakan.

5. KESIMPULAN

Polifenol yang terkandung dalam tanaman dapat menurunkan emisi gas metana sehingga sangat prospektif untuk dikembangkan menjadi teknologi aditif alami dalam rangka mengurangi laju akumulasi gas rumah kaca di atmosfer. Efek ini sangat bergantung pada tanaman sumber polifenol serta level polifenol yang digunakan dalam ransum. Baik fraksi tanin dapat dihidrolisis maupun tanin terkondensasi berkontribusi dalam mitigasi gas metana. Selain itu, senyawa fenolik non-tanin juga berkontribusi menurunkan metana. Namun demikian, penggunaan polifenol pada konsentrasi berlebih (lebih dari 5% tanin dalam bahan kering) dapat berdampak negatif terhadap daya cerna serta performan ternak, sehingga penggunaannya dalam ransum perlu dibatasi. Untuk dapat memunculkan efek mitigasi gas metana serta dapat meningkatkan produktifitas ternak secara simultan, polifenol dalam bentuk total tanin dapat digunakan pada rentang 2-5% dalam ransum.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Baker, S.K., 1999. Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. *Aust. J. Agric. Res.* 50, 1293–1298.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Martinez, T.F., McAllister, T.A., 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 1990–1996.
- Beauchemin, K.A., Kreuzer, M., O'Mara, F., McAlister, T.A., 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 21–27.
- Boadi, D., Benchaar, C., Chiquette, J., Masse, D., 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: update review. *Can. J. Anim. Sci.* 84, 319–335.
- Castro-Montoya, J.M., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2012. Effects of monensin on the chemical composition of the liquid associated microbial fraction in an *in vitro* rumen fermentation system. *Livest. Sci.* 150, 414–418.
- Cottle, D.J., Nolan, J.V., Wiedemann, S.G., 2011. Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Anim. Prod. Sci.* 51, 491–514.
- De Oliveira, S.G., Berchielli, T.T., Pedreira, M.S., Primavesi, O., Frighetto, R., Lima, M.A., 2007. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135, 236–248.

- EPA (United States Environmental Protection Agency), 2010. Methane and Nitrous Oxide Emissions from Natural Sources. United States Environmental Protection Agency, Office of Atmospheric Programs, Washington, DC, USA. <http://www.epa.gov/methane/pdfs/Methane-and-Nitrous-Oxide-Emissions-From-Natural-Sources.pdf>.
- Ferraretto, L.F., Crump, P.M., Shaver, R.D., 2013. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 96, 533–550.
- Finlay, D.J., Esteban, G., Clarke, K.J., Williams, A.G., Embley, T.M., Hirt, R.P., 1994. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogenesis. *FEMS Microbiol. Lett.* 117, 157–162.
- Goel, G., Puniya, A.K., Aguilar, C.N., Singh, K., 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds. *Naturwissenschaften* 92, 497–503.
- Guan, H., Wittenberg, K.M., Ominski, K.H., Krause, D.O., 2006. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. *J. Anim. Sci.* 84, 1896–1906.
- Immig, I., 1996. The rumen and hindgut as source of ruminant methanogenesis. *Environ. Monit. Assess.* 42, 57–72.
- Iqbal, M.F., Cheng, Y.F., Zhu, W.Y., Zeshan, B., 2008. Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 2747–2755.
- Jayanegara, A., Sofyan, A., 2008. Penentuan aktifitas biologis tanin secara *in vitro* menggunakan Hohenheim gas test dengan polietilen glikol sebagai determinan. *Med. Pet.* 31, 44–52.
- Jayanegara, A., Togtokhbayar, N., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009a. Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an *in vitro* rumen fermentation system. *Anim. Feed Sci. Technol.* 150, 230–237.
- Jayanegara, A., Sofyan, A., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009b. Kinetika produksi gas, pencernaan bahan organik dan produksi gas metana *in vitro* pada hay dan jerami yang disuplementasi hijauan mengandung tanin. *Med. Pet.* 32, 120–129.
- Jayanegara, A., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2009c. Emisi metana dan fermentasi rumen *in vitro* ransum hay yang mengandung tanin murni pada konsentrasi rendah. *Med. Pet.* 32, 184–194.
- Jayanegara, A., 2009d. Ruminant methane production on simple phenolic acids addition in *in vitro* gas production method. *Med. Pet.* 32, 53–62.
- Jayanegara, A., Sabhan, T., Takyi, A.K., Salih, A.O., Hoffmann, E.M., 2010a. Ruminant fermentation kinetics of *Moringa* and *Peltiphyllum* supplements during early incubation period in the *in vitro* Reading Pressure Technique. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 35, 165–171.
- Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2010b. Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: effects of polyphenols and saponins. In: Odongo, N.E., Garcia, M., Viljoen, G.J. (eds). Sustainable

Improvement of Animal Production and Health. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 151–157.

- Jayanegara, A., Palupi, E., 2010c. Condensed tannin effects on nitrogen digestion in ruminants: a meta-analysis from *in vitro* and *in vivo* studies. *Med. Pet.* 33, 176–181.
- Jayanegara, A., Wina, E., Soliva, C.R., Marquardt, S., Kreuzer, M., Leiber, F., 2011a. Dependence of forage quality and methanogenic potential of tropical plants on their phenolic fractions as determined by principal component analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163, 231–243.
- Jayanegara, A., Marquardt, S., Kreuzer, M., Leiber, F., 2011b. Nutrient and energy content, *in vitro* ruminal fermentation characteristics and methanogenic potential of alpine forage plant species during early summer. *J. Sci. Food Agric.* 91, 1863–1870.
- Jayanegara, A., Leiber, F., Kreuzer, M., 2012. Meta-analysis on the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from *in vivo* and *in vitro* experiments. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96, 365–375.
- Jayanegara, A., Marquardt, S., Wina, E., Kreuzer, M., Leiber, F., 2013. *In vitro* indications for favourable non-additive effects on ruminal methane mitigation between high-phenolic and high-quality forages. *Brit. J. Nutr.* 109, 615–622.
- 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 Rum. Res.* 49, 241–256.
- Martin, C., Morgavi, D.P., Doreau, M., 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to farm scale. *Animal* 4, 351–365.
- McAllister, T.A., Newbold, C.J., 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 7–13.
- McCraib, G.J., Hunter, R.A., 1999. Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems. *Aust. J. Agric. Res.* 50, 1335–1340.
- McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., Krause, D.O., 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91, 83–93.
- Morgavi, D.P., Forano, E., Martin, C., Newbold, C.J., 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal* 4, 1024–1036.
- Moss, A.R., Jouany, J.P., Newbold, J., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49, 231–253.
- Mueller-Harvey, I., 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* 86, 2010–2037.
- Reed, J.D., 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73, 1516–1528.
- Scalbert, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochem.* 30, 3875–3883.

- Silanikove, N., Perevolotsky, A., Provenza, F.D., 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91, 69–81.
- Sliwinski, B.J., Soliva, C.R., Machmuller, A., Kreuzer, M., 2002. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101, 101–114.
- Van Nevel, C.J., Demeyer, D.I., 1996. Control of rumen methanogenesis. *Environ. Monit. Assess.* 42, 73–97.