

• *Buku Ajar* •
**Komponen
ANTI
NUTRISI**
pada Pakan

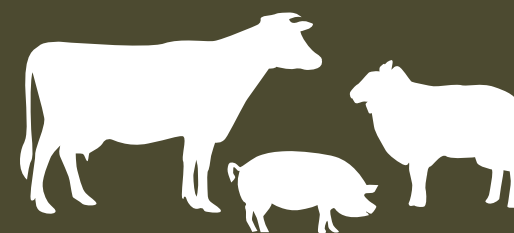


Anuraga Jayanegara | Muhammad Ridla | Erika B. Laconi | Nahrowi

• *Buku Ajar* • **Komponen ANTI NUTRISI pada Pakan**



• *Buku Ajar* •
**Komponen
ANTI
NUTRISI**
pada Pakan



Anuraga Jayanegara
Muhammad Ridla
Erika B. Laconi
Nahrowi

PT Penerbit IPB Press

Jalan Taman Kencana No. 3, Bogor 16128

Telp. 0251 - 8355 158 E-mail: penerbit.ipbpress@gmail.com

 Penerbit IPB Press  @IPBpress  ipbpress  www.ipbpress.com

Peternakan

ISBN : 978-602-440-764-3



9 786024 407643



• *Buku Ajar* •

Komponen

Antinutrisi

pada Pakan

• *Buku Ajar* •

Komponen
Antinutrisi
pada Pakan

Penulis:

Anuraga Jayanegara

Muhammad Ridla

Erika B. Laconi

Nahrowi



Penerbit IPB Press

Jalan Taman Kencana No. 3,
Kota Bogor - Indonesia

C.01/07.2019

Judul Buku:

Komponen Antinutrisi pada Pakan

Penulis:

Anuraga Jayanegara
Muhammad Ridla
Erika B. Laconi
Nahrowi

Penyunting Bahasa:

Muti Rizqydiani

Desain Sampul & Penata Isi:

Andreas Levi Aladin

Korektor:

Nopionna Dwi Andari

Jumlah Halaman:

108 + 18 halaman romawi

Edisi/Cetakan:

Cetakan 1, Juli 2019

PT Penerbit IPB Press

Anggota IKAPI

Jalan Taman Kencana No. 3, Bogor 16128

Telp. 0251 - 8355 158 E-mail: penerbit.ipbpress@gmail.com

ISBN: 978-602-440-764-3

Dicetak oleh Percetakan IPB, Bogor - Indonesia

Isi di Luar Tanggung Jawab Percetakan

© 2019, HAK CIPTA DILINDUNGI OLEH UNDANG-UNDANG

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku
tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT yang telah memudahkan kami untuk menyelesaikan penulisan buku Komponen Antinutrisi pada Pakan ini. Buku ini merupakan buku ajar dari sejumlah mata kuliah, baik pada program sarjana maupun pascasarjana di Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Beberapa mata kuliah yang terkait dengan buku ajar ini yakni Pengetahuan Bahan Pakan (S-1), Teknologi Pengolahan Pakan (S-1), Antinutrisi, Toksik, dan Metabolisme (S-2), serta Rekayasa Pakan Fungsional (S-3). Sebagaimana terindikasi dari namanya, buku ini berisi kompilasi dari sejumlah komponen antinutrisi yang terdapat pada pakan. Karakteristik spesifik dari masing-masing komponen antinutrisi diulas di dalam buku ini.

Meskipun buku ini lebih difokuskan sebagai buku ajar, namun demikian penggunaannya tentu tidak terbatas pada beberapa mata kuliah tersebut. Baik akademisi, mahasiswa, praktisi industri pakan, peternak, dan siapapun yang tertarik mengenai ilmu makanan ternak dapat menggunakan buku ini sesuai dengan minat dan keperluan masing-masing.

Kami menyadari bahwa buku ini masih jauh dari sempurna dan terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu kami mengharapkan masukan, saran, dan kritik yang konstruktif dalam rangka perbaikan buku ini di edisi-edisi berikutnya. Akhir kata, kami mengucapkan selamat menikmati dan terima kasih.

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
PENDAHULUAN	xvii
BAB 1 TANIN.....	1
1.1 Struktur Kimia, Sintesis, dan Karakteristik Tanin	1
1.2 Efek Tanin pada Ternak	3
1.3 Adaptasi Ternak terhadap Tanin.....	8
1.4 Detanifikasi (Penghilangan atau Inaktivasi Tanin).....	8
BAB 2 SAPONIN.....	11
2.1 Struktur dan Karakteristik Saponin.....	11
2.2 Efek Biologis Saponin.....	12
BAB 3 INHIBITOR PROTEASE.....	17
3.1 Karakteristik Kimia	17
3.2 Dampak Inhibitor Protease terhadap Ternak.....	18
3.3 Cara Menurunkan Kadar Protease Inhibitor	19
BAB 4 LEKTIN (HEMAGLUTIN)	21
4.1 Karakteristik Kimia.....	21
4.2 Dampak Lektin terhadap Ternak	21
4.3 Cara Menurunkan Kadar Lektin.....	23

BAB 5	ASAM OKSALAT	25
	5.1 Karakteristik Kimia.....	25
	5.2 Sumber Oksalat pada Pakan.....	26
	5.3 Efek Oksalat terhadap Ternak	26
BAB 6	ASAM FITAT	31
	6.1 Karakteristik Kimia Fitat	31
	6.2 Efek Antinutrisi dari Asam Fitat.....	34
	6.3 Asam Fitat dan Logam Berat.....	35
	6.4 Efek Menguntungkan dari Asam Fitat	36
	6.5 Fitase Usus dan Fitase Tanaman.....	39
	6.6 Asam Fitat pada Bahan Pakan.....	40
	6.7 Fitase dari Mikroba.....	42
BAB 7	GLUKOSINOLAT.....	47
	7.1 Struktur Kimia dan Karakteristik Glukosinolat.....	47
	7.2 Metabolisme Glukosinolat dan Efek Biologis.....	49
	7.3 Detoksifikasi Glukosinolat.....	51
BAB 8	GLUKOSIDA SIANOGENIK (SIANOGEN).....	53
	8.1 Struktur Kimia dan Karakteristik Glukosida Sianogenik.....	53
	8.2 Biosintesis dan Hidrolisis Glukosida Sianogenik pada Tanaman	54
	8.3 Efek Biologis Glukosida Sianogenik.....	57
	8.4 Detoksifikasi Glukosida Sianogenik.....	59
BAB 9	MIMOSIN.....	63
	9.1 Struktur dan Karakteristik Mimosin	63
	9.2 Efek Biologis Mimosin	64
	9.3 Adaptasi dan Detoksifikasi Mimosin.....	65

BAB 10 NITRAT DAN NITRIT	67
10.1 Karakteristik Kimia Nitrat dan Nitrit	67
10.2 Sumber Nitrat dan Nitrit.....	68
10.3 Faktor-faktor yang Memengaruhi Akumulasi Nitrat pada Tanaman	71
10.4 Toksisitas Nitrat dan Nitrit.....	73
10.5 Upaya Mencegah dan Menangani Keracunan Nitrat.....	82
10.6 Nitrat dan Emisi Gas Metan.....	84
BAB 11 GOSIPOL	89
11.1 Struktur Kimia Gosipol.....	89
11.2 Gosipol dalam Produk Kapas	90
11.3 Toksikokinetik Gosipol	91
11.4 Keracunan Gosipol.....	91
11.5 Imunotoksisitas	92
11.6 Prosedur Pencegahan	92
BAB 12 FORBOL ESTER.....	95
12.1 Struktur Kimia Forbol Ester	95
12.2 Potensi Pertumbuhan Tumor.....	96
12.3 Toksisitas Forbol Ester.....	96
12.4 Forbol Ester pada Tanaman Jarak	97
12.5 Manfaat Forbol Ester.....	97
BAB 13 ALKALOID	99
13.1 Struktur Kimia Alkaloid.....	99
13.2 Alkaloid pada Tanaman	100
13.3 Toksisitas Alkaloid.....	100
13.4 Metode Analisis Alkaloid.....	100
DAFTAR PUSTAKA	103
PROFIL PENULIS	107

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Penurunan (%) aktivitas tripsin inhibitor selama proses perkecambahan kacang-kacangan.....	20
Tabel 2	Penurunan aktivitas penggumpalan (<i>hemagglutinating activity</i> /HA) akibat proses perkecambahan beberapa jenis kacang-kacangan.....	23
Tabel 3	Efek pakan mengandung asam oksalat pada berbagai level konsentrasi pada Ca, P, dan Mg dalam serum darah.....	27
Tabel 4	Keseimbangan Ca serum darah pada berbagai level asupan oksalat.....	28
Tabel 5	Level kalsium dalam serum darah pada beberapa ternak ruminansia yang diberikan pakan dengan kandungan asam oksalat yang berbeda	29
Tabel 6	Respons ternak terhadap pakan yang mengandung oksalat terlarut (% DM)	30
Tabel 7	Aktivitas phytase dari berbagai komponen pakan.....	40
Tabel 8	Kasus keracunan nitrat pada hewan ruminansia.....	75
Tabel 9	Hasil studi eksperimental yang menunjukkan kerusakan hati disebabkan oleh gosipol	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Struktur kimia tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis.....	2
Gambar 2	Efek tanin terhadap konsentrasi amonia dan isoVFA di rumen	5
Gambar 3	Proses metanogenesis di rumen dengan karbon dioksida dan hidrogen sebagai prekursoranya.....	6
Gambar 4	Efek tanin terhadap kadar amonia silase	7
Gambar 5	Struktur dasar saponin yang terdiri dari glikon (gula) dan aglikon (bukan gula).....	11
Gambar 6	Struktur dasar aglikon (sapogenin) yang dapat berupa (a) triterpenoid atau (b) steroid	12
Gambar 7	Hubungan antara suplementasi bahan pakan mengandung saponin dan emisi gas metana.....	15
Gambar 8	Efek sumber saponin berbeda dari tanaman quillaja, teh dan yucca terhadap emisi gas metana.....	16
Gambar 9	Proses penghambatan aktivitas enzim protease oleh protease inhibitor	17
Gambar 10	Mekanisme protease inhibitor dalam sistem pencernaan.....	18
Gambar 11	Struktur kimia asam oksalat	25
Gambar 12	Daya ikat anion asam oksalat terhadap ion logam Ca dan Mg	26
Gambar 13	Struktur kompleks asam fitat mengikat protein, <i>binary</i> (B) dan <i>ternary</i> (T).....	31

Gambar 14	Pembagian definisi asam fitat, fitat, dan fitase.....	32
Gambar 15	Hidrolisis asam fitat oleh fitase dari mikroba (E.C. 3.1.1.26) menghasilkan D-mio-inositol 1,2,4,5,6 pentakis dihidrogen fosfat dan fosfat anorganik.....	33
Gambar 16	Pengaruh suplementasi asam fitat terhadap penyerapan Zn dan penambahan bobot badan	35
Gambar 17	Tingkat pemulihan asam fitat (dalam % asupan) dalam inja gnotobiotik dan tikus konvensional yang diberi makan PA yang mengandung diet (4 g fitat P/kg) dengan tinggi (13 g Ca/kg) dan normal (7 g Ca/kg) Konsentrasi Ca dalam makanan	39
Gambar 18	Penyerapan fosfor yang tampak pada anak babi dari diet (4 g P/kg) berdasarkan: a) jagung (64%) dan kedelai (30%), suplementasi 0,5 g P / kg dari monocalciumphosphate, phytase, n.d.; b) kacang ladang (30%), gandum (28%), kacang polong (25%), dan jelai (30%) dan kedelai (22%), 360 U phytase/kg.....	41
Gambar 19	Pengurangan ekskresi fosfor harian dari anak babi dengan berat badan 15 kg dan berat badan 445 g setiap hari dengan suplementasi dengan phytase mikroba dalam diet jagung/ kedelai (1.000 U/kg) dibandingkan dengan suplementasi 0,20% P sebagai monocalciumphosphate (MCP).....	43
Gambar 20	Pengaruh peningkatan kadar phytase mikroba pada ketersediaan hayati kalsium, fosfor, magnesium dan seng secara <i>in vitro</i> dari diet jagung-kedelai setelah simulasi pencernaan peptik dan pankreas (uji LSD.	43
Gambar 21	Struktur umum glukosinolat	47
Gambar 22	Mekanisme aksi glukosinolat.....	48
Gambar 23	Hubungan antara kandungan glukosinolat di pakan ($\mu\text{mol/g}$) dan penambahan bobot badan domba	50

Gambar 24 Struktur kimia sejumlah glukosida sianogenik..... 54

Gambar 25 Jalur biosintesis glukosida sianogenik pada tanaman..... 55

Gambar 26 Hidrolisis bertahap linamarin untuk menghasilkan HCN dan aseton..... 56

Gambar 27 Dinamika kandungan HCN pada sorgum..... 57

Gambar 28 Mekanisme aksi glukosida sianogenik..... 58

Gambar 29 Struktur kimia mimosin. 63

Gambar 30 Konversi mimosin menjadi 3-hidroksi-4-(1H)-piridon (3,4-DHP) dan 2,3-dihidroksipiridin (2,3-DHP). 64

Gambar 31 Mekanisme aksi mimosin 65

Gambar 32 Bakteri *Synergistes jonesii* yang mampu mengkonversi mimosin dan DHP menjadi senyawa nontoksik di rumen 66

Gambar 33 Struktur kimia (a) nitrat, (b) nitrit, dan (c) muatan ionik pada nitrat..... 67

Gambar 34 Anion nitrat yang beresonansi menjadi tiga macam struktur molekul yang berbeda 68

Gambar 35 Proses pengambilan unsur nitrogen dari dalam tanah oleh akar tanaman 69

Gambar 36 Pengaruh pupuk nitrogen terhadap konsentrasi nitrogen nitrat di padang rumput (600 kgN/ha; 400 kgN/ha, 200 kgN/ha; 100 kgN/ha, 50 kgN/ha; 0 kgN/ha) (pelat inset: Percobaan lapangan memeriksa pengaruh pupuk nitrogen terhadap konsentrasi nitrat..... 70

Gambar 37 Mekanisme nitrat menjadi nitrit kemudian berikatan dengan hemoglobin..... 74

Gambar 38 Mekanisme nitrat pada tanaman dan ruminansia 76

Gambar 39 Respons methemoglobin darah (persen dari total hemoglobin) terhadap peningkatan kadar nitrat 78

Gambar 40 Level methaemoglobin dalam darah sapi yang mendapat asupan natrium nitrat 15 g per 100 lbs (analisis methaemoglobin dilakukan dengan larutan biru metilen). Terlihat methaemoglobin menurun 2 jam setelah pemberian pakan mengandung nitrat. 79

Gambar 41 Respons methemoglobin darah (setiap titik mewakili nilai rata-rata untuk kelompok perlakuan) terhadap peningkatan kadar nitrat dalam diet dari sembilan penelitian dengan 25 perlakuan, $Y = 41,3 \times \text{nitrate (g/kg BW/d)} + 1.2$; $R^2=0.76$, $P<0.001$ 80

Gambar 42 Respons methaemoglobin darah (setiap titik mewakili nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan) dari tiga penelitian 11 perlakuan pakan nitrat teraklimasi; $YY = 4.2 \times \text{nitrate (g/ kg BB/hari)} - 0.4$, R^2 81

Gambar 43 Respons emisi metana enterik (setiap titik mewakili nilai rata-rata untuk setiap kelompok perlakuan) hingga tingkat nitrat yang meningkat 85

Gambar 44 12 *Dry matter intake* (DMI) (20 studi dan 46 perlakuan; $R^2 = 0.007$, $P = 0.65$) dan perubahan *live weight gain* (LWG) (12 studi dan 35 perlakuan; $R^2= 0.03$, $P = 0.31$) pada pada ruminansia (sapi potong, sapi perah, domba) diberi pakan nitrat; perubahan DMI ata..... 87

Gambar 45 Struktur gosipol 89

Gambar 46 Struktur kimia forbol ester 95

Gambar 47 Struktur senyawa alkaloid..... 99

PENDAHULUAN

Komponen antinutrisi merupakan terminologi umum dari berbagai zat pada bahan pakan yang dapat mengganggu proses utilisasi nutrisi di dalam saluran pencernaan ternak. Sifat menghambat tersebut dapat terjadi pada proses pencernaan (reduksi makromolekul menjadi berbagai monomer melalui kerja enzim-enzim pencernaan) ataupun pada proses absorpsi (penyerapan nutrisi khususnya dalam bentuk monomer di usus halus). Kebanyakan dari komponen antinutrisi merupakan senyawa metabolit sekunder tanaman yang berperan dalam proses adaptasi tanaman terhadap lingkungannya namun tidak terlibat di dalam jalur utama biokimia dalam pertumbuhan sel dan reproduksi tanaman. Oleh karena itu komponen antinutrisi menjadi tidak terpisahkan dengan istilah senyawa metabolit sekunder tanaman dan fitokimia.

Sebagian dari komponen antinutrisi juga dapat bersifat toksik (racun) pada ternak. Komponen antinutrisi yang terdapat pada pakan di antaranya tanin, saponin, inhibitor protease, lektin, alkaloid, asam oksalat, asam fitat, glukosinolat, asam amino bukan protein, nitrit, nitrat, gosipol, farbol ester, glukosinolat, dan glukosida sianogenik (sianogen). Komponen-komponen tersebut berperan di dalam sistem proteksi tanaman terhadap herbivora dan patogen, regulasi proses simbiosis, kontrol germinasi biji, dan inhibisi kimia terhadap spesies tanaman yang bersifat kompetitor (alelopati).

Komponen antinutrisi yang bersifat toksik umumnya berada pada konsentrasi yang rendah di tanaman (lebih rendah dari 2% bahan kering) dan memiliki efek fisiologis yang negatif ketika diserap, seperti permasalahan neurologis, kegagalan reproduksi, goiter, bahkan hingga menyebabkan kematian. Contoh dari komponen antinutrisi yang bersifat toksik adalah alkaloid, glukosida sianogenik, asam amino toksik, dan saponin. Sementara itu, komponen antinutrisi yang tidak bersifat toksik hanya memengaruhi proses pencernaan dan absorpsi serta palatabilitas. Konsentrasinya di dalam tanaman juga relatif lebih tinggi. Beberapa contoh dari komponen antinutrisi jenis ini adalah tanin,

inhibitor protease, lignin, silika, dan kutin. Tanaman yang berasal dari daerah tropis umumnya mengandung komponen antinutrisi dalam konsentrasi yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan daerah *temperate* (4 musim).

Hal yang menarik dari komponen antinutrisi adalah bahwa sebagian di antaranya justru dapat berdampak positif bagi ternak, khususnya pada konsentrasi rendah. Misalnya adalah komponen tanin yang dapat meningkatkan utilisasi protein pada ternak ruminansia serta dapat menghindarkan dari permasalahan kembung (*bloat*). Tanin juga dapat memproteksi ternak ruminansia dari infeksi nematoda. Emisi gas metana yang berdampak negatif terhadap lingkungan juga dapat ditekan oleh tanin. Sejumlah komponen antinutrisi juga memiliki sifat antioksidan, antivirus, antibakteri, dan bahkan antikanker. Perbedaan antara efek positif atau negatif dari suatu komponen antinutrisi sangat tergantung pada sumber tanaman serta konsentrasinya.

Pada buku ajar ini, akan dideskripsikan sejumlah komponen antinutrisi yang terdapat pada pakan, yakni: (1) tanin, (2) saponin, (3) inhibitor protease, (4) lektin (hemaglutin), (5) asam oksalat, (6) asam fitat, (7) glukosinolat, (8) glukosida sianogenik (sianogen), (9) mimosin, (10) nitrat dan nitrit, (11) gosipol, (12) forbol ester, dan (13) alkaloid. Pada setiap komponen antinutrisi, penjelasan secara umum meliputi struktur kimia dan karakteristik senyawa, efek biologis (antinutrisi atau toksisitas) pada ternak, mekanisme adaptasi ternak, serta teknik pengolahan dalam rangka menurunkan kadar antinutrisi tersebut.

BAB 1

TANIN

1.1 Struktur Kimia, Sintesis, dan Karakteristik Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder tanaman, yakni senyawa polifenol dengan bobot molekul yang bervariasi. Struktur kimia tanin juga beragam, namun memiliki kesamaan yakni dapat mengikat protein. Sementara itu terdapat juga senyawa fenol nontanin yang tidak dapat mengendapkan protein. Umumnya tanin memiliki bobot molekul serta struktur yang lebih kompleks dibandingkan dengan senyawa fenol nontanin seperti katekol, pirogallol, asam gallat, katekin, dan flavanol-flavanol lainnya.

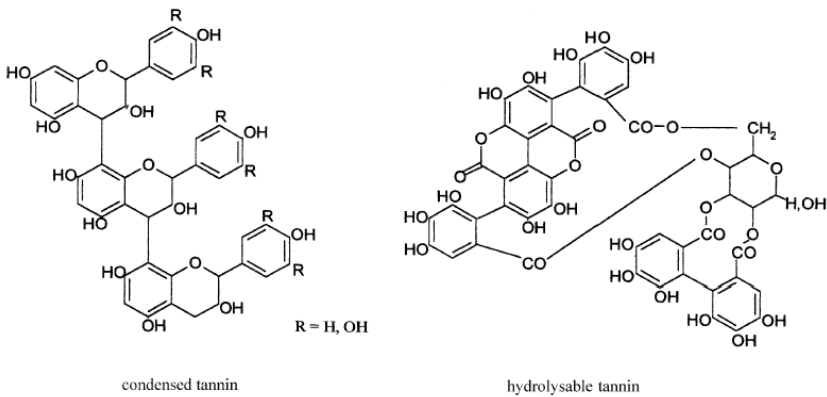
Tanaman mensintesis tanin sebagai mekanisme proteksi diri terhadap serangan mikroorganisme, serangga, dan herbivora. Sejumlah faktor dapat memengaruhi tinggi atau rendahnya sintesis tanin di tanaman, di antaranya: (1) stres karena defisiensi atau kekurangan nutrisi seperti N, P, K, S, (2) intensitas cahaya, (3) temperatur, (4) kekeringan, dan (5) kerusakan jaringan. Defisiensi nutrisi, tingginya intensitas cahaya, tingginya temperatur, kekeringan, serta rusaknya jaringan tanaman menstimulasi tingginya sintesis tanin pada tanaman. Kondisi tersebut dapat meningkatkan intensitas serangan mikroorganisme, serangga, dan herbivora pada tanaman sehingga tanaman mensintesis tanin dalam jumlah yang lebih banyak sebagai agen proteksi dirinya. Oleh karena itu umumnya tanaman di daerah tropis mengandung kadar tanin lebih banyak dibandingkan dengan tanaman di daerah sub-tropis atau *temperate* (4 musim). Tanaman yang mengandung tanin dalam jumlah tinggi di antaranya adalah kaliandra (*Calliandra calothyrsus*), lamtoro (*Leucaena leucocephala*), akasia (*Acacia mangium*), mahoni (*Swietenia mahagoni*), dan harendong (*Clidemia hirta*).

Berdasarkan struktur kimianya, tanin dapat dikategorikan menjadi dua kelompok besar (Gambar 1), yakni:

1. Tanin terhidrolisis: memiliki karbohidrat di bagian tengahnya (umumnya berupa molekul glukosa) yang berikatan ester dengan komponen fenolik.
2. Tanin terkondensasi (disebut juga proantosianidin): mengandung oligomer dari dua atau lebih flavan-3-ol seperti katekin, epikatekin, atau gallokatekin, dengan bobot molekul antara 2.000–4.000 kDa.

Keragaman struktur tanin sangat tinggi di antara berbagai jenis spesies tanaman.

Tanin terhidrolisis, 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 1 Struktur kimia tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis

(Sumber: McSweeney *et al.* 2001)

Tanin larut di dalam air dan memiliki afinitas yang kuat terhadap protein sehingga dapat membentuk kompleks protein-tanin. Banyaknya gugus hidroksil pada tanin menyebabkan tanin dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Setiap 1 g tanin dapat mengikat sekitar 4 hingga 8 g protein.

Selain protein, tanin juga dapat berinteraksi dengan polisakarida, asam amino, dan mineral. Terkait interaksi antara tanin dengan protein, kekuatan ikatan di antara keduanya bergantung pada karakteristik dari tanin maupun protein tersebut, seperti bobot molekul, struktur tersier, titik isoelektrik, dan kompatibilitas lokasi ikatan. 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.

1.2 Efek Tanin pada Ternak

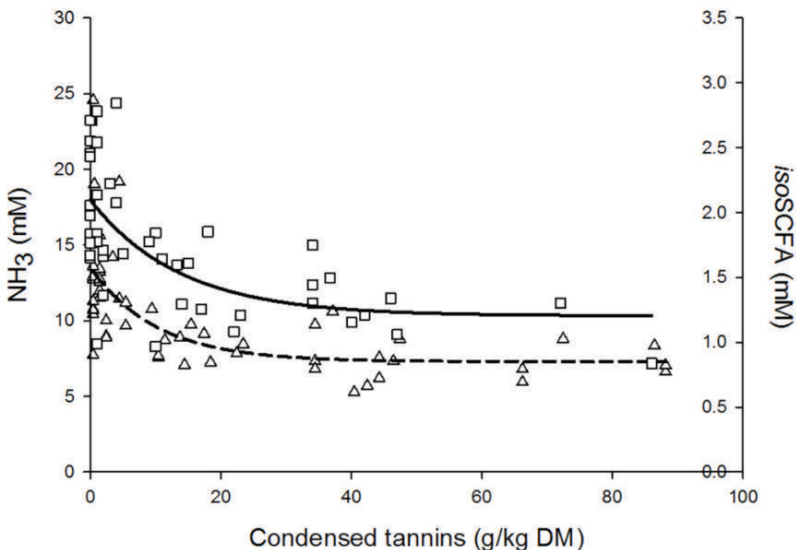
Ibarat pedang bermata dua, tanin mempunyai efek biologis baik yang bersifat positif maupun negatif ketika dikonsumsi ternak, tergantung pada konsentrasi serta sumber taninnya, spesies ternak, status fisiologis, dan komposisi nutrisi pakan. Beberapa efek positif tanin, di antaranya meningkatkan efisiensi penggunaan protein ransum, pertumbuhan ternak yang lebih cepat, meningkatkan produksi susu, meningkatkan fertilitas, mencegah terjadinya kembung atau *bloat*, serta menghambat infeksi nematoda. Efek positif tanin ini umumnya terjadi pada konsentrasi rendah hingga medium.

Pada konsentrasi tinggi, tanin dapat mengurangi konsumsi ransum dikarenakan rasanya yang *astringent* (sepat) serta menurunkan pencernaan. Tanin 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. Efek toksik tanin pada ternak ruminansia di antaranya adalah menyebabkan pendarahan pada saluran pencernaan, nekrosis hati, dan kerusakan ginjal; toksisitas ini khususnya terjadi pada ternak yang mengonsumsi hijauan mengandung kadar tanin yang tinggi. Lebih jauh, 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.

Efek positif tanin pada ternak sebagaimana telah disampaikan di atas terjadi pada konsentrasi rendah hingga moderat. Tanin pada konsentrasi

di bawah 1% bahan kering dapat meningkatkan produksi susu sapi perah. Penambahan ekstrak tanin dari tanaman *chestnut* pada level 25 g/ekor/hari dapat meningkatkan pertambahan bobot badan sapi pedaging (jenis Brahman *cross*) dari 1,2 kg/ekor/hari menjadi 1,55 kg/ekor/hari. Peningkatan performa ternak ini disebabkan proteksi tanin pada protein pakan yang berkualitas tinggi (seperti bungkil kedelai atau lainnya) sehingga dapat *bypass* dari degradasi oleh mikroba rumen.

Proteksi protein oleh tanin mengubah sejumlah *rumen degradable protein* (RDP) menjadi *rumen undegradable protein* (RUP) yang kemudian meningkatkan *metabolizable protein* (MP), yakni protein yang dapat dicerna dan diserap di usus halus. Bukti lain proteksi tanin terhadap protein adalah lebih rendahnya konsentrasi amonia dan isoVFA (isobutirat dan isovalerat) di rumen (Gambar 2); amonia merupakan produk degradasi protein di dalam rumen, sedangkan isoVFA merupakan produk fermentasi asam amino bercabang setelah sebelumnya mengalami proses deaminasi. Meningkatnya produktivitas ternak ruminansia oleh tanin juga diakibatkan kemampuan tanin dalam menekan parasit khususnya nematoda di saluran pencernaan ternak sehingga ternak menjadi lebih sehat.



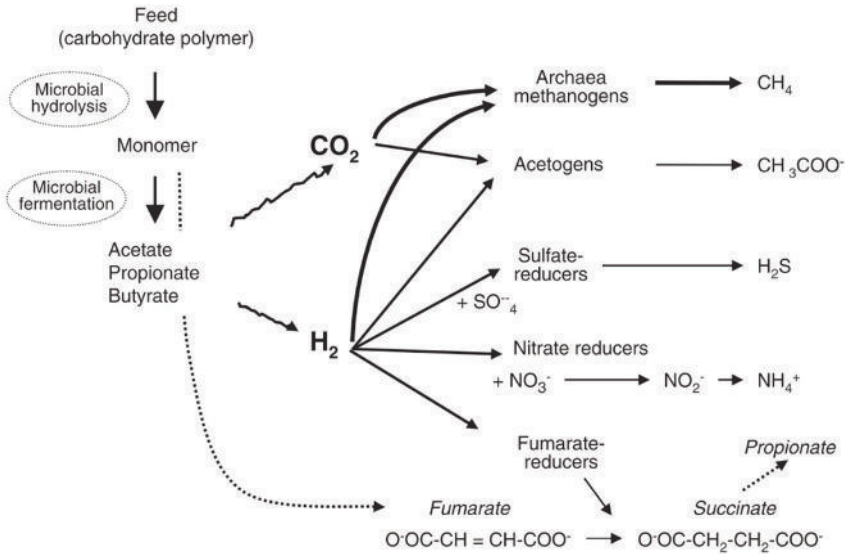
Gambar 2 Efek tanin terhadap konsentrasi amonia dan isoVFA di rumen

(Sumber: Jayanegara dan Palupi 2010)

Efek positif lain dari tanin adalah kemampuannya dalam menekan emisi lingkungan yang ditimbulkan oleh ternak. Tanin terbukti dapat menurunkan emisi gas metana asal ternak. Gas metana sendiri merupakan salah satu gas rumah kaca yang berkontribusi terhadap pemanasan global. Emisi gas metana dari ternak ruminansia juga merupakan bentuk kehilangan energi dari ternak yang sejatinya dapat dimanfaatkan untuk peningkatan performa produksi dan reproduksi ternak. Kemampuan menurunkan emisi metana dari tanin disebabkan karakteristiknya yang mengikat sejumlah nutrisi sehingga mengurangi fermentasi rumen, termasuk menekan produksi gas hidrogen.

Hidrogen merupakan salah satu prekursor utama pembentukan gas metana (metanogenesis, Gambar 3) selain dari karbon dioksida yang sintesisnya dilakukan oleh mikroba metanogen. Penekanan hidrogen ini berdampak pada terbatasnya substrat untuk reaksi metanogenesis. Tanin juga terbukti menurunkan populasi dan menghambat aktivitas metanogen, agen utama metanogenesis. Selain itu tanin juga menghambat pertumbuhan protozoa di rumen yang bersimbiosis dengan metanogen.

Tanin berpengaruh terhadap kualitas produk ternak seperti daging dan susu khususnya terhadap profil asam lemak dari produk ternak tersebut. Tanin dapat meningkatkan kandungan asam lemak *rumenic acid* (c9, t11 C18:2), yakni isomer utama *conjugated linoleic acid* (CLA) yang berperan sebagai zat antikanker bagi manusia yang mengonsumsinya. Tanin juga meningkatkan kandungan asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid*, PUFA) pada susu, meningkatkan asam lemak omega 3 dan omega 6, serta menurunkan asam lemak jenuh yang ditengarai berdampak negatif bagi kesehatan manusia. Hal yang serupa juga terjadi pada ternak ruminansia pedaging yang diberikan tanin pada pakannya. Daging yang dihasilkan menjadi lebih tinggi CLA, PUFA, omega 3 dan omega 6, serta lebih rendah kandungan asam lemak jenuhnya.



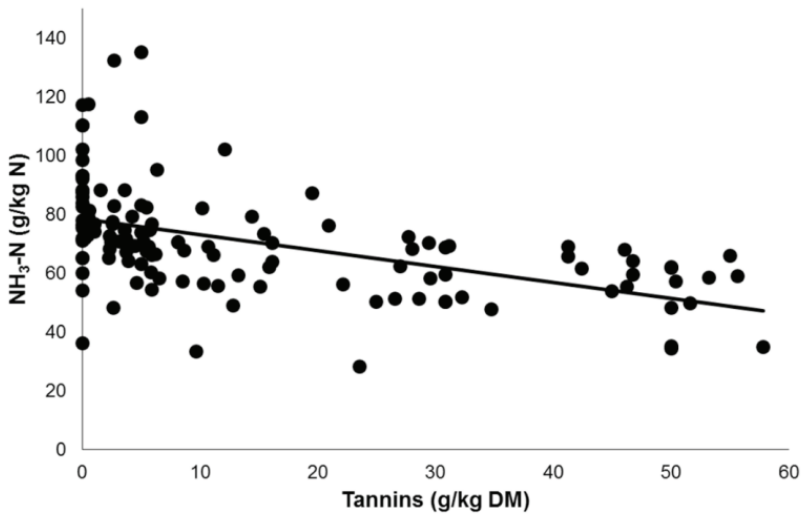
Gambar 3 Proses metanogenesis di rumen dengan karbon dioksida dan hidrogen sebagai prekursoranya

(Sumber: Morgavi *et al.* 2010)

Mekanisme tanin dalam meningkatkan kandungan asam lemak yang bermanfaat terhadap kesehatan manusia pada produk ternak di antaranya adalah karena penghambatan terhadap aktivitas enzim lipase di rumen, yakni enzim yang membebaskan ikatan ester asam lemak terhadap gliserol (lipolisis). Lipolisis ini merupakan prasyarat untuk terjadinya reaksi biohidrogenasi, yakni reaksi penjumlahan atau penghilangan ikatan rangkap dari asam lemak tak jenuh sehingga menghasilkan asam lemak jenuh. Lebih jauh, tanin menghambat spesies penting mikroba yang berperan dalam proses biohidrogenasi seperti *Butyrivibrio fibrisolvens* dan *Butyrivibrio proteoclasticus*.

Penelitian terkini menunjukkan bahwa tanin dapat digunakan sebagai aditif dalam proses ensilase, khususnya pada bahan yang mengandung protein dalam jumlah tinggi. Pada proses ensilase, protein mengalami proses degradasi menjadi asam amino serta deaminasi yang menghasilkan amonia dan asam α -keto. Proses ini merusak dan menurunkan kualitas protein pada pakan. Tanin bermanfaat dalam menghambat proses proteolisis yang terjadi pada silase sehingga kualitas protein dapat terjaga. Hal ini dibuktikan dengan lebih rendahnya kadar amonia silase ketika diberikan tanin sebagai zat aditif silase

(Gambar 4). Lebih jauh, tanin juga menurunkan kandungan asam butirat silase yang merupakan produk fermentasi dari mikroba pembusuk seperti *Clostridia* sp. dan *Enterobacteria* sp. Ini mengindikasikan bahwa tanin dapat menekan pertumbuhan dari mikroba-mikroba pembusuk pada silase tersebut.



Gambar 4 Efek tanin terhadap kadar amonia silase

(Sumber: Jayanegara *et al.* 2019)

Meskipun terdapat sejumlah efek positif tanin sebagaimana telah diuraikan di atas, tanin juga dapat berdampak negatif bagi ternak khususnya ketika dikonsumsi pada konsentrasi yang cukup tinggi. Pada konsentrasi tinggi, sifat antinutrisi dari tanin dalam mengikat protein menjadi lebih dominan. Pada kondisi ini, protein tidak bisa terlepas dari ikatannya dengan tanin pada pH rendah di abomasum sehingga tidak dapat dimanfaatkan oleh ternak (dicerna dan diserap) di usus halus dan terbuang melalui feces (terlihat dari meningkatnya kandungan nitrogen di feces secara signifikan). Dengan lebih rendahnya protein yang dicerna dan diserap maka akan berdampak negatif terhadap produktivitas ternak, yakni lebih rendahnya produksi susu dan daging, juga konsumsi pakan yang lebih rendah.

Di samping bersifat sebagai zat antinutrisi, tanin pada konsentrasi tinggi juga dapat menimbulkan efek toksik dan bahkan menyebabkan kematian pada ternak. Secara umum ternak monogastrik seperti unggas lebih sensitif

terhadap toksisitas tanin dibandingkan dengan ternak ruminansia. Tanin jenis terhidrolisis lebih berpeluang menimbulkan efek toksik bagi ternak. Mikroba rumen dapat mendegradasi tanin terhidrolisis secara parsial tapi tidak sama sekali untuk tanin terkondensasi. Toksisitas yang ditimbulkan oleh tanin terhidrolisis adalah dikarenakan absorpsi dari produk degradasinya sehingga meningkatkan kadar senyawa fenolik di dalam darah secara signifikan yang tidak mampu didetoksifikasi oleh hati. Toksisitas tanin menyebabkan kerusakan sejumlah organ seperti usus halus, hati, ginjal, dan limpa.

1.3 Adaptasi Ternak terhadap Tanin

Ternak yang terbiasa mengonsumsi pakan mengandung tanin pada konsentrasi tinggi dan tidak mengalami gangguan kesehatan atau toksisitas relatif sudah dapat beradaptasi dengan kondisi tersebut. Salah satu mekanisme adaptasi ternak terhadap tanin adalah melalui sekresi protein tinggi prolin (*proline-rich protein*, PRP) pada saliva sejumlah spesies hewan seperti rusa. Saliva yang mengandung PRP dapat mengikat sejumlah tanin sehingga mengurangi efek antinutrisi dan toksiknya. Mekanisme adaptasi lain adalah melalui degradasi tanin secara lebih cepat oleh mikroba rumen yang telah beradaptasi dengan tanin pada konsentrasi tinggi. Mikroba rumen juga dapat mengurangi aktivitas biologis dari tanin melalui metilasi gugus hidroksil yang terdapat pada struktur fenolik dari tanin. Mikroba juga mengembangkan sistem adaptasi melalui sekresi polisakarida ekstraseluler, lipida, atau glikoprotein sehingga mencegah efek toksik dari tanin terhadap mikroba tersebut.

1.4 Detanifikasi (Penghilangan atau Inaktivasi Tanin)

Tanin yang terdapat pada tanaman pakan dapat dihilangkan atau dikurangi kandungannya melalui sejumlah teknik pengolahan. Selain itu tanin juga dapat dibuat menjadi tidak aktif dengan cara mengikatnya dengan suatu zat yang memiliki afinitas lebih tinggi terhadap tanin dibandingkan dengan protein. Terminologi reduksi maupun inaktivasi tanin dinamakan detanifikasi. Hal ini dilakukan untuk mengurangi efek antinutrisi dan toksik dari tanin terhadap ternak.

Abu gosok yang merupakan limbah dari pembakaran tanaman dapat digunakan untuk proses detanifikasi. Abu gosok bersifat alkali dan mampu melarutkan tanin. Larutan yang mengandung 10% abu gosok dapat menurunkan kandungan tanin hingga 80% dikarenakan pH yang alkali, berkisar antara 10 hingga 12. Kelebihan lain dari penggunaan abu gosok adalah ketersediaannya yang relatif banyak karena berasal dari sisa pembakaran komponen organik serta harganya yang murah.

Teknik amoniasi menggunakan urea kemudian disimpan (diinkubasi) selama 3–4 minggu juga dapat secara efektif menurunkan kadar tanin. Penggunaan urea sebanyak 4% dapat menurunkan kadar tanin hingga mendekati 90%. Kapasitas presipitasi protein dari tanin juga berkurang secara signifikan dengan teknik amoniasi yang mengindikasikan bahwa terjadi inaktivasi tanin. Mekanisme detanifikasi dengan teknik amoniasi juga terkait dengan peningkatan pH karena amonia yang berasal dari urea bersifat alkali.

Pengolahan lain yang juga dapat menurunkan kadar tanin adalah pengeringan karena tanin merupakan senyawa yang larut dalam air. Namun demikian, efektivitas penurunan kadar tanin melalui pengeringan sangat bervariasi tergantung kadar air bahan. Bahan berkadar air tinggi lebih efektif untuk diturunkan kadar taninnya melalui proses pengeringan dibandingkan dengan bahan yang berkadar air rendah.

Ekstraksi menggunakan pelarut organik seperti aseton, metanol, etanol, dan sejenisnya, baik secara tunggal maupun campuran dapat juga menurunkan kadar tanin bahan. Penggunaan senyawa kimia yang bersifat alkali seperti sodium hidroksida, sodium karbonat, dan sodium bikarbonat dapat mereduksi kadar tanin. Kemampuan senyawa alkali ini dalam mereduksi tanin dikarenakan oksidasi senyawa fenolik yang terjadi pada pH yang tinggi, selain itu juga menurunkan tingkat polimerisasi tanin. Senyawa-senyawa oksidator kuat seperti potasium permanganat dan potasium dikromat pada konsentrasi 0,02–0,03 M juga dapat menurunkan kadar tanin hingga 95%.

Tanin juga dapat direduksi melalui fermentasi bahan menggunakan mikroba khususnya jamur. Spesies jamur yang telah terbukti dapat menurunkan kadar tanin bahan, di antaranya *Sporotricum pulverulentum*, *Ceriporiopsis subvermispora*, dan *Cyathus steroreus*. Diduga bahwa spesies jamur tertentu menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi tanin. Fermentasi spesies jamur tersebut selama 10 hari menurunkan kadar tanin pada kisaran 58–66%.

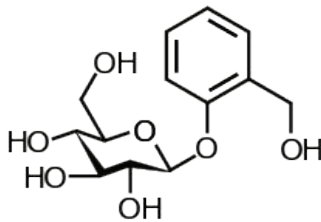
Beberapa bahan kimia seperti *polyvinylpyrrolidone* (PVP) dan *polyethylene glycol* (PEG) memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap tanin, melebihi afinitas tanin terhadap protein. Oleh karena itu baik PVP maupun PEG dapat digunakan sebagai zat untuk mendeaktivasi tanin. Tanin yang telah berikatan dengan PVP atau PEG kehilangan aktivitas biologisnya sehingga tidak dapat lagi mengikat protein ataupun molekul nutrisi lainnya.

BAB 2

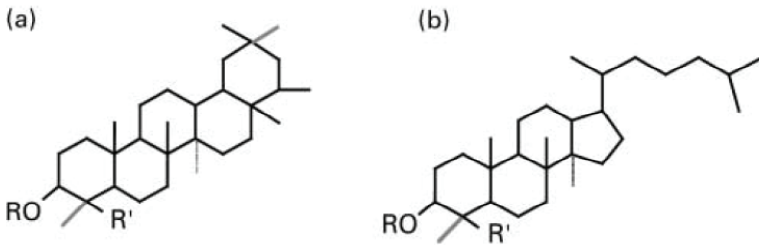
SAPONIN

2.1 Struktur dan Karakteristik Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder tanaman yang terdiri dari komponen gula (seperti glukosa, galaktosa, asam glukuronat, xilosa, ramnosa, atau metil pentosa) yang berikatan dengan komponen nongula atau aglikon yang bersifat hidrofobik (Gambar 5). Aglikon ini sering juga dikenal dengan istilah sapogenin. Komponen aglikon secara umum dapat berupa steroid atau triterpenoid (Gambar 6). Baik pada steroid dan triterpenoid saponin, gugus gula atau karbohidrat berikatan pada karbon-3 dari sapogenin. Keberadaan gugus polar (komponen gula) dan nonpolar (steroid atau triterpenoid) menyebabkan saponin memiliki sifat *surface-active*. Saponin juga memiliki karakteristik dapat membentuk busa/sabun. Meskipun secara umum komponen saponin terbagi menjadi dua yakni glikon dan aglikon, struktur kimia saponin sangat bervariasi antar tanaman. Variasi struktur ini yang menyebabkan bervariasinya pula efek biologis antar sumber saponin.



Gambar 5 Struktur dasar saponin yang terdiri dari glikon (gula) dan aglikon (bukan gula)



Gambar 6 Struktur dasar aglikon (sapogenin) yang dapat berupa (a) triterpenoid atau (b) steroid

(Sumber: Francis *et al.* 2002)

Saponin terdapat pada banyak spesies tanaman, termasuk sejumlah tanaman yang dijadikan sebagai pakan bagi ternak. Berbagai bagian tanaman seperti akar, batang, kulit, daun, biji, dan buah dapat mengandung saponin. Umumnya saponin terdapat pada bagian tanaman yang rawan terhadap serangan penyakit yang disebabkan oleh jamur, bakteri, atau juga insekta. Pada kondisi tersebut saponin berfungsi sebagai agen proteksi tanaman karena memiliki sifat antimikroba. Pakan yang mengandung saponin, di antaranya alfalfa (*Medicago sativa*), kedelai, sejumlah kacang-kacangan, *Quillaja saponaria*, lerak, *Yucca schidigera*, teh, daun kembang sepatu, dan jayanti. Saponin yang terdapat pada hijauan leguminosa umumnya adalah triterpenoid saponin, sedangkan saponin komersil dari yucca berupa steroid saponin. Pakan yang mengandung saponin dalam konsentrasi tinggi berasa pahit atau sepat.

2.2 Efek Biologis Saponin

Efek biologis saponin, baik efek positif maupun negatif berkaitan dengan sifat *surface-active* dari saponin dikarenakan memiliki komponen polar dan nonpolar pada struktur molekul yang sama. Sejumlah efek negatif dari saponin di antaranya adalah menyebabkan hemolisis eritrosit (sel darah merah), menghambat pertumbuhan ternak, menyebabkan *bloat* atau kembung pada ternak ruminansia, menghambat aktivitas sejumlah enzim, serta menghambat proses absorpsi (penyerapan) nutrisi di saluran pencernaan ternak.

Efek biologis yang utama dari saponin adalah kemampuannya berinteraksi dengan komponen seluler dan membran, membentuk lubang pada membran tersebut sehingga merusak fungsinya. Saponin dapat melisis sel darah

merah (hemolisis) melalui interaksinya dengan protein membran, fosfolipid, dan kolesterol pada membran eritrosit. Sifat hemolisis ini dijadikan suatu uji untuk mengetahui keberadaan saponin pada suatu bahan. Lebih jauh mengenai mekanisme hemolisis, diketahui bahwa hemolisis disebabkan oleh afinitas komponen aglikon pada saponin terhadap komponen sterol (kolesterol) pada membran sehingga membentuk kompleks yang tidak larut.

Efek saponin terhadap produktivitas ternak bervariasi tergantung pada jenis ternak serta konsentrasi saponin yang dikonsumsi. Secara umum efek negatif saponin terhadap produktivitas ternak terjadi pada ternak monogastrik khususnya unggas, sedangkan efeknya terhadap ternak ruminansia bervariasi, bisa negatif ataupun positif. Pemberian tepung alfalfa yang tinggi saponin menghambat pertumbuhan unggas, melebihi efek negatif dikarenakan peningkatan kandungan serat di ransum. Efek negatif saponin di alfalfa dapat dikurangi dengan cara suplementasi kolesterol di ransum. Secara umum kandungan 0,1–0,3% saponin di ransum dapat menghambat pertumbuhan unggas, menurunkan produksi telur (pada ayam petelur), menurunkan konsumsi ransum, dan juga menurunkan efisiensi penggunaan ransum. Unggas nampaknya lebih sensitif terhadap saponin dibandingkan dengan hewan monogastrik lainnya. Pertumbuhan tikus baru terhambat setelah diberikan saponin dari alfalfa pada konsentrasi 2% dalam ransum. Sementara itu kelinci masih tahan terhadap pemberian 2% saponin, terbukti dari tidak terhambatnya pertumbuhan ketika diberikan saponin pada konsentrasi tersebut.

Penghambatan saponin terhadap pertumbuhan ternak diduga karena senyawa tersebut menghambat aktivitas dari sejumlah enzim, baik enzim yang terdapat di saluran pencernaan (seperti tripsin dan kimotripsin) maupun enzim pada level seluler. Menurunnya konsumsi pakan diduga berkaitan dengan rasa sepat (*astringent*) dan iritasi dari saponin. Mekanisme lain terkait dengan efek negatif saponin terhadap pertumbuhan ternak adalah dikarenakan berkurangnya motilitas usus, rusaknya membran usus halus, serta penghambatan transpor nutrisi.

Efek negatif lainnya dari saponin adalah dapat menyebabkan terjadinya *bloat* pada ternak ruminansia. *Bloat* dapat terjadi karena sejumlah faktor berikut: (1) keberadaan *foaming agent* dari pakan atau hijauan yang dikonsumsi, (2) cepatnya produksi gas di dalam rumen, (3) kondisi pH rumen yang

asam mendorong terbentuknya busa yang stabil, (4) rendahnya konsentrasi *antifoaming agent* di pakan, dan (5) keberadaan sejumlah kation tertentu yang terlibat dalam pembentukan busa. Sejumlah agen yang dapat membentuk busa di rumen adalah pektin, protein, dan saponin. Apabila keberadaan saponin di rumen ditunjang oleh faktor-faktor lainnya sebagaimana di atas maka *bloat* dapat terjadi pada ternak, dan bahkan dapat menyebabkan kematian apabila tidak ditangani secara cepat dan tepat.

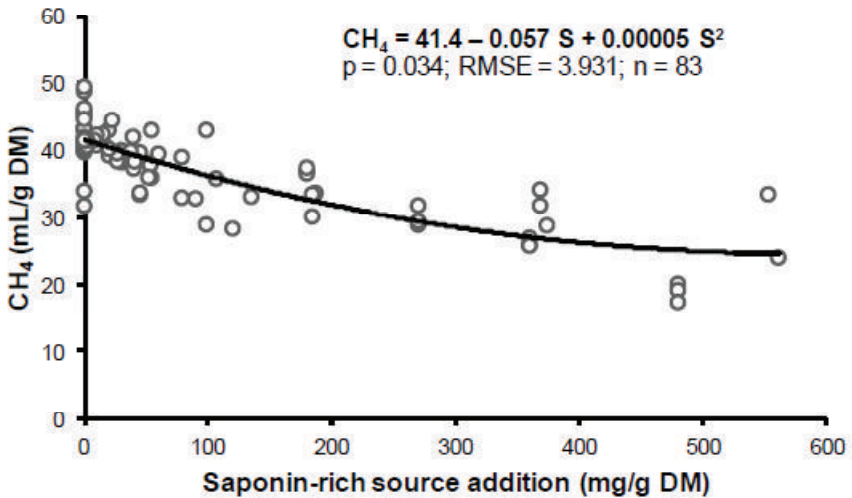
Berbeda dengan ternak monogastrik, saponin dapat berdampak positif terhadap produktivitas ternak ruminansia. Ekstrak saponin dari tanaman yucca dapat meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan, dan kesehatan ternak ruminansia. Saponin juga meningkatkan efisiensi sintesis protein mikroba di dalam rumen dan menurunkan degradasi protein di rumen sehingga meningkatkan proporsi protein *bypass*. Secara spesifik, saponin berdampak negatif terhadap protozoa yang berada di rumen karena interaksinya dengan komponen sterol di permukaan protozoa, sedangkan sterol tidak terdapat pada membran bakteri rumen.

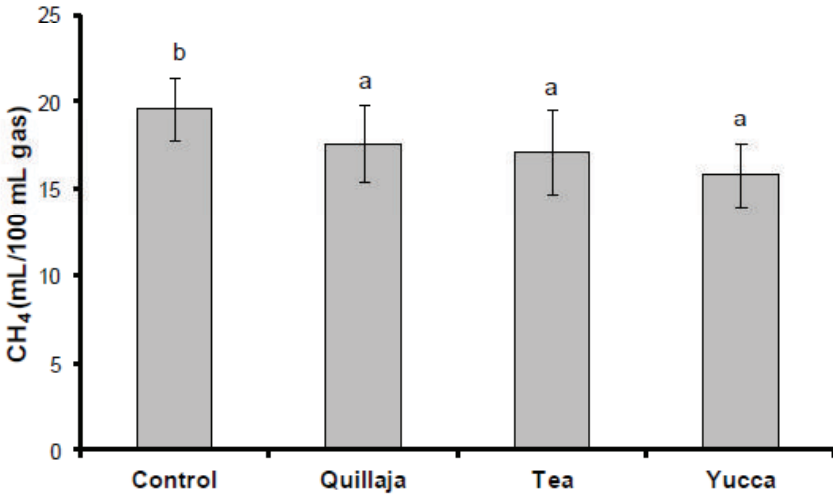
Oleh karena protozoa merupakan predator terhadap bakteri rumen, menurunnya populasi protozoa di rumen berdampak pada peningkatan biomassa bakteri sehingga meningkatkan efisiensi sintesis protein mikroba. Lebih lanjut, saponin juga dapat mengikat amonia ketika konsentrasi amonia di rumen tinggi serta melepaskannya kembali ketika konsentrasinya rendah sehingga menjamin ketersediaan amonia untuk sintesis protein mikroba. Regulasi amonia rumen dengan adanya saponin juga meningkatkan efisiensi utilisasi nitrogen sehingga dapat menurunkan ekskresi nitrogen ke lingkungan.

Saponin dapat menurunkan emisi gas metana dari ternak ruminansia yang terakumulasi di atmosfer dan berdampak pada pemanasan global (Gambar 7). Saponin yang berasal dari sejumlah sumber tanaman yang berbeda yakni quillaja, teh, dan yucca semuanya dapat menurunkan emisi gas metana (Gambar 8).

Mekanisme penurunan emisi gas metana oleh saponin disebabkan oleh sejumlah faktor. Saponin terbukti mengurangi populasi serta menghambat aktivitas metanogen, mikroba yang bertanggung jawab terhadap pembentukan gas metana dengan substrat utama berupa gas karbon dioksida dan hidrogen. Saponin menurunkan populasi protozoa yang merupakan inang bagi

sebagian metanogen; dengan berkurangnya protozoa maka metanogen juga populasinya berkurang. Adapun mekanisme penurunan populasi protozoa oleh saponin adalah melalui interaksi antara saponin dengan komponen sterol pada membran sel protozoa sebagaimana telah disampaikan sebelumnya di atas. Lebih lanjut, saponin menghambat pertumbuhan bakteri selulolitik dan fungi anaerobik di rumen yang menyediakan suplai hidrogen. Dengan terhambatnya mikroba-mikroba tersebut, suplai hidrogen sebagai salah satu substrat penting reaksi metanogenesis juga berkurang yang kemudian berdampak pada menurunnya emisi gas metana.





Gambar 8 Efek sumber saponin berbeda dari tanaman quillaja, teh dan yucca terhadap emisi gas metana

(Sumber: Jayanegara *et al.* 2014)

Dalam kaitannya dengan stoikiometri metabolisme rumen, saponin dapat meningkatkan konsentrasi asam lemak terbang (*volatile fatty acid*, VFA) dikarenakan degradasi parsial dari saponin yang melepaskan komponen gula untuk kemudian gula tersebut difermentasi menjadi VFA. Saponin mengubah pola fermentasi VFA menjadi lebih banyak propionat dan lebih sedikit asetat. Sintesis propionat dari gula membutuhkan hidrogen, sedangkan sintesis asetat menghasilkan hidrogen. Dengan semakin tingginya propionat dan semakin rendahnya asetat secara simultan, maka produksi gas hidrogen semakin sedikit yang kemudian berdampak pada semakin rendahnya emisi gas metana.

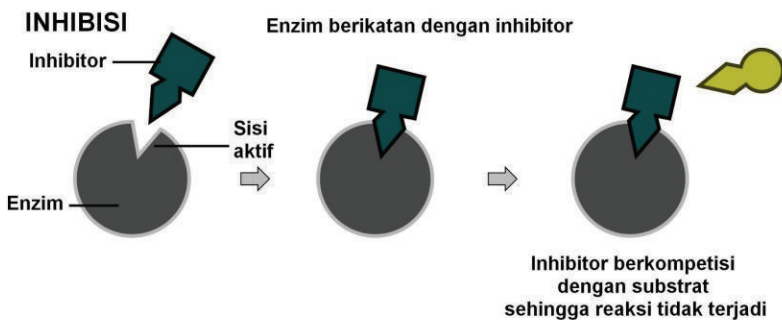
Kelebihan saponin lainnya adalah kemampuannya dalam menurunkan kadar kolesterol pada sejumlah spesies ternak. Interaksi saponin dengan komponen sterol termasuk kolesterol dapat membentuk kompleks yang tidak larut. Kondisi tersebut dapat menurunkan kadar kolesterol di darah serta jaringan, termasuk kolesterol di daging unggas dan juga kolesterol di telur. Produk ternak rendah kolesterol ini disukai oleh manusia dalam rangka menjaga kesehatan tubuh dari kolesterol yang berlebihan.

BAB 3

INHIBITOR PROTEASE

3.1 Karakteristik Kimia

Inhibitor protease merupakan komponen antinutrisi berupa protein yang memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas proteolitik dari enzim protease. Inhibitor ini menghambat enzim protease dengan cara berkompetisi dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim protease sehingga reaksi proteolitik tidak terjadi (Gambar 9). Protease inhibitor yang paling banyak tripsin-kemotripsin-inhibitor.



Gambar 9 Proses penghambatan aktivitas enzim protease oleh protease inhibitor

(Sumber: Campbell dan Reece 2008)

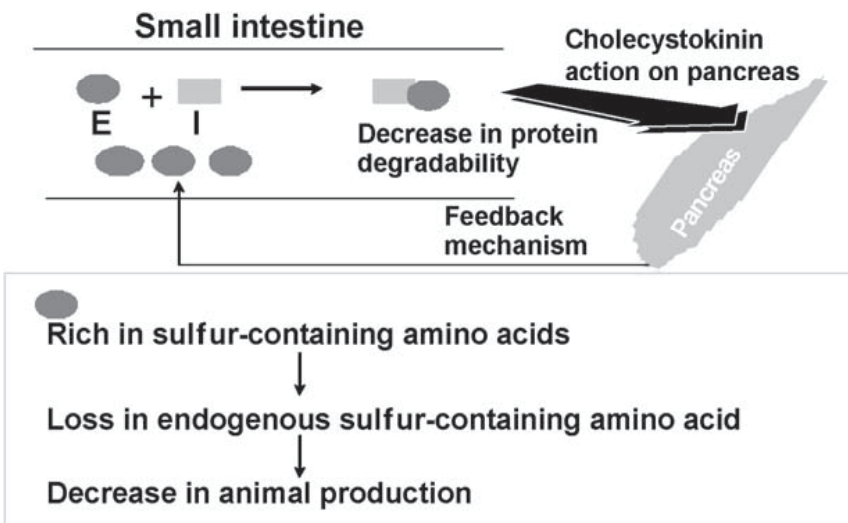
Inhibitor protease yang telah diisolasi dari kedelai dan leguminosa lainnya terbagi menjadi 2 kategori, yakni:

1. Inhibitor yang memiliki berat molekul 20.000 hingga 25.000 Da, dengan relatif sedikit ikatan disulfida dan secara spesifik bekerja pada enzim tripsin (inhibitor Kunitz).

- 2. Inhibitor dengan berat molekul yang lebih rendah yakni antara 6.000 hingga 10.000 Da, dengan tinggi proporsi residu sistin dan mampu menghambat enzim kimotripsin dan juga tripsin (inhibitor Bowman-Birk).

3.2 Dampak Inhibitor Protease terhadap Ternak

Dampak utama yang diakibatkan dari keberadaan inhibitor ini adalah menurunnya daya cerna protein terutama pada sistem pencernaan monogastrik termasuk pada manusia. Selain itu, di dalam sistem metabolisme, inhibitor tripsin dapat menginduksi mukosa usus untuk menghasilkan hormon *cholecystokinin* berlebih. Hormon ini dapat menstimulasi sel pankreas untuk menghasilkan enzim pencernaan seperti tripsin, kimotripsin, elastase, dan amilase secara berlebih. Jika negatif *feedback* ini terus berlanjut maka asam amino sulfur yang penting untuk metabolisme akan banyak hilang (Gambar 10). Hal ini bila terus-menerus terjadi maka akan mengakibatkan kegagalan pertumbuhan, hipertrofi/hiperplasia pankreas, serta efek karsinogenik .



Gambar 10 Mekanisme protease inhibitor dalam sistem pencernaan

(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

Keberadaan inhibitor tripsin pada pakan dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan ternak. Salah satu penjelasannya adalah bahwa terjadi kehilangan asam amino dalam bentuk enzim yang disekresikan oleh pankreas yang hiperaktif. Sekresi pankreas dikendalikan oleh mekanisme umpan balik negatif di mana sekresi enzim berbanding terbalik dengan keberadaan tripsin di usus halus. Jadi, ketika level tripsin di usus halus sedikit (misalnya adalah pada kondisi tripsin berikatan dengan inhibitor), sekresi kolesistokinin (hormon yang menstimulasi pankreas) akan meningkat dan pankreas merespons dengan cara memproduksi lebih banyak enzim. Selain itu, inhibitor mengganggu proses pencernaan protein di saluran pencernaan yang kemudian mengurangi ketersediaan asam amino untuk tujuan produksi.

3.3 Cara Menurunkan Kadar Protease Inhibitor

Protease inhibitor dapat dinonaktifkan oleh perlakuan panas. Pemanasan basah telah ditemukan lebih efektif daripada pemanasan kering. Fermentasi dan germinasi juga dikenal untuk mengurangi kemampuan inhibitor menghasilkan efek yang merugikan. Pemantauan tingkat inhibitor ini penting dilakukan baik pada pakan yang belum diolah maupun yang sudah diolah untuk mencegah efek buruknya. Pakan yang diketahui mengandung inhibitor protease terutama pada biji-bijian dan kacang-kacangan, seperti kedelai, kacang tanah, dedak padi, jagung, kacang hijau, lamtoro, gamal, lupin, biji kelor, dan lain sebagainya.

Salah satu cara menginaktivasi protease inhibitor adalah melalui proses perkecambahan atau *germination*. Selama proses perkecambahan pada kacang-kacangan atau biji-bijian, enzim-enzim menjadi aktif. Enzim yang aktif ini kemudian mendegradasi beberapa komponen utama seperti pati, simpanan protein, dan proteinase inhibitor. Degradasi ini penting untuk memberikan sediaan protein dan asam amino yang dibutuhkan biji untuk tumbuh. Sementara protease inhibitor dibutuhkan untuk melindungi biji dari berbagai predator yang mungkin mengganggu proses pertumbuhan, seperti mikroba, serangga, burung, atau hewan predator lainnya.

Perkecambahan merupakan tahapan awal pertumbuhan di mana bakal calon akar dan batang mulai keluar menembus cangkang biji. Proses ini banyak dipengaruhi oleh kondisi luar seperti ketersediaan air, oksigen, serta suhu

lingkungan. Diperkirakan protease melalui mekanisme proteolisis memiliki peran signifikan dalam menonaktifkan komponen antinutrisi seperti lektin, serta amilase-protease-inhibitor.

Mekanisme proteolisis berlangsung melalui tiga tahapan, yaitu *initial hydrolysis*, *bulk hydrolysis*, dan *cellular hydrolysis*. Pada hidrolisis awal, secara bertahap asam amino dilepaskan untuk sintesis enzim proteolitik dan senyawa yang berfungsi sebagai media transport molekul. Pada tahap proteolisis kedua, protein yang tersimpan dalam biji semakin banyak yang terhidrolisis menjadi asam amino yang diperlukan untuk proses pertumbuhan. Pada tahap akhir, protein selular terpecah menjadi asam amino yang diperlukan untuk proses pertumbuhan autotropik. Bagian protein yang berfungsi dalam proses proteolitik ini berbeda-beda tergantung pada jenis biji/kacangnya. Selama proses perkecambahan kadar inhibitor ini menurun dengan adanya aktivitas beberapa enzim. Proses degradasi aktivitas tripsin inhibitor selama proses perkecambahan pada kacang-kacangan dapat dilihat pada Tabel 1. Dari penelitian ini terlihat bahwa proses perkecambahan mampu secara efektif menurunkan aktivitas tripsin inhibitor, bahkan hingga 100% pada kacang kedelai (*Glycine max*).

Tabel 1 Penurunan (%) aktivitas tripsin inhibitor selama proses perkecambahan kacang-kacangan

Jenis kacang-kacangan	Aktivitas tripsin inhibitor (TIU/g sampel)	Waktu perkecambahan (hari)	% penurunan aktivitas tripsin inhibitor
<i>Dolichos biflorus</i> (Horse gram)	50.200	3	16 ^a
<i>Phaseolus aconitifolius</i> (Mothbean)	4.300	3	40 ^a
<i>Canavalia ensiformis</i> (Jack bean)	12	1.5	31 ^b
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Navy bean)	17	6	3 ^c
<i>Glycine max</i> (Soybean)	NA	13	100 ^d

Sumber: Savelkoul *et al.* (1992); ^aSubbulakshmi *et al.* (1976); method of Kakade *et al.* (1969); ^bBabar *et al.* (1988); method of Erlanger *et al.* (1961); ^cChang and Harrold (1988); method of Kakade *et al.* (1974); ^dResults were reflected as percentages Bowman-Birk inhibitor by Tan-Wilson *et al.* (1982); method of Tan-Wilson *et al.* (1982).

BAB 4

LEKTIN (HEMAGLUTIN)

4.1 Karakteristik Kimia

Lektin merupakan protein dengan bobot molekul berkisar antara 60.000 hingga 100.000 Da. Sebagian lektin berikatan secara kovalen dengan komponen gula sehingga berbentuk glikoprotein. Lektin sering juga dikenal dengan sebutan fitohemaglutin karena kemampuannya dalam menggumpalkan sel darah merah. Lektin memiliki sifat mengikat molekul karbohidrat khususnya komponen gula.

Lektin pada kacang-kacangan awalnya disintesis dan diidentifikasi sebagai rantai polipeptida tunggal dari berat molekul sekitar 30.000. Rantai ini, setelah pemisahan 20 asam amino hidrofobik 20 residu, dapat dipecah menjadi molekul yang lebih besar (β) dan lebih kecil (α), dengan kemungkinan hilangnya beberapa asam amino. Pada beberapa polong-polongan, molekul β dan α berupa dimer dengan ukuran sekitar 50.000 dan tetramer dengan ukuran sekitar 100.000 dan 120.000. *Phaseolus vulgaris* (var. Proseor) mengandung dua jenis molekul lektin dengan berat molekul sekitar 30.000, yang disebut E (erythro) dan L (leuco).

4.2 Dampak Lektin terhadap Ternak

Kemampuan lektin menggumpalkan sel darah merah adalah karena interaksi antara molekul lektin dengan reseptor glikokonjugat pada permukaan membran sel. Lektin dapat menghambat pertumbuhan dan produktivitas ternak. Lektin dapat terikat pada epitel usus halus sehingga mengurangi viabilitas sel-sel epitel dan mengakibatkan kerusakan pada sel-sel tersebut. Lebih jauh, terikatnya lektin tersebut kemudian dapat mengganggu proses penyerapan nutrisi pada usus halus.

Efek fisiologis lain dari lektin adalah menurunnya level insulin di darah, penghambatan aktivitas enzim disakaridase dan protease di usus halus, perubahan degeneratif pada hati dan ginjal, meningkatkan kehilangan N endogen, meningkatkan katabolisme protein, pemecahan lemak dan glikogen yang tersimpan, mengganggu metabolisme mineral, mengganggu absorpsi zat besi dan lemak, serta mengganggu sistem kekebalan tubuh ternak.

Lektin merupakan glikoprotein yang dapat berikatan dengan gula atau protein tertentu. Reaksi ini dapat terlihat secara *in vitro* melalui proses aglutinasi dari sel darah merah. Aglutinasi/ penggumpalan ini terjadi akibat adanya interaksi antara lektin dengan sel. Reaksi ini dapat digunakan untuk analisis keberadaan lektin dalam sampel biologis. Kemurnian lektin dapat dianalisis dengan teknik afinitas kromatografi.

Pemberian pakan yang mengandung lektin berasal dari kacang *Phaseolus vulgaris* dapat mengakibatkan beberapa gangguan metabolisme, seperti gangguan transportasi nutrisi ketika melintasi dinding usus, disertai hipertrofi usus, peningkatan laju sintesis protein mukosa, peningkatan katabolisme hati dan protein otot, tingkat insulin dalam darah yang lebih rendah, dan hambatan *brush border hydrolases*.

Molekul lektin terdiri dari satu atau lebih subunit. Ketika jumlah unit lektin sedemikian berkurang, maka kemampuan menggumpalkan dari lektin akan berkurang dengan sangat signifikan.

Vicia faba mengandung lektin yang berupa mannose/glukosa, yaitu tetramerik glikoprotein yang terdiri dari dua rantai kecil (α) dan dua rantai besar (β). *Glycine max* mengandung lektin yang berupa N-acetylgalactosamine/galaktosa, yaitu tetramerik glikoprotein yang terdiri dari jumlah yang sama dari dua molekul yang sedikit berbeda ukuran, yang masing-masing berisi alanin N-terminal. *Phaseolus vulgaris* (kacang merah) juga mengandung lektin berupa N-acetylgalactosamine/galaktosa yang berbeda dari lektin kacang kedelai. Lektin pada kacang merah terdiri dari lima isolektin yang merupakan glikoprotein dan masing-masing terdiri dari empat molekul yang disatukan oleh ikatan nonkovalen.

Aktivitas hemaglutinasi (penggumpalan) dari kacang hijau (*Pisum sativum*), kedelai (*Glycine max*), dan kacang faba (*Vicia faba*) disebabkan oleh adanya lektin di bagian kotiledon. Aktivitas penggumpalan ini (*Hemaglutining*

Activity/HA) menurun selama perkecambahan. Penurunan HA ini diamati pada perkecambahan kedelai (*Glycine max*), kacang pinto (*Phaseolus vulgaris*), kacang hijau (*Vigna radiata*), kacang faba (*Vicia faba*) (Tabel 2).

4.3 Cara Menurunkan Kadar Lektin

Lektin dapat diinaktivasi secara efektif menggunakan perlakuan pemanasan. Perlakuan pemanasan basah lebih efektif dalam merusak lektin dibandingkan dengan pemanasan kering.

Selain dengan pemanasan, lektin dapat secara alami dan efektif diturunkan dengan cara perkecambahan. Banyak studi telah mengungkapkan bahwa lektin secara signifikan berkurang dengan proses perkecambahan. Aktivitas penggumpalan (HA) pada *mothbean* (*Phaseolus aconitifolius*) yang berkecambah selama tiga hari tidak berkurang. Selama enam hari perkecambahan, aktivitas hemaglutinasi menurun pada *Phaseolus vulgaris* hingga sebesar 30%. Selama sembilan hari perkecambahan HA pada *French bean* (*Phaseolus vulgaris*) menurun hingga 90%. Bahkan bisa dihilangkan hingga 100% pada buncis (*Cicer arietinum* L.) setelah delapan hari perkecambahan (Tabel 2).

Tabel 2 Penurunan aktivitas penggumpalan (*hemaglutinating activity*/HA) akibat proses perkecambahan beberapa jenis kacang-kacangan

Jenis kacang	HA sebelum perkecambahan (HA/g sampel)	Waktu perkecambahan	Penurunan HA (%)
<i>Dolichos biflorus</i> (Horse gram)	2.600	3	77 ^a
<i>Phaseolus aconitifolius</i> (Moth bean)	40	3	0 ^a
<i>Glycine max</i> (Soy bean)	12.800	4	96 ^b
<i>Vigna radiata</i> (Mung bean)	1.600	4	100 ^b
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Pinto bean)	12.800	4	100 ^b
<i>Vicia faba</i> (Faba bean)	3.200	6	89 ^c

Keterangan: HA: *Hemaglutinating activity*

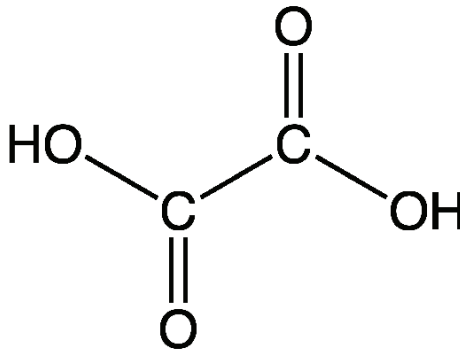
Sumber: ^aSubbulakshmi *et al.* (1976); ^bChen *et al.* (1977); method Prigent and Bourillon (1976); ^cRahma *et al.* (1987).

BAB 5

ASAM OKSALAT

5.1 Karakteristik Kimia

Asam oksalat merupakan anion dari asam dikarboksilat (Gambar 11). Sejumlah tanaman dapat mengakumulasi oksalat dalam konsentrasi tinggi. Senyawa ini memiliki dua macam bentuk, yaitu oksalat yang larut air (*soluble oxalate*) dan oksalat yang tidak larut air (*insoluble oxalate*). Akumulasi oksalat umumnya dalam bentuk oksalat terlarut, kalsium oksalat yang tidak larut, atau kombinasi dari kedua bentuk ini. Oksalat terlarut pada umumnya berikatan dengan sodium (Na^+), potasium (K^+), dan amonium (NH_4^+). Sedangkan oksalat yang tidak larut pada umumnya berikatan dengan ion kalsium (Ca^{2+}), magnesium (Mg^{2+}), dan besi (Fe^{2+}).



Gambar 11 Struktur kimia asam oksalat

5.2 Sumber Oksalat pada Pakan

Sejumlah bahan yang tinggi oksalat adalah belimbing, lada hitam, bayam, pisang, kakao, dan teh. Dalam kasus *rhubarb*, satu-satunya bagian yang dapat dimakan adalah tangkai karena akar dan daun mengandung konsentrasi asam oksalat yang sangat berbahaya. Biji-bijian dan kacang-kacangan yang tinggi oksalat di antaranya *Dolichos biflorus*, *Vigna aconitifolia*, *Lathyrus sativus*, *Prunus amygdalus*, *Anacardium occidentale*, *Sesamum indicum*, lentil, kernel biji mangga, *Embllica officinalis*, *Grewia asiatica*, labu, terong, dan tomat.

Untuk contoh daun-daunan dan umbi-umbian yang tinggi oksalat di antaranya *Amaranthus gangeticus*, *Amaranthus spinosa*, *Murrya konigii*, *Portulaca oleracea*, *Spinacea oleracea*, *Tamarindus indica*, *Moringa oleifera* (daun kelor), singkong, *Beta vulgaris* (akar bit), *Nelumbium nelumbo* (batang teratai), *Musa sapientum* (pisang raja dan sayuran), dan kol. Beberapa pakan lain yang mengandung asam oksalat, seperti *Opuntia* spp., rumput niper, jerami padi, eceng gondok (*Eichhornia crassipes*), *Atriplex* spp., dan *Maireana brevifolia*.

5.3 Efek Oksalat terhadap Ternak

Muatan negatif pada oksalat menyebabkan senyawa tersebut memiliki afinitas yang tinggi terhadap mineral yang bermuatan positif seperti kalsium, magnesium, dan zinc (Gambar 12). Sifat ini dalam sistem metabolisme dapat mengganggu utilisasi dari mineral tersebut. Oksalat terlarut memiliki kapasitas yang tinggi dalam mengikat kalsium pada serum darah sehingga mengakibatkan intoksikasi akut pada ternak yang mengonsumsinya dalam dosis tinggi.



Gambar 12 Daya ikat anion asam oksalat terhadap ion logam Ca dan Mg

(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

Tingginya konsumsi oksalat juga mengakibatkan pembentukan kalsium oksalat di ginjal (dikenal dengan nama batu ginjal). Senyawa ini bisa berikatan dengan kalsium (Ca) atau magnesium (Mg) dalam pakan untuk kemudian membentuk Ca atau Mg oksalat yang tidak dapat larut. Pengikatan ini pada akhirnya dapat menyebabkan kadar Ca atau Mg serum yang rendah serta gagal ginjal akibat pengendapan garam-garam ini di ginjal.

Kemampuan oksalat dalam mengikat anion kalsium dan fosfor dapat menyebabkan mobilisasi mineral tulang secara besar-besaran hingga akhirnya kekurangan kalsium (*hipokalsemia/hypocalcaemia*). Tulang yang mengalami demineralisasi akan menjadi fibrotik dan cacat. Kasus yang pernah terjadi di antaranya perubahan bentuk dan *'bighead'* pada kuda. Biasanya hewan ruminansia tidak terlalu terpengaruh, tetapi asupan pakan berkepanjangan pada sapi dan domba di beberapa daerah tropis rumput dapat menyebabkan hipokalsemia berat. Tingginya kadar oksalat di padang rumput tanaman dianggap sebagai faktor utama pembentukan *urolith* (batu ginjal) pada hewan yang merumput. Dalam penelitian lain melaporkan kejadian kadar oksalat yang tinggi pada buah bit berkaitan dengan terjadinya hipokalsemia dan hipomagnesemia pada domba betina.

Hasil penelitian mengungkap bahwa pemberian pakan mengandung 0%, 4%, 5%, dan 6% oksalat terlarut pada domba menyebabkan hipokalsemia yang ditandai dengan adanya peningkatan serum P dan penurunan serum Mg (Tabel 3).

Tabel 3 Efek pakan mengandung asam oksalat pada berbagai level konsentrasi pada Ca, P, dan Mg dalam serum darah

% Oksalat dalam pakan	Serum Ca (mg/100 ml)	Serum P (mg/100 ml)	Serum Mg (mg/100 ml)
0	10,8*	3,3**	2,5**
4	10,6	3,3	2,3
5	10,2	3,7	2,3
6	9,9	4,2	2,3

Keterangan: Ca, calcium; P, phosphorus; Mg, magnesium.*p < 0,05; **p < 0,01.

Sumber: James dan Butcher (1972)

Hasil penelitian juga mengungkapkan bahwa total asupan oksalat pada level 0,58% dari asupan DM tidak memberikan dampak yang berbahaya pada sapi jantan. Akan tetapi pada peningkatan asupan oksalat hingga 1,19% akan menciptakan keseimbangan negatif pada Ca serum darah (Tabel 4).

Tabel 4 Keseimbangan Ca serum darah pada berbagai level asupan oksalat

Parameter	Asupan asam oksalat (%DM)			
	0,21	0,58	1,19	1,59
Intake Ca (g/d)	12,10	12,20	10,42	10,66
Ekskresi Ca melalui feses dan urin (g/d)	10,89	11,83	12,21	12,69
Keseimbangan Ca (g/d)	+1,21 ^a	+0,37 ^b	-1,79 ^c	-2,03 ^d

Keterangan: Nilai rata-rata dengan superskrip yang berbeda (a-d) menunjukkan berbeda nyata pada p-value < 0,05. Sumber: Panda dan Sahu (2002)

Pada konsentrasi yang tinggi, asam oksalat juga diduga dapat menyebabkan arthritis (pembengkakan di daerah persendian). Bahaya lain yang mungkin ditimbulkan adalah kemungkinan adanya logam berat yang masuk dalam jaringan akibat terikat kuat bersama asam oksalat dan masuk dalam sistem metabolisme, seperti logam kadmium (Cd).

Beberapa jalur produksi oksalat pada tanaman di antaranya oksidasi dari hasil fotorespirasi glikoksilat, pemecahan asam askorbat dan isositrat, serta hidrolisis oksaloasetat. Oksidasi glioksilat merupakan jalur yang paling singkat dan efisien dalam pembentukan asam oksalat pada tanaman yang mengandung oksalat.

Oksalat dalam bahan pakan memainkan peran penting dalam pembentukan Ca-oxalate. Asupan tinggi Ca dapat mengurangi penyerapan oksalat dalam sistem pencernaan untuk kemudian diekskresikan melalui urin. Penambahan bahan pakan lain akan cukup membantu mengurangi asupan oksalat total dari pakan yang dikonsumsi. Bila keracunan oksalat berlanjut dengan level yang lebih tinggi, maka bisa menyebabkan gagal ginjal pada hewan ternak.

Ternak nonruminansia cenderung lebih peka terhadap kandungan oksalat daripada ternak ruminansia. Hal ini dikarenakan ternak ruminansia pada tahap akhir pencernaan memiliki bakteri rumen yang dapat membantu menurunkan kadar oksalat. Jika ruminansia diberikan pakan tinggi oksalat secara perlahan atau bertahap, maka populasi bakteri pendegradasi oksalat

dalam rumen akan meningkat secara signifikan sehingga dapat mencegah terjadinya keracunan oksalat. Akan tetapi, jika pakan tinggi oksalat diberikan sekaligus dalam jumlah yang besar maka sistem rumen akan kesulitan dalam metabolisme hasil oksalat sehingga pada akhirnya ternak akan keracunan oksalat.

Percobaan menggunakan ternak ruminansia (sapi, kambing, dan domba) diberi pakan dengan rumput mengandung oksalat yang tinggi memiliki kadar Ca darah yang lebih rendah bila dibandingkan ternak yang diberi pakan rumput rendah oksalat rumput (Tabel 5). Data ini mengindikasikan bahwa dengan manajemen yang tepat, ternak ruminansia mampu secara efisien memanfaatkan sejumlah besar oksalat tanpa menimbulkan efek penyakit (walaupun konsentrasi Ca dalam serum darah berkurang).

Tabel 5 Level kalsium dalam serum darah pada beberapa ternak ruminansia yang diberikan pakan dengan kandungan asam oksalat yang berbeda

Hewan ternak	Tipe pakan	Trial	Oxalat terlarut dalam rumput (% DM)	Level Ca darah (mg/dl)
Sapi	Rumput gajah (cv.TLG2)	Trial 1	0,95 ^b	6,8 ^a
	Rumput gajah (line 7439)		1,76 ^a	5,8 ^b
Kambing	Rumput gajah (cv.TLG2)	Trial 2	1,26 ^b	8,5 ^a
	Rumput gajah (line.7439)		1,74 ^a	8,1 ^b
Domba	Guinea grass	Trial 1	0,47*	13,7 ^a
	Setaria		1,34	11,7 ^b
Domba	Guinea grass	Trial 2	0,47*	12,4 ^a
	<i>Guinea grass</i> **		3,47	11,0 ^b

Keterangan: * Tidak ada analisis statistik yang dilakukan; ***Guinea grass* diperlakukan dengan asam oksalat 3%; ^{a, b} pada kolom yang sama dengan superskrip yang berbeda berarti berbeda secara signifikan pada nilai $p < 0,05$

Berdasarkan hasil dari berbagai penelitian (Tabel 6), level maksimum oksalat pada pakan yang masih aman bagi ternak ruminansia adalah 2,0% oksalat terlarut walaupun pada level ini sudah mampu menurunkan kadar Ca

dalam darah. Pada ternak nonruminansia, level 0,5% oksalat terlarut masih dapat dikategorikan aman. Ini masih merupakan studi awal. Bagaimanapun penelitian lebih lanjut, terutama studi jangka panjang, diperlukan untuk memvalidasi tingkat kadar oksalat pada pakan ternak yang masih dikategorikan aman.

Tabel 6 Respons ternak terhadap pakan yang mengandung oksalat terlarut (% DM)

Kadar oksalat dalam pakan (% DM)	Dampak terhadap ternak
4,0 atau lbh	Beracun atau bahkan berakibat fatal bagi ternak
2,0	Keseimbangan kalsium negatif pada sapi
6,9	Toksisitas akut pada sapi
3,01	Toksisitas pada anak kerbau
3,5	Peningkatan waktu pembekuan darah pada anak sapi
1,3 – 1,8	Penyakit tulang subklinis pada kuda
2,0 atau lebih	Toksisitas akut pada ruminansia
3,01	Toksisitas pada sapi dan kerbau
0,39 – 2,44	Toksisitas akut pada ruminansia
2,66 – 2,75	Mengurangi kadar kalsium serum pada ternak dan kambing

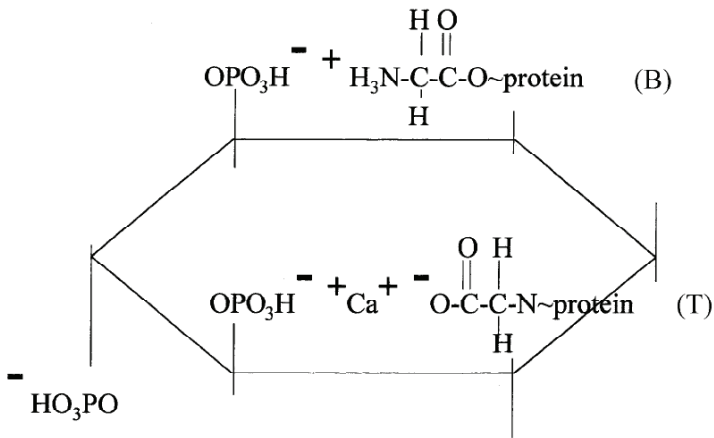
Sumber: Rahmat *et al.* (2012)

BAB 6

ASAM FITAT

6.1 Karakteristik Kimia Fitat

Asam fitat (1,2,3,4,5,6-heksakis dihidrogenfosfat mioinositol) merupakan bentuk penyimpanan utama fosfor pada biji-bijian dan berperan sebagai komponen antinutrisi pada ternak. Asam fitat memiliki kemampuan mengkompleks protein membentuk struktur *binary* dan *ternary* (Gambar 13).



Gambar 13 Struktur kompleks asam fitat mengikat protein, binary (B) dan ternary (T)

(Sumber: Selle *et al.* 2000; Anderson 1985)

Skema definisi asam fitat, fitat, dan fitase disajikan pada Gambar 14. Pada berbagai literatur, ketiga istilah fitat ini sering digunakan untuk beberapa istilah dan ini dengan mudah menyebabkan kesalahpahaman. Asam fitat,

sebagai asam bebas, adalah ester asam heksa fosfor 6-hidroksil alkohol siklik kelompok myo-inositol, yang dapat disintesis dalam organisme hewan, tetapi memiliki karakteristik penting untuk mikroorganisme tertentu. Deskripsi kimia yang benar untuk asam fitat adalah mio-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakis dihidrogen fosfat. Garam asam fitat dijelaskan sebagai fitat. PA singkatan internasional berdiri tidak hanya untuk asam fitat, tetapi juga untuk fitat. Lebih tepatnya, fitat adalah campuran kalium, magnesium, dan kalsium garam asam fitat yang ada sebagai bentuk kelat dan penyimpanan untuk fosfor pada sereal, kacang-kacangan, dan minyak sayur.

Phytic acid: Myo-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakis dihydrogen phosphate
International abbreviation: PA (phytic acid)

Phytate: Salt of phytic acid

Phytase: Enzyme that catalyses the hydrolytic phosphate splitting of phytic acid (IP6) to lower inositol phosphate esters (IP5-IP1) and inorganic phosphate (Pi)
a) 3-phytase (E.C. 3.1.3.8) microbial origin
b) 6-phytase (E.C. 3.1.3.26) plant origin

Gambar 14 Pembagian definisi asam fitat, fitat, dan fitase

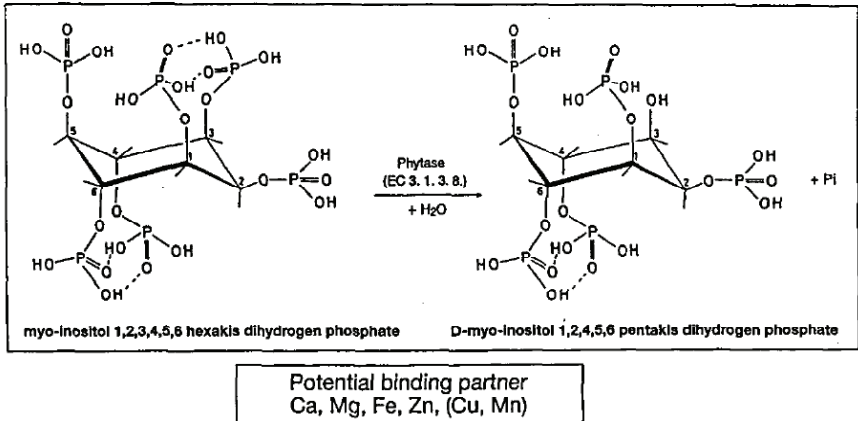
(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997)

Asam fitat memiliki muatan negatif pada rentang pH yang luas serta memiliki afinitas yang kuat terhadap ion mineral seperti kalsium, zinc, dan besi. Kondisi ini mengakibatkan gangguan penyerapan pada mineral-mineral tersebut di usus halus sehingga berpengaruh negatif terhadap berbagai proses metabolisme tubuh ternak. Asam fitat juga dapat membentuk kompleks dengan protein dan pati sehingga menurunkan daya cerna nutrisi tersebut. Komponen fosfor pada asam fitat tidak tersedia (tidak dapat diutilisasi) oleh ternak monogastrik. Namun demikian, asam fitat pada konsentrasi rendah justru berperan positif sebagai zat antioksidan.

Fosfor asam fitat mewakili 50–85% dari total kandungan fosfor dalam bibit tanaman. Lokalisasi asam fitat dalam biji bervariasi. Dalam biji-bijian, terletak PA terutama di dedak (lapisan aleuron, testa, dan pericarp), dalam

kasus jagung PA ditemukan terutama pada bagian benih. Pada biji kacang-kacangan, PA terakumulasi bagian kotiledon dan endosperma.

Fitase adalah enzim yang mengkatalisis fosfat hidrolitik pemisahan asam fitat. Fitase asal mikroba (E.C. 3.1.3.8) memisahkan gugus fosfat pada atom C3 dari cincin inosit, sedangkan sumber nabati (E.C. 3.1.3.26) fitase aktif pada bagian gugus C6. Dengan pemisahan gugus fosfat ester inositol fosfat pentakis, tetrakis, tris, bis, dan mono fosfat yang lebih rendah diproduksi. Gambar 15 menyajikan deskripsi skematis dari aksi hidrolitik fitase dari mikroba pada inositol heksafosfat.



Gambar 15 Hidrolisis asam fitat oleh fitase dari mikroba (E.C. 3.1.1.26) menghasilkan D-mio-inositol 1,2,4,5,6 pentakis dihydrogen fosfat dan fosfat anorganik

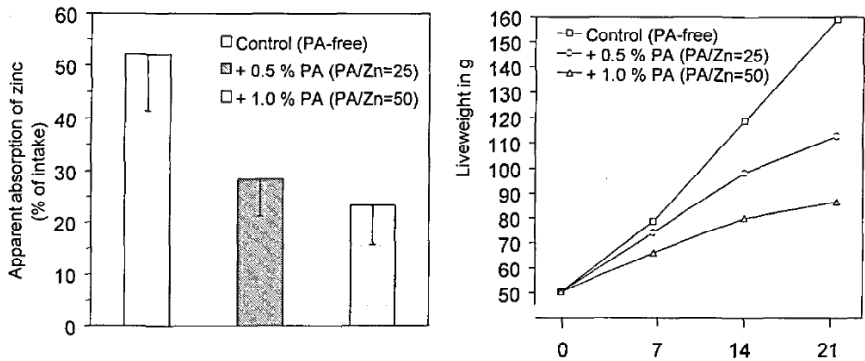
(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997)

Nilai pH optimum untuk fitase tanaman berada pada kisaran 4,0–6,0. Hidrolisis asam fitat oleh fitase dari *Aspergillus ficuum*s menunjukkan dua titik optimum pada pH yang berbeda yaitu pH 2,5 dan pH 5,5. Hasil uji menunjukkan enzim 40% kurang aktif pada pH 2,5 dibandingkan pada pH 5,5.

6.2 Efek Antinutrisi dari Asam Fitat

Efek antinutritif dari asam fitat bergantung pada struktur molekulnya. Pada fase disosiasi sempurna, enam gugus fosfat asam fitat membawa dua belas muatan negatif dengan derajat keasaman berkisar antara asam lemah hingga pH netral, yang mampu mengikat kation di- dan trivalen yang berbeda (misal Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn) ke dalam kompleks yang stabil. Interaksi antara asam fitat dan protein juga telah banyak diteliti. Dalam kondisi asam pengaruh negatif asam fitat pada kelarutan protein besar kemungkinan terjadi karena ikatan ion antara gugus fosfat asam fitat dan asam amino terprotonisasi (residu, residu histidin, dan residu arginil).

Mineral seng (Zn) merupakan zat gizi mikro yang bioavailabilitasnya paling mudah dipengaruhi oleh asam fitat. Hasil uji *in vitro* dan *in vivo* bahwa menurunnya bioavailabilitas ini berkaitan dengan sifat kimia asam fitat yang memiliki rasio molar yang lebih tinggi dibandingkan ion Zn. Penurunan bioavailabilitas seng diperkirakan terjadi pada perbandingan molar PA:Zn > 10-15. Studi pengaruh suplementasi PA pada penyerapan Zn pada tikus yang tumbuh ditunjukkan pada Gambar 16. Hewan-hewan diberi makan lebih dari 21 hari dengan diet semi-sintetik berdasarkan albumin telur dan tepung jagung mengandung asam fitat (sebagai sodium fitat) menunjukkan adanya penurunan penyerapan mineral Zn dan penurunan pertambahan bobot badan. Pengaruh asam fitat terhadap kalsium (Ca), magnesium (Mg), besi (Fe), tembaga (Cu), dan mangan (Mn) pada percobaan menggunakan hewan coba monogastrik dan manusia juga telah dipublikasikan.



Gambar 16 Pengaruh suplementasi asam fitat terhadap penyerapan Zn dan pertambahan bobot badan

(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997)

6.3 Asam Fitat dan Logam Berat

Studi *in vitro* juga menunjukkan adanya interaksi antara asam fitat dan logam berat, seperti timbal (Pb) dan kadmium (Cd). Sebesar 2% kalsium fitat pada pakan yang diberikan pada mencit mampu menurunkan toksisitas dari timbal pada konsentrasi 1 g timah asetat/kg pakan. Gugus fitat mampu mengikat timbal sehingga menurunkan konsentrasi timbal dalam darah. Efek menurunkan toksisitas logam berat ini semakin efektif bila ditambahkan kalsium ke dalam pakan. Bagaimanapun kemampuan asam fitat untuk mengikat mineral mengurangi tingkat pencernaan dan penyerapan mineral P, Ca, Zn.

Studi efek asam fitat terhadap penurunan toksisitas Cd juga telah dilakukan. Diet sodium fitat (10 g/kg dengan adanya 6 g Ca/kg diet) memiliki sedikit efek pada akumulasi kadmium di hati dan ginjal tikus yang diberi 5 mg Cd per kg diet, diet tinggi kalsium (12 g/kg diet) tanpa suplemen fitat bahkan meningkatkan kadar kadmium jaringan sekitar 50% dibandingkan dengan kontrol. Penambahan fitat dan jumlah kalsium yang tinggi secara bersamaan hanya mengurangi deposisi Cd jaringan hingga ke tingkat kontrol. Studi menggunakan Cd berlabel mengungkap bahwa fitat bertanggung jawab atas penurunan yang cukup besar dalam penyerapan kadmium usus. Pemberian

makan tikus dengan diet gandum atau dedak gandum kaya fitat (3-6 g PA/kg) menurunkan akumulasi fraksional dari dosis tunggal kadmium berlabel radio di hati dan ginjal.

Dalam studi menggunakan tikus yang diberi pakan diet semi-sintetik berdasarkan telur albumin dan tepung jagung (mengandung 5 mg Cd dari $CdCl_2$ dan 15 atau 100 mg Zn per kg diet) penambahan 0,5% PA dari NaPA untuk diet meningkatkan akumulasi kadmium di hati dan ginjal. Namun, suplemen fitase menurunkan akumulasi kadmium hati dan ginjal dalam percobaan tikus. Di bawah kondisi pasokan seng yang sangat tinggi (225 mg Zn/kg diet) PA hanya memiliki sedikit efek pada Cd darah pada tikus.

Pada percobaan menggunakan burung puyuh dan ayam, pengurangan bioavailabilitas kadmium karena fitase mikroba juga jelas terlihat. Bertentangan dengan temuan pada penelitian menggunakan hewan uji tikus, burung puyuh, dan ayam dengan kadar $CdCl_2$ yang tinggi, suplemen fitase untuk diet babi P- dan Ca- dikurangi dengan konsentrasi Cd rendah secara signifikan meningkatkan akumulasi kadmium hati dan ginjal. Perbedaan dalam tingkat Cd diet, bentuk pengikatan kadmium dalam diet dan durasi percobaan eksperimental sebagian dapat menjelaskan perbedaan yang ditemukan dalam literatur. Terlepas dari perlakuan makanan, konsentrasi kadmium hati dan ginjal dalam percobaan babi jauh lebih rendah daripada nilai maksimal yang diizinkan. Mekanisme biologis dari efek keberadaan asam fitat dan logam berat timbal dan kadmium belum jelas terungkap.

6.4 Efek Menguntungkan dari Asam Fitat

Walaupun asam fitat memiliki efek anti nutritif, senyawa ini ternyata juga memiliki sifat protektif yang menguntungkan, di antaranya adalah sifat antioksidan. Hasil studi memaparkan bahwa setelah besi radikal hidroksil yang diinduksi oleh besi melalui reaksi tipe Fenton, terlihat adanya mekanisme protektif dari proses oksidasi lipid dengan adanya penambahan 500 μM Na-PA pada standar asam arakidonat (160 μM). Di mana dalam kondisi ini, kelat lain terbukti kurang efektif. Selain itu, studi juga menunjukkan adanya pengurangan sensitivitas autooksidasi dari makanan dan pakan yang kaya akan asam fitat, serta stabilitas penyimpanan yang sangat besar dari berbagai biji-bijian sereal. Hal ini kemungkinan terjadi karena adanya hubungan dengan konstanta stabilitas yang tinggi dari kompleks besi-fitat.

Efek perlindungan diet dari asam fitat juga diamati pada azoxymethane dan dimethylhydrazine yang digunakan untuk menginduksi karsinogenesis dalam kasus transplantasi fibrosarcoma pada mencit dan tikus. Mekanisme efek perlindungan dari asam fitat sering dijelaskan oleh penghambatan generasi radikal yang diinduksi besi dan peroksidasi lipid. Sayangnya, sebagian besar penelitian yang melaporkan efek antikarsinogenik dari asam fitat pada hewan percobaan tidak memantau perubahan dalam ketersediaan hayati zat besi dan mineral lainnya serta pada mineral mikro akibat adanya kandungan fitat pada diet. Namun, ada mekanisme efektif lain yang mungkin dapat menghasilkan efek nutrisi-fisiologis yang diinginkan melalui asam fitat.

Asupan asam fitat yang tinggi juga dapat disertai dengan peningkatan konsentrasi kalsium di usus besar. Kelebihan kalsium bisa mengubah asam empedu dan asam lemak rantai panjang di usus besar menjadi bentuk yang tidak aktif secara biologis. Terutama asam empedu sekunder dianggap memiliki peran penting dalam perkembangan kanker kolon-rektal. Selanjutnya, efek antiproliferatif langsung kalsium pada epitel usus besar telah ditemukan. Penyerapan glukosa yang tertunda dan peningkatan lebih lambat dari kadar glukosa darah post prandial setelah konsumsi diet yang mengandung asam fitat dipandang menguntungkan secara fisiologis pada manusia. Hal ini terlihat dari adanya korelasi negatif antara kandungan PA dan indeks glikemik ($r = -0,78$) dari berbagai sampel makanan.

Studi *in vitro* menunjukkan bahwa pencernaan pati gandum menurun secara signifikan dengan penambahan 2% PA. Jika air liur manusia yang mengandung jumlah alfa-amilase dipreinkubasi dengan PA selama 30 menit pada pH 7 dan kemudian ditambahkan ke pati gandum, pencernaan pati menurun 34% setelah 1 jam inkubasi dan 60% setelah 5 jam dibandingkan dengan sampel yang tidak ditambahkan PA. Selain itu, roti tidak beragi yang diperkaya fitat (mengandung 2,96 g natrium fitat per 100 g karbohidrat) mengurangi pencernaan pati *in vitro* selain meratakan respons glikemik pada responden sehat dibandingkan dengan roti tanpa penambahan PA. Mekanisme PA ini dalam pencernaan pati dapat dijelaskan oleh sifat-sifat pengikatan kalsium PA.

Ion kalsium yang diperlukan untuk aktivitas normal alfa-amilase terikat dan diendapkan oleh PA dalam lingkungan basa di usus kecil. Penjelasan lain yang mungkin untuk mengurangi aktivitas amilase adalah interaksi antara PA dan

protein enzim dan/atau molekul pati. Namun, penelitian lain mengamati tidak ada penghambatan PA pada aktivitas alfa-amilase dan pencernaan pati. Kolesterol total plasma yang meningkat atau lebih spesifik, peningkatan konsentrasi kolesterol LDL telah terbukti menjadi salah satu faktor risiko penyakit jantung koroner. Fraksi berbeda dari serat makanan, terutama serat yang larut dalam air, memiliki potensi besar untuk menurunkan kolesterol total, kolesterol LDL, serta konsentrasi trigliserid dalam plasma. Diet tinggi serat tertentu yang dikaitkan dengan risiko penyakit jantung koroner yang lebih rendah juga mengandung jumlah fitase yang substansial. Selanjutnya telah disarankan bahwa fitat dapat memainkan peran dalam pencegahan penyakit jantung koroner.

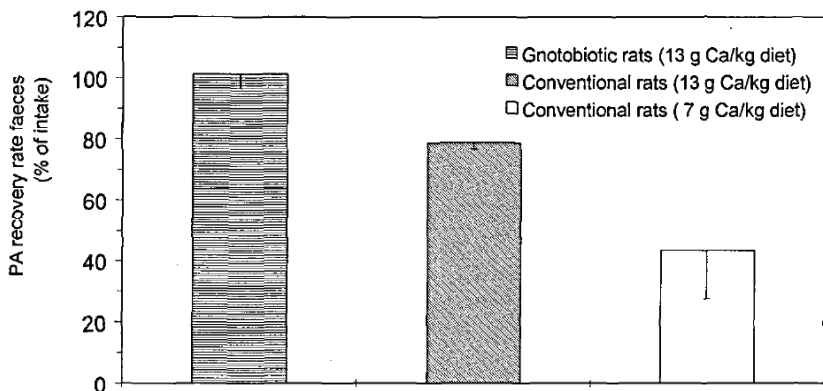
Efek PA terhadap kolesterol dan trigliserid juga telah ditemukan. Penambahan 9% monopotassium fitat ke dalam diet semi-sintetik yang diperkaya dengan kolesterol 0,6% secara signifikan menurunkan total kolesterol serum sebesar 32% dan triglycerides sebesar 64%. Senada dengan pengamatan ini, studi lain pada tikus menunjukkan bahwa fitat murni asli yang diisolasi dari Bengal memiliki potensi untuk menurunkan kolesterol dan trigliserid serum terutama pada jaringan (hati, jantung, aorta). Mekanisme di mana diet phytate memunculkan efek penurunan lipid masih belum jelas.

Studi menunjukkan bahwa efek penurunan kolesterol dan trigliserid dari diet fitat terjadi dengan disertai adanya penurunan rasio seng/tembaga dalam plasma sebesar 27%. Namun, pada studi lain peningkatan yang signifikan dalam kandungan protein, kolesterol fraksi HDL dan LDL, serta dalam kandungan trigliserida fraksi LDL pada tikus yang kekurangan tembaga. Selain itu, konsentrasi apoprotein E fraksi HDL meningkat secara signifikan pada hewan yang kekurangan tembaga. PA diketahui mengurangi bioavailabilitas seng pada manusia dan hewan, sementara penambahan PA pada makanan yang diberikan pada tikus yang kekurangan tembaga secara signifikan meningkatkan bioavailabilitas tembaga. Dengan demikian perubahan kelarutan seng dan tembaga karena fitat makanan dapat memainkan peran penting dalam kolesterol dan metabolisme trigliserid. Ini juga dihipotesiskan bahwa efek penurunan kolesterol PA dapat dimediasi melalui inositol fosfat yang lebih rendah. Khususnya difosfat mio-inositol difosfat yang memiliki kemiripan struktural yang dekat dengan isopentenil pirofosfat dapat berfungsi sebagai penghambat HMG CoA reduktase, laju enzim pembatas untuk sintesis kolesterol dalam sel mamalia.

Dari sudut pandang nutrisi hewan, asam fitat di satu sisi merupakan sumber fosfor yang hampir tidak tersedia pada hewan monogastrik, dan mengurangi ketersediaan hayati berbagai mineral dan mineral mikro. Di sisi lain, terutama dalam nutrisi manusia, aspek fisiologis gizi positif dari asam fitat patut dipertimbangkan.

6.5 Fitase Usus dan Fitase Tanaman

Untuk pemanfaatan fosfat fitat dan mineral yang terikat dalam kompleks PA diperlukan pemisahan hidrolitik dari gugus fosfat yang terikat pada asam fitat oleh fitase, baik dari sumber hewan, tumbuhan dan/atau sumber mikroba. Terdapat perbedaan temuan mengenai keberadaan fitase usus pada hewan monogastrik. Di satu sisi ada bukti dari studi mengenai manfaat fitase usus, di studi yang lain melaporkan bahwa hidrolisis fitat kuantitatif oleh enzim usus tidak memiliki efek yang signifikan. Tingkat *recovery* asam fitat pada beberapa kelompok hewan uji tersaji pada Gambar 17. Studi memperlihatkan tingkat *recovery* hampir 100% pada tikus *gnotobiotically* dan konvensional dengan penambahan Ca hingga 13g/kg diet. Dari hasil studi tersebut disimpulkan dengan pemberian diet fitase bebas, pengukuran PA-terhidrolisis pada gastro-intestinal tikus terutama dipengaruhi oleh fitase bakteri dari flora usus.



Gambar 17 Tingkat pemulihan asam fitat (dalam % asupan) dalam tinja gnotobiotik dan tikus konvensional yang diberi makan PA yang mengandung diet (4 g fitat P/kg) dengan tinggi (13 g Ca/kg) dan normal (7 g Ca/kg) konsentrasi Ca dalam makanan

(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997; Wise dan Gilbert 1982)

6.6 Asam Fitat pada Bahan Pakan

Kompleks protein dengan asam fitat pertama kali diamati dari ekstrak biji kapas. Bahan pakan yang banyak mengandung asam fitat, di antaranya kedelai, kelor, jarak pagar, jayanti, dan dedak padi. Kandungan asam fitat pada bahan pakan cukup variatif. Selain kadar asam fitat yang berbeda, aktivitas fitase dari berbagai bahan pakan juga cukup bervariasi dan perlu diperhitungkan. Gandum dianggap sangat kaya akan fitase. Jagung, tepung kacang kedelai memiliki aktivitas fitase yang sedikit. Sementara barley memiliki aktivitas fitase dalam jumlah sedang. Dalam Tabel 7 disajikan data mengenai aktivitas fitase pada sereal tertentu, kacang-kacangan, dan minyak sayur. Satu unit fitase (PU) didefinisikan sebagai aktivitas enzim yang dalam kondisi optimal (pH 5,5, 37°C) yang mampu melepaskan 1 umol fosfat anorganik dari Na-fitat dalam waktu satu menit. Dengan pemberian pakan yang setara kandungan fitasnya seperti jagung, barley, dan gandum, terdapat sebuah korelasi yang berbeda antara aktivitas fitase dari diet dan PA-hidrolisis gastro-intestinal pada babi. Bagaimanapun, evaluasi pada ekskresi ternak unggas menunjukkan adanya sejumlah besar dalam feses ternak. Hal ini menunjukkan kurangnya ketersediaan (bioavailabilitas) fosfor-terikat di fitate bahan pakan nabati.

Tabel 7 Aktivitas phytase dari berbagai komponen pakan

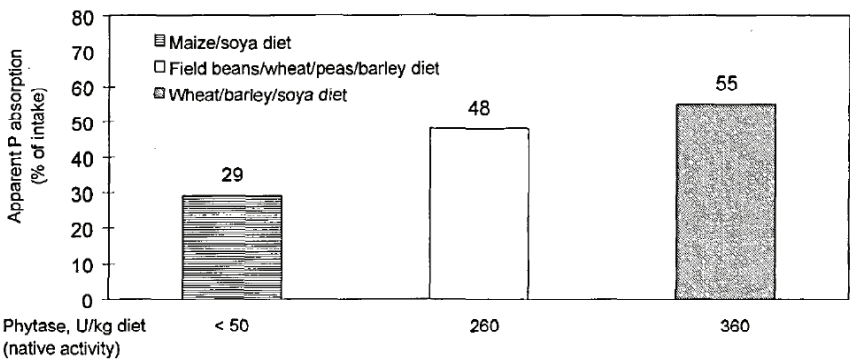
Bahan pakan	n (jumlah sampel)	Aktivitas fitat (U/kg)	
		Rata-rata±SD	Kisaran
Rye	2	5130	4132–6127
Triticale	6	1688±227	1475–2039
Gandum	13	1193±223	915–1581
Barley	9	582±178	408–882
Oats	6	42±50	0–108
Peas	11	115±54	36–183
Field beans	1	81	
Soybeans	4	55±54	36–183
Jagung	11	15±18	0–46

Sumber: Pallauf dan Rimbach (1997); Eeckhout dan De Paepe (1994)

Degradasi fitat dalam lambung dan usus kecil proksimal tertinggi di gandum, lebih rendah di barley dan terendah pada jagung. Sebuah studi telah dipublikasikan mengenai babi yang membandingkan diet kaya triticale/kedelai

kaya fitase (440 PU/kg) dengan diet jagung/kedelai yang sangat rendah fitase (9 PU/kg). Total kandungan fosfor dari kedua diet sama dengan 0,35–0,40%. Memberi makan diet triticale/kedelai kaya fitase meningkatkan penyerapan P yang jelas (65% vs 48%) dan menghasilkan mineralisasi tulang yang lebih baik serta kenaikan berat badan harian yang lebih tinggi (710 g vs 640 g).

Dalam percobaan lebih lanjut, penambahan 20% dedak gandum kaya fitase ke dalam diet jagung/kedelai untuk babi (kandungan total fosfor 0,42–0,44%) meningkatkan penyerapan total fosfor dari 36% (jagung/kedelai diet) hingga 55% (diet jagung/kedelai + bekatul dengan 1.200 PU/kg). Studi lain juga menunjukkan bahwa fitase tanaman menginduksi PA hydrolysis gastrointestinal yang cukup besar (Gambar 18). Jadi, dari diet jagung/kedelai, di mana tidak ada aktivitas fitase asli dapat diidentifikasi, hanya 29% dari total fosfor yang dikonsumsi diserap. Dengan pemberian makanan menggunakan *fieldnut*, gandum, kacang polong, dan jelai (260 PU/kg) atau gandum, jelai dan bungkil kacang kedelai (360 PU/kg) dengan total konsentrasi P yang sebanding 0,4%, tetapi dengan penduduk asli yang lebih tinggi aktivitas phytase, penyerapan total fosfor yang jelas meningkat masing-masing menjadi 48% dan 55%.



Gambar 18 Penyerapan fosfor yang tampak pada anak babi dari diet (4 g P/kg) berdasarkan: a) jagung (64%) dan kedelai (30%), suplementasi 0,5 g P/kg dari monocalciumphosphate, phytase, n.d.; b) kacang ladang (30%), gandum (28%), kacang polong (25%), dan jelai (30%) serta kedelai (22%), 360 PU/kg

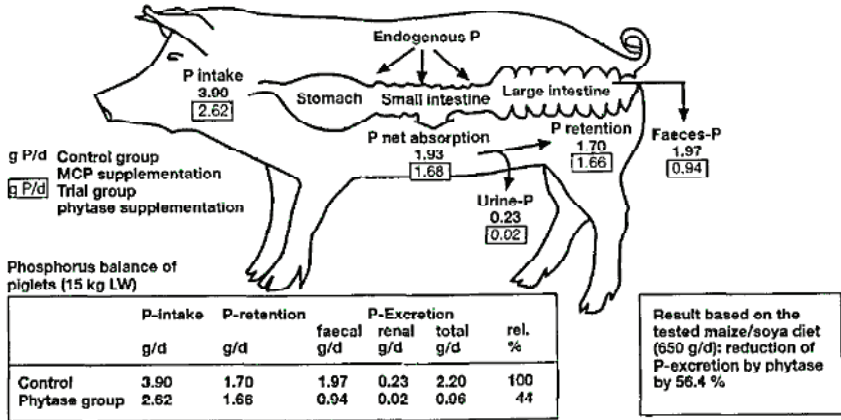
(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997; Pallauf *et al.* 1992a; 1994a, b)

Menurut pengetahuan saat ini, fitase usus tampaknya tidak memainkan atau hanya berperan minimal, dalam hidrolisis fitat dalam monogastrik. Sebaliknya, pemanfaatan fosfat fitat dan bioavailabilitas mineral (baik makro maupun mikro) yang terikat dalam kompleks PA dapat ditingkatkan secara signifikan oleh komponen pakan seperti gandum, triticale, dan gandum.

6.7 Fitase dari Mikroba

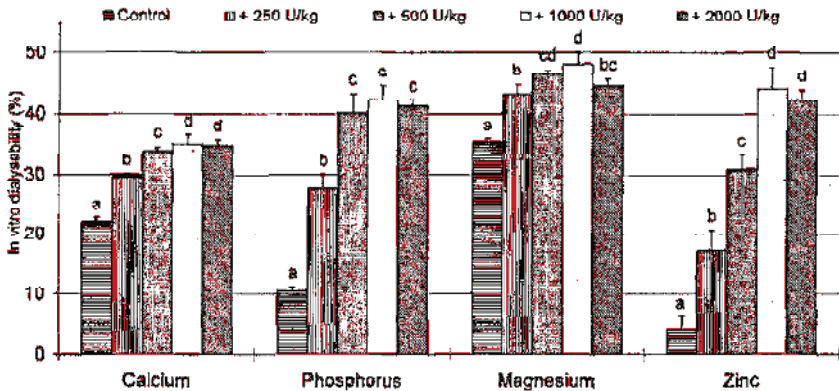
Hasil analisa membuktikan banyaknya bakteri, ragi, dan jamur yang mengandung enzim fitase. Dalam sebuah percobaan menunjukkan bahwa penambahan langsung fitase dari *Aspergillus ficuwn* ke jagung/kedelai mampu menghasilkan peningkatan persentase abu tulang. Di mana hal ini mengindikasikan terjadinya hidrolisis fitat oleh enzim. Hasil studi ini memicu munculnya inovasi teknologi DNA untuk menghasilkan *Aspergillus-phytase* mikroba ekstraseluler yang mampu menghasilkan fitase dalam konsentrasi yang cukup tinggi pada pakan unggas dan babi. Ketika fitase mikroba murni ditambahkan ke diet P rendah untuk ayam pedaging, ketersediaan P meningkat menjadi lebih dari 60% dan jumlah P dalam kotoran menurun 50%. Peningkatan kandungan Ca telah menghasilkan pengaruh negatif pada efisiensi fitase ketika ransumnya kekurangan P, tetapi tidak dalam kasus ransum unggas komersial normal. Namun, level 0,9% Ca dalam ransum broiler tidak boleh dilampaui. Dari persamaan regresi dapat dihitung bahwa 500–1.000 U mikroba fitase setara dengan 1 g P pada ayam pedaging yang diberi pakan jagung-kedelai dan ini terjadi tanpa adanya efek negatif.

Studi *in vivo* pada babi (kisaran berat badan 7–30 kg) telah menunjukkan bahwa suplementasi 500 U fitase per kg pakan dapat menggantikan sekitar 1 g fosfor dari MCP dalam pakan biji-bijian/kedelai. Diet jagung/kedelai mengandung asam fitat pada babi ditunjukkan pada Gambar 19. Fosfor naik dari 44% menjadi 63% dari asupan ketika 0,20% P dari MCP digantikan oleh 1.000 U fitase mikroba per kg diet. Ekskresi P melalui tinja dan urin dapat dikurangi 56% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dapat disimpulkan bahwa suplai fitase yang memadai dalam diet memungkinkan berkurangnya suplementasi Zn serta kandungan fosfor. Mirip dengan hasil untuk babi dan unggas, studi bioavailabilitas *in vitro* (Gambar 20) menunjukkan bahwa terdapat respons yang signifikan hingga 500–1.000 U fitase mikroba ditambahkan ke diet kedelai-kedelai pada Ca, P, Mg, dan Zn setelah *dialisable* simulasi pencernaan peptik dan pankreas.



Gambar 19 Pengurangan ekskresi fosfor harian dari anak babi dengan berat badan 15 kg dan berat badan 445 g setiap hari dengan suplementasi dengan phytase mikroba dalam diet jagung/kedelai (1.000 U/kg) dibandingkan dengan suplementasi 0,20% P sebagai monocalciumphosphate (MCP)

(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997)



Gambar 20 Pengaruh peningkatan kadar phytase mikroba pada ketersediaan hayati kalsium, fosfor, magnesium dan seng secara *in vitro* dari diet jagung-kedelai setelah simulasi pencernaan peptik dan pankreas (uji LSD)

(Sumber: Pallauf dan Rimbach 1997)

Studi lain menunjukkan bahwa vitamin D₃ memiliki pengaruh positif independen terhadap pencernaan fosfor sumber tanaman. Untuk diet babi dengan atau tanpa aktivitas fitase, pencernaan fosfor yang jelas meningkat dalam hubungan yang hampir linier dengan kandungan vitamin D ketika ini ditingkatkan dari 0 hingga 1.500 U/kg. Terlepas dari aktivitas fitase, oleh karena itu perhatian khusus harus diberikan pada suplai vitamin D. Dalam penyelidikan dengan diet jagung/kedelai menunjukkan bahwa kandungan Ca makanan sedang dan terutama tinggi pada anak babi yang disapih sangat mengurangi efisiensi fitase yang ditambahkan. Meningkatkan kandungan vitamin D dalam makanan sebagian dapat mengimbangi efek Ca negatif ini.

Vitamin D, bagaimanapun tidak memiliki efek dalam kasus kandungan Ca rendah. Pemanfaatan total P terbaik dicapai pada 0,7% Ca, setara dengan rasio Ca: P 1,7: 1. Namun, kandungan Ca 0,5% dalam kondisi yang diselidiki tidak cukup untuk memenuhi persyaratan diet. Dalam kasus suplai P suboptimal (0,20–0,31% DM diet) dan kadar Ca sekitar 0,55–0,61% DM, dalam uji komparatif dengan babi yang sedang tumbuh dengan suplemen fitase 750 U per kg diet, pencernaan P nyata dari jagung meningkat dari 18 menjadi 56%, dalam kasus gandum dari 62 menjadi 74%, dan untuk triticale dari 52 hingga 67%. Gandum dan triticale mencerminkan aktivitas fitase murni tinggi yang bertentangan dengan jagung. Dalam kasus defisiensi P pada anak babi serta kelebihan pasokan persyaratan P (0,36%, 0,44%, 0,52%, dan 0,60% P) dengan diet gandum/kedelai/ jelai dan suplementasi 500 U/kg fitase, efek fitase yang paling nyata muncul dalam kondisi pasokan P marginal.

Secara umum, potensi kinerja dan spesialisasi dalam produksi seperti induk yang hamil, induk yang menyusui, babi yang sedang tumbuh, mungkin memiliki pengaruh yang besar terhadap efisiensi suplementasi fitase. Efek terbesar dari fitase mikroba adalah pada induk menyusui dan paling tidak pada pengembangbiakan induk pada awal kehamilan, sedangkan reaksi anak babi dan babi yang tumbuh berada pada kisaran menengah. Meskipun ada bukti dalam literatur keterkaitan antara kandungan fitat dan pencernaan protein, dalam studi berikut menunjukkan tidak adanya efek positif yang signifikan dari suplementasi fitase pada pencernaan protein. Hasil studi mengenai efek penambahan fitase terhadap pencernaan protein penting dalam meningkatkan kualitas mutu pakan. Bagaimanapun studi lanjut masih diperlukan mengidentifikasi dan mengukur faktor-faktor yang berkontribusi terhadap ketersediaan dan kualitas protein dalam pakan. Hingga saat ini yang

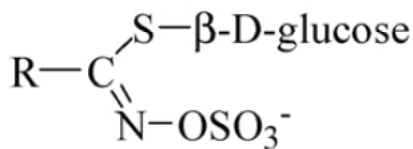
terbukti memiliki pengaruh dominan terhadap kualitas pakan terkait asam fitat, antara lain kelarutan relatif garam fitat, kompleks protein-fitat, serta keberadaan komponen lain dalam pangan.

BAB 7

GLUKOSINOLAT

7.1 Struktur Kimia dan Karakteristik Glukosinolat

Glukosinolat adalah senyawa metabolit sekunder tanaman yang mengandung komponen sulfur, umumnya terdapat pada tanaman kubis-kubisan atau brasika. Lebih dari 120 jenis glukosinolat telah berhasil diidentifikasi, di mana semuanya memiliki struktur dasar yang sama yakni pada struktur β -tioglukosa (Gambar 21). Glukosinolat memiliki rantai cabang yang diderivasi dari asam amino, yang dapat dibagi menjadi tiga kelompok yakni alifatik, aromatik, dan indolil. Perbedaan sifat kimia dan aktivitas biologis di antara berbagai jenis glukosinolat sangat ditentukan oleh struktur rantai cabang yang dimilikinya.



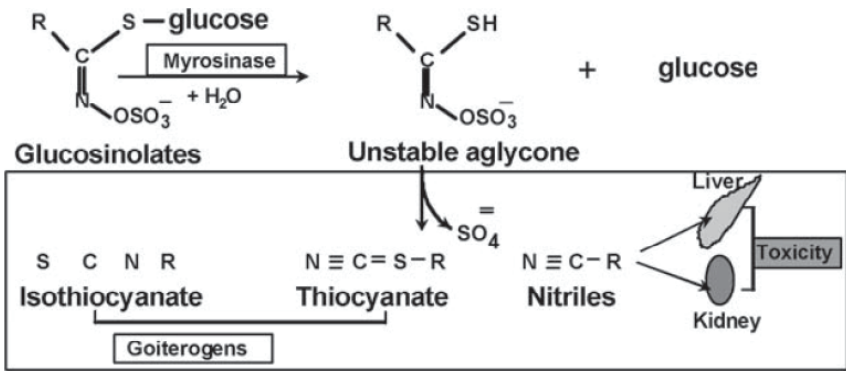
Gambar 21 Struktur umum glukosinolat

(Sumber: Tripathi dan Mishra 2007)

Glukosinolat terdapat pada tanaman brasika, pepaya, dan kelor. Bahan pakan lain yang tinggi akan glukosinolat adalah *rapeseed* yang membatasi penggunaannya sebagai pakan. Bungkil *rapeseed* (biji *rapeseed* yang sudah diekstraksi kandungan minyaknya) mengandung tiga jenis glukosinolat utama dalam konsentrasi tinggi yakni progoitrin (epiprogoitrin), gluconapin, dan glucobrassicinapin. Kandungan glukosinolat pada bungkil *rapeseed* sangat bervariasi tergantung pada varietas dan asal daerah/negara. Pada tahun

1980-an, bungkil *rapeseed* mengandung glukosinolat pada rentang 125–207 $\mu\text{mol/g}$ bahan kering (rataan 166 $\mu\text{mol/g}$). Teknik rekayasa genetika kemudian berhasil menurunkan kandungan glukosinolat pada bungkil *rapeseed* menjadi pada kisaran 9–69 $\mu\text{mol/g}$ bahan kering (rataan 38 $\mu\text{mol/g}$). Kini, sejumlah varietas bungkil *rapeseed* dapat mengandung glukosinolat kurang dari 25 $\mu\text{mol/g}$.

Keberadaan glukosinolat pada tanaman selalu disertai dengan keberadaan enzim tioglukosidase, yakni mirosinase (tioglukosida glukohidrolase) yang mengkatalisis pemecahan ikatan tioglukosida pada glukosinolat. Pada tanaman, enzim dan substrat berada pada kompartemen yang terpisah untuk menghindari terjadinya autotoksisitas. Ketika sel tanaman rusak, terjadi kontak antara enzim dan substrat sehingga terjadi reaksi hidrolisis yang memecah ikatan tioglukosida. Produk dari hidrolisis tersebut berupa glukosa dan aglikon, di mana kemudian aglikon akan secara spontan terdegradasi menjadi sejumlah metabolit yang bersifat toksik yakni isotiosianat, tiosianat, oxazolidition, dan nitril (Gambar 22).



Gambar 22 Mekanisme aksi glukosinolat

(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

7.2 Metabolisme Glukosinolat dan Efek Biologis

Ternak yang mengonsumsi glukosinolat dalam konsentrasi yang signifikan dapat mengganggu kesehatannya serta menurun produktivitasnya. Secara umum ternak nonruminansia lebih sensitif terhadap glukosinolat dibandingkan dengan ternak ruminansia. Selain itu, ternak yang muda juga lebih rentan terhadap glukosinolat dibandingkan ternak yang lebih dewasa. Glukosinolat sendiri sebetulnya merupakan molekul yang tidak aktif secara biologis, namun produk degradasinya (isotiosianat, tiosianat, oxazolidion, dan nitril) yang aktif dan menyebabkan sejumlah efek negatif bagi ternak.

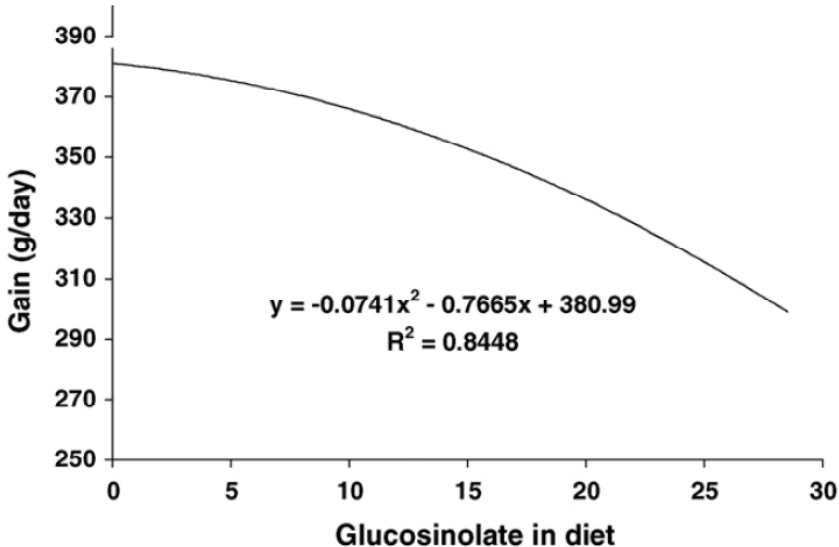
Pada konsentrasi rendah, produk hidrolisis dari glukosinolat memiliki sifat antioksidan dan antikanker. Namun demikian, pada konsentrasi tinggi glukosinolat bersifat goiter, menyebabkan pembesaran kelenjar tiroid, mengganggu sistem endokrin tubuh, menghambat pertumbuhan, dan menurunkan produktivitas ternak. Pada kondisi yang parah, glukosinolat bahkan dapat menyebabkan pendarahan hati dan meningkatkan mortalitas ternak. Menurunnya produktivitas ternak oleh glukosinolat diawali dengan menurunnya konsumsi ransum karena glukosinolat berasosiasi dengan rasanya yang pahit. Ternak yang mengonsumsi bungkil *rapeseed* memiliki ciri khas yakni menurunnya konsumsi ransum dikarenakan kandungan glukosinolatnya yang tinggi.

Pada tikus, level glukosinolat 0,5 $\mu\text{mol/g}$ dianggap sebagai ambang batas tanpa efek negatif. Pada level glukosinolat yang lebih tinggi, sejumlah penelitian membuktikan bahwa glukosinolat menurunkan konsumsi ransum, menghambat pertumbuhan, serta meningkatkan bobot organ tiroid.

Pada babi, level glukosinolat 1,0 $\mu\text{mol/g}$ tidak menimbulkan efek negatif terhadap performa. Level di atas nilai tersebut dapat menurunkan konsumsi ransum dan pertumbuhan. Apabila glukosinolat melebihi 7 $\mu\text{mol/g}$ maka terjadi defisiensi iodium, meningkatnya level T3 dan T4 di serum darah, menginduksi hipertropi liver dan tiroid, menurunkan level Zn di tulang dan serum, serta menurunkan alkalin fosfatase di serum. Suplementasi iodium dalam ransum babi dapat mengurangi efek negatif yang disebabkan oleh glukosinolat.

Pada unggas, permasalahan toksisitas glukosinolat lebih nyata terjadi pada ayam petelur dibandingkan dengan ayam broiler. Secara umum, level glukosinolat 2,0 $\mu\text{mol/g}$ sudah dapat menimbulkan efek negatif pada unggas. Efek negatif yang muncul berupa menurunnya konsumsi pakan, pertumbuhan yang terhambat, serta meningkatnya mortalitas.

Pada ruminansia, toleransi terhadap glukosinolat lebih tinggi dikarenakan keberadaan mikroba rumen yang mampu mentransformasi glukosinolat dan produk derivatifnya. Namun demikian, konsumsi glukosinolat pada jangka waktu yang panjang menimbulkan goitrogen, meningkatnya level tiosianat di plasma, menurunnya level tiroksin, serta mengganggu fertilitas. Level glukosinolat 10 $\mu\text{mol/g}$ masih belum berdampak negatif terhadap pertumbuhan dan konversi pakan sapi pedaging. Seperti halnya pada sapi pedaging, domba yang mengonsumsi glukosinolat lebih rendah dari 10 $\mu\text{mol/g}$ masih relatif belum begitu terkena dampak negatif. Namun demikian pada level di atas 10 $\mu\text{mol/g}$ menyebabkan penurunan produktivitas yang signifikan (Gambar 23) serta mengganggu fertilitas dan reproduksi domba.



Gambar 23 Hubungan antara kandungan glukosinolat di pakan ($\mu\text{mol/g}$) dan pertambahan bobot badan domba

(Sumber: Tripathi dan Mishra 2007)

7.3 Detoksifikasi Glukosinolat

Detoksifikasi glukosinolat bertujuan untuk menghilangkan atau setidaknya mengurangi kandungan glukosinolat pada bahan dan untuk meminimumkan efek negatifnya terhadap kesehatan dan produksi ternak. Strategi detoksifikasi glukosinolat melibatkan sejumlah perlakuan atau pengolahan pakan sebelum pakan tersebut diberikan pada ternak. Perlakuan yang dapat diterapkan meliputi irradiasi *microwave*, ekstrusi, perendaman pada larutan mineral tertentu, fermentasi, pemanasan, dan suplementasi.

Irradiasi *microwave* pada 2.450 MHz selama 2,5 menit dapat menginaktivasi enzim mirosinase yang terdapat pada bungkil *rapeseed* serta merusak struktur kimia glukosinolat. Kerusakan glukosinolat dengan perlakuan ini berkisar antara 70–254 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$. Kerusakan glukosinolat semakin besar dengan semakin tingginya kadar air pada bahan serta semakin lamanya periode perlakuan irradiasi *microwave*.

Perlakuan ekstrusi lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosinolat, yakni mampu menurunkannya pada kisaran 193–428 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$. Lebih jauh, teknik ekstrusi basah yang diterapkan pada bungkil *rapeseed* dengan penambahan amonia (150°C, 200 rpm, 2% amonia) dapat menurunkan kandungan glukosinolat hingga 670 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$.

Perendaman bungkil *rapeseed* pada larutan tembaga sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dapat secara efektif mengurangi kadar glukosinolat hingga 900 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$. Ketika bungkil *rapeseed* yang sudah diberi perlakuan tersebut diberikan pada ayam broiler dan babi maka terjadi peningkatan pertumbuhan, fungsi tiroid, status iodium, level Zn serum, dan aktivitas enzim alkalin fosfatase dibandingkan dengan kontrol (bungkil *rapeseed* tanpa perlakuan). Diduga bahwa perlakuan tembaga sulfat mengubah reaksi degradasi glukosinolat menjadi metabolit yang tidak berbahaya atau setidaknya level toksiknya lebih rendah bagi ternak seperti senyawa amina berupa alilamina atau tiourea.

Fermentasi dengan menggunakan jenis mikroorganisme tertentu juga dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk detoksifikasi glukosinolat. Fermentasi bungkil *rapeseed* dengan kapang *Rhizopus oligosporus* dan *Aspergillus* sp. pada suhu 25°C selama 10 hari berhasil menginaktivasi enzim mirosinase dan menurunkan kadar glukosinolat sebesar 431 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$. Dekomposisi

glukosinolat lebih tinggi dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Diduga bahwa komponen glukosa dan sulfur yang ada pada molekul glukosinolat dimanfaatkan oleh mikroba untuk hidupnya.

Perlakuan pemanasan, baik itu pemanasan basah maupun pemanasan kering dapat dilakukan untuk detoksifikasi glukosinolat. Secara umum pemanasan basah apalagi dengan menggunakan tekanan lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosinolat dibandingkan dengan pemanasan kering. Reduksi glukosinolat melalui proses pemanasan berkisar antara 630–950 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$. Dibandingkan dengan kontrol, bungkil *rapeseed* yang telah diberikan perlakuan panas dapat meningkatkan produksi susu dan efisiensi utilisasi nitrogen pada sapi perah laktasi. Namun demikian, perlakuan pemanasan pada suhu tinggi (lebih dari 110°C) dan waktu yang lama dapat menurunkan utilisasi protein pada ternak monogastrik. Hal yang berbeda terjadi pada ternak ruminansia di mana kondisi tersebut meningkatkan proporsi protein yang tidak terdegradasi di rumen (*undegradable* atau *bypass*) sehingga dapat bermanfaat untuk meningkatkan suplai *metabolizable protein*, yakni protein yang dapat dicerna dan diserap di usus halus.

Proses perendaman juga dapat menurunkan kadar glukosinolat pada bahan. Waktu perendaman yang optimal untuk menurunkan kadar glukosinolat adalah sekitar 6–8 jam. Adapun rekomendasi proporsi bahan pakan dan air untuk perlakuan perendaman ini adalah 1:5 (bobot bahan per volume air). Penggunaan braskika yang sudah direndam dalam air sebagai sumber protein bagi domba dapat meningkatkan utilisasi nutrien dan pertumbuhan domba. Kelebihan metode perendaman dalam air adalah kemudahan dalam prosesnya serta sangat ekonomis. Namun kelemahannya adalah terjadinya kehilangan bahan kering (termasuk komponen nutrien) yang larut dalam air.

Pada ransum yang tinggi glukosinolat, suplementasi iodium (I) dan tembaga (Cu) dapat mengurangi efek negatif yang ditimbulkan oleh glukosinolat. Pakan yang mengandung 2 $\mu\text{mol}/\text{g}$ glukosinolat dapat dinetralisir pengaruh negatifnya dengan suplementasi 1.000 μg iodium/kg. Suplementasi Cu dan I dapat menetralkan glukosinolat sehingga meningkatkan performa ternak karena Cu merupakan elemen ergotropik, sedangkan I merupakan komponen dari hormon tiroid. Suplementasi iodium mengkompensasi senyawa goitrogen yang mengurangi ketersediaan iodium bagi ternak, sedangkan Cu mengubah reaksi kimia dari degradasi glukosinolat sehingga menghasilkan produk hidrolisis yang lebih aman sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya di atas.

BAB 8

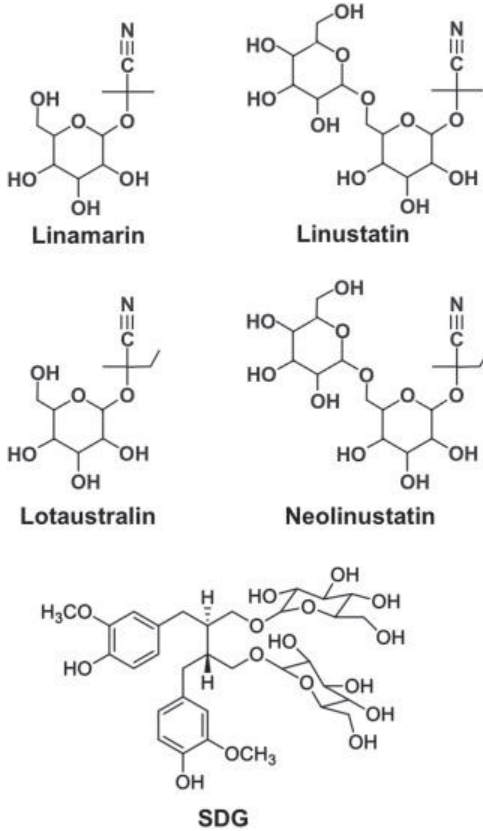
GLUKOSIDA SIANOGENIK (SIANOGEN)

8.1 Struktur Kimia dan Karakteristik Glukosida Sianogenik

Glukosida sianogenik atau sering disebut sianogen merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder tanaman yang disintesis dari asam amino. Adapun sianida (hidrogen sianida, HCN) merupakan produk hidrolisis dari glukosida sianogenik. Glukosida sianogenik terdiri atas glikosida dan aglikon yang mengandung sianida. Aglikon dapat dibagi menjadi dua jenis, yakni komponen alifatik dan aromatik. Komponen gula yang terdapat pada glukosida sianogenik umumnya berupa glukosa, namun bisa juga jenis gula lainnya seperti gentibiosa, primaverosa, dan sebagainya. Glukosida sianogenik berasa pahit apabila dikonsumsi. Sejumlah tanaman mengandung glukosida sianogenik dalam konsentrasi yang tinggi, contohnya adalah sejumlah varietas singkong yang dapat mengandung lebih dari 1 g HCN/kg bobot basah. Tanaman singkong yang masih muda umumnya mengandung glukosida sianogenik yang lebih tinggi dibandingkan tanaman yang sudah tua. Tanaman lain yang mengandung glukosida sianogenik adalah ubi jalar, sorgum, bambu muda, daun bambu, tebu, biji almond, dan biji karet.

Sejumlah glukosida sianogenik yang umum terdapat pada tanaman di antaranya adalah linamarin di singkong, dhurrin di sorgum, amigdalin di rosaceae, lotaustralin di *Lotus corniculatus*, linustatin dan neolinustatin di *flaxseed* (Gambar 24). Jenis glukosida sianogenik lainnya adalah prunasin, sambunigrin, vicianin, aciapetalin, triglochinin, deidaclin, gynocardin, zierin, dan proteacin. Hal ini mengindikasikan bahwa jenis glukosida sianogenik

sangat beragam di antara berbagai spesies tanaman. Kandungannya pun sangat bervariasi di antara varietas tanaman dalam spesies yang sama. Keragaman jenis dan kandungan dari glukosida sianogenik dimungkinkan karena sintesisnya bergantung pada genetik dari masing-masing spesies dan varietas tanaman.



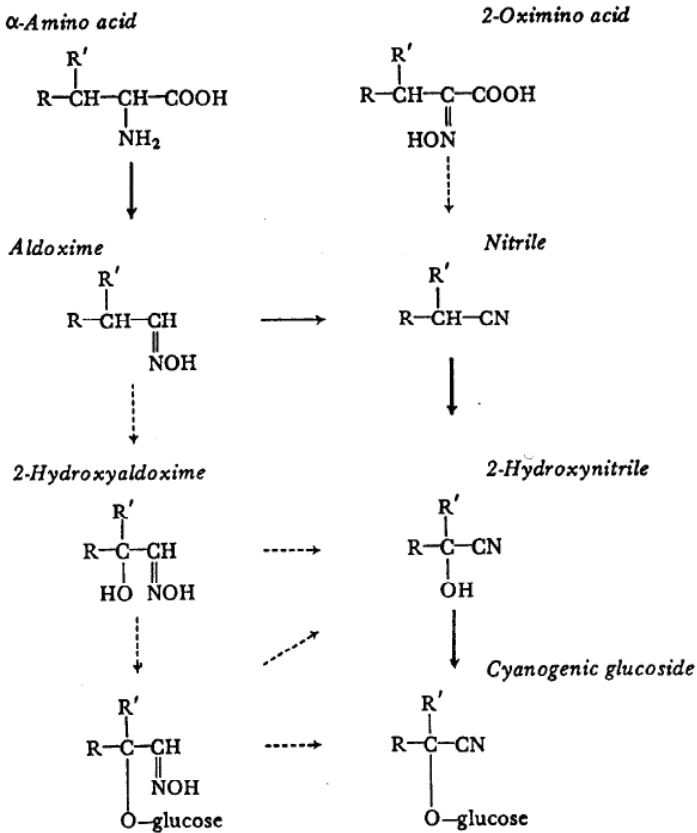
Gambar 24 Struktur kimia sejumlah glukosida sianogenik

(Sumber: Shim *et al.* 2014)

8.2 Biosintesis dan Hidrolisis Glukosida Sianogenik pada Tanaman

Glukosida sianogenik pada tanaman disintesis dari asam amino tertentu sebagai prekursornya. Sejumlah asam amino prekursor glukosida sianogenik di antaranya adalah tirosin (untuk dhurrin), valin (untuk linamarin), isoleusin

(untuk lotaustrolin), dan fenilalanin (untuk prunasin). Jalur biosintesis glukosida sianogenik dari asam amino adalah sebagai berikut: (1) hidroksilasi asam amino menjadi *N*-hydroxylamino acid, (2) konversi *N*-hydroxylamino acid menjadi aldoxime, (3) konversi menjadi nitril, (4) hidroksilasi nitril menjadi α -hydroxynitrile, dan (5) glukosilasi α -hydroxynitrile menjadi glukosida sianogenik (Gambar 25).



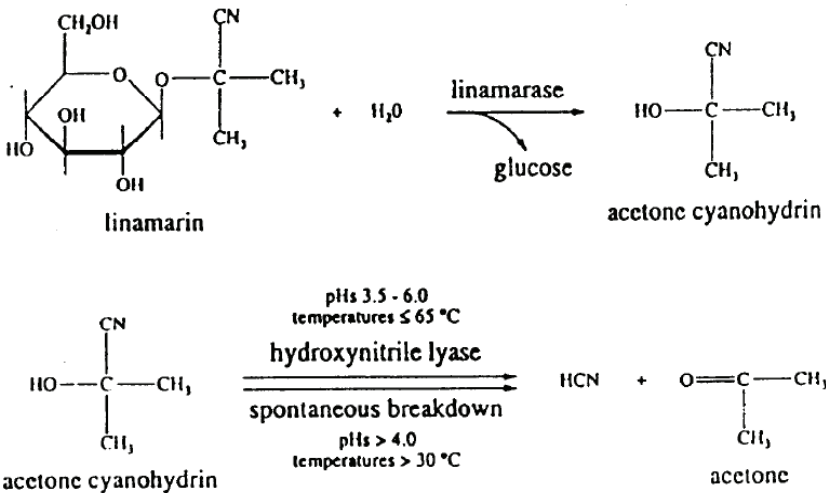
Gambar 25 Jalur biosintesis glukosida sianogenik pada tanaman

(Sumber: Vetter 2000)

Hidrolisis glukosida sianogenik merupakan suatu proses enzimatik di mana senyawa tersebut mengalami hidrolisis sehingga melepaskan HCN dan komponen lainnya. Glukosida sianogenik dan enzim penghidrolisisnya berada pada kompartemen yang berbeda di tanaman. Hidrolisis hanya akan terjadi

ketika glukosida sianogenik dan enzim penghidrolisisnya melakukan kontak. Oleh karena itu, proses hidrolisis tidak terjadi pada tanaman yang masih utuh. Ketika tanaman mengalami kerusakan secara fisik misalnya karena dipanen, dipotong, digiling, ataupun dengan metode lainnya, maka terjadi kontak antara glukosida sianogenik dan enzim hidrolisis sehingga dihasilkan HCN bebas.

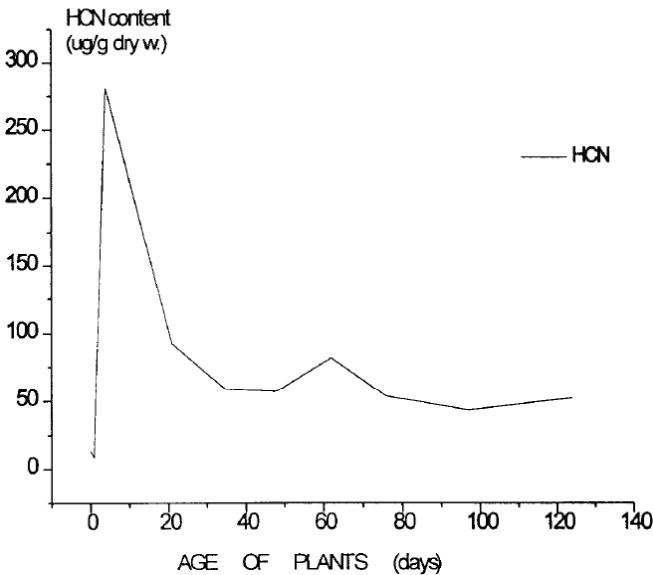
Proses pembentukan sianida (HCN) terdiri atas dua tahap, yakni: (1) deglikosilasi dari glukosida sianogenik untuk menghasilkan glukosa dan aseton sianohidrin, dan (2) degradasi aseton sianohidrin menjadi HCN dan aseton. Enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pada tahap 1 dinamakan β -glukosidase, sedangkan enzim pada tahap 2 dinamakan α -hidroksinitril liase. Pada linamarin, glukosida sianogenik yang umum terdapat pada singkong, enzim β -glukosidase yang mengkatalisis reaksi tahap 1 secara spesifik dinamakan linamarase (Gambar 26). Adapun reaksi tahap 2, di samping dapat dikatalisis oleh enzim hidroksinitril liase, dapat juga berlangsung secara spontan tanpa katalisis enzim pada suhu di atas 35°C atau pH di atas 4,0. Oleh karena itu reaksi tahap 1 yang dikatalisis oleh enzim β -glukosidase merupakan pembatas utama terjadinya keseluruhan reaksi hidrolisis pada glukosida sianogenik.



Gambar 26 Hidrolisis bertahap linamarin untuk menghasilkan HCN dan aseton

(Sumber: Vetter 2000)

Biosintesis glukosida sianogenik terjadi sangat intensif pada fase awal pertumbuhan tanaman. Inilah yang menjelaskan mengapa tanaman muda mengandung HCN lebih tinggi dibandingkan tanaman yang relatif lebih tua. Setelah itu HCN menurun secara gradual dikarenakan perkembangan vegetatif tanaman di mana intensitas fotosintesis pada tanaman meningkat. Setelah perkembangan vegetatif mulai mencapai fase stagnan atau konstan, maka kadar HCN pada tanaman juga stabil (Gambar 27).



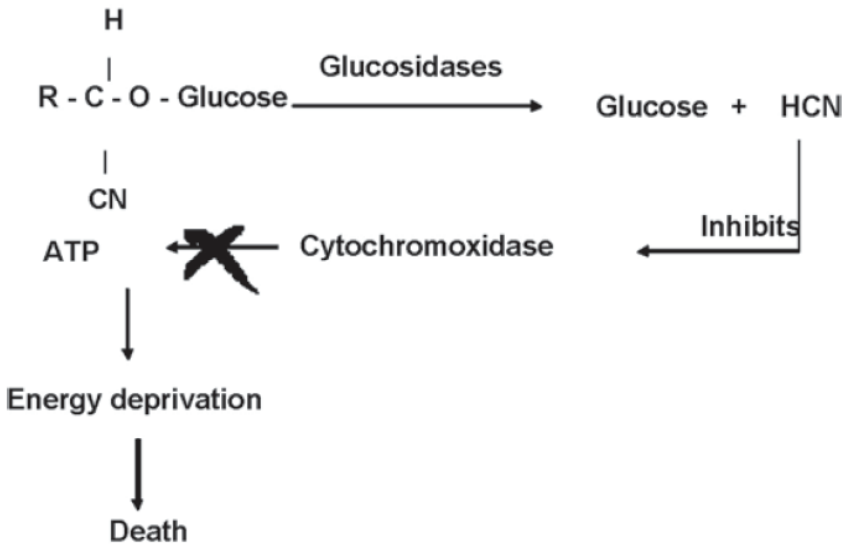
Gambar 27 Dinamika kandungan HCN pada sorgum

(Sumber: Vetter 2000)

8.3 Efek Biologis Glukosida Sianogenik

Glukosida sianogenik dalam bentuk utuhnya tidak beracun, yang beracun adalah sianida (HCN) yang terbebas setelah hidrolisis enzim atau asam. Dosis HCN yang dapat mengakibatkan kematian pada manusia berkisar antara 0,5–3,5 mg/kg bobot badan, dengan waktu yang sangat singkat hanya beberapa menit saja. Sianida pada dosis tinggi dapat menghambat kerja enzim sitokrom oksidase, suatu enzim penting pada siklus asam trikarboksilat untuk produksi ATP (Gambar 28). Hal ini secara keseluruhan menghambat

proses respirasi seluler. Pada kondisi demikian, baik hewan maupun manusia mengalami kekurangan energi dan pada kondisi yang akut bahkan dapat menyebabkan kematian. Ternak ruminansia lebih rentan terhadap keracunan sianida dibandingkan dengan nonruminansia. Diduga bahwa pH yang rendah pada monogastrik menginaktivasi enzim β -glukosidase yang bertanggung jawab terhadap katalisis glukosida sianogenik menjadi HCN. Di samping itu, sianida dapat dikonversi menjadi tiosianat yang kemudian meningkatkan pembentukan nitrosamin yang diduga menyebabkan kejadian tumor pada manusia.



Gambar 28 Mekanisme aksi glukosida sianogenik

(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

Pada konsentrasi rendah, sianida dapat didetoksifikasi di organ hati, ginjal, dan tiroid khususnya pada ternak monogastrik. Enzim rhodanase yang terdapat pada jaringan tubuh hewan memiliki kemampuan mendetoksifikasi sianida melalui konjugasi dengan sulfur untuk membentuk tiosianat. Tiosianat sendiri dapat menyebabkan goiter.

Dosis HCN yang dapat menyebabkan kematian pada ternak domba dan sapi yakni 2–4 mg/kg bobot badan. Batasan maksimum kandungan HCN yang diperbolehkan pada singkong yakni 100 mg HCN/kg singkong. Adapun

batasan yang diperbolehkan untuk hewan monogastrik adalah 50 mg HCN/kg pakan kecuali untuk unggas. Unggas lebih rentan terhadap keracunan HCN sehingga batasan maksimumnya lebih rendah yakni 10 mg HCN/kg pakan. Untuk konsumsi manusia, kandungan HCN pada singkong tidak boleh lebih dari 10 mg HCN/kg singkong.

8.4 Detoksifikasi glukosida sianogenik

Efek toksik dari HCN umumnya terjadi pada hewan dan manusia yang mengonsumsi bahan tinggi glukosida sianogenik yang tidak mengalami proses pengolahan atau proses pengolahan tidak sempurna. Pengolahan melalui sejumlah teknik merupakan cara efektif dalam menghilangkan atau menurunkan glukosida sianogenik yang terdapat pada pakan sehingga dihasilkan pakan yang aman untuk dikonsumsi. Sejumlah teknik pengolahan yang dapat secara efektif menurunkan kadar sianida adalah pengeringan, perebusan, perendaman, pengupasan kulit, ekstraksi pati, dan fermentasi (silase).

Pengeringan dapat dilakukan untuk mengeliminasi sianida sekaligus untuk memperpanjang masa simpan dari singkong yang tinggi akan glukosida sianogenik, khususnya dari varietas singkong yang pahit. Pengeringan dapat berupa pengeringan matahari atau secara artifisial menggunakan oven. Sebelum dilakukan pengeringan, singkong dipotong-potong terlebih dahulu menjadi ukuran yang lebih kecil. Kondisi ini menyebabkan terjadinya kontak antara linamarin dan enzim linamarase yang melepaskan sianida. Sianogen dapat dihilangkan atau direduksi melalui proses pengeringan karena volatilisasi sianida yang terbentuk setelah kontak antara glukosida sianogenik dan enzimnya. Secara umum lamanya pengeringan sangat berpengaruh terhadap kadar sianida, semakin lama dikeringkan maka kandungan sianidanya semakin sedikit. Pengeringan matahari selama 24 jam dapat menurunkan kadar sianida sebesar 80%. Pengeringan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam dapat menurunkan kadar sianida sekitar 85%. Penurunan kadar sianida semakin tinggi dengan semakin tingginya suhu pengeringan, namun perlu diperhatikan juga efeknya terhadap kandungan nutrisi, khususnya yang mudah rusak pada suhu tinggi.

Perebusan merupakan teknik pengolahan lain dari singkong dalam rangka menurunkan kadar sianida yang terdapat di dalamnya. Seperti halnya pada

pengeringan, singkong yang akan direbus perlu dipotong-potong terlebih dahulu menjadi ukuran yang lebih kecil. Efektivitas penurunan kadar sianida pada singkong melalui proses perebusan bergantung pada lamanya waktu perebusan, volume air yang digunakan, serta ukuran potongan singkong. Perebusan selama 5 menit dapat mengurangi kadar sianida sebesar 56%, sedangkan perebusan selama 30 menit mengurangi sianida sebesar 94%. Sianida yang bebas jauh lebih mudah berkurang dibandingkan dengan sianida yang masih terikat melalui proses perebusan. Penting sebagai catatan bahwa air hasil perebusan singkong, khususnya dari varietas yang pahit (tinggi glukosida sianogenik) perlu untuk dibuang ke tempat yang aman karena mengandung kadar sianida yang tinggi.

Proses perendaman atau pencucian singkong tanpa disertai suhu tinggi juga dapat digunakan untuk menurunkan kadar sianida secara signifikan. Perbedaan dengan teknik perebusan terletak pada waktu yang diperlukan untuk menurunkan kandungan sianida hingga level yang aman untuk dikonsumsi. Perendaman atau pencucian membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan perebusan karena suhu prosesnya yang jauh lebih rendah. Perendaman singkong selama 1 hari dapat menurunkan kadar sianida dari 108 mg/kg menjadi 59,5 mg/kg. Apabila perendaman dilakukan selama 5 hari, maka kadar sianidanya menjadi hanya 2,9 mg/kg.

Pengelupasan kulit merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar sianida pada singkong. Secara umum bagian kulit ini mengandung jauh lebih banyak sianida dibandingkan dengan umbi bagian dalam. Proses pengelupasan kulit ini dapat menurunkan sekitar 50% sianida pada singkong.

Proses ekstraksi pati dari singkong terdiri atas tiga tahap, yakni penggilingan singkong yang sudah dicuci dalam kondisi basah, dilanjutkan dengan pencucian pati yang didapatkan, serta sedimentasi dan pengeringan pati. Melalui proses yang demikian, sejumlah besar glukosida sianogenik berubah menjadi sianida bebas. Sedimen basah yang terbentuk sudah mengandung sianida yang rendah, yakni berkisar antara 14 hingga 31 mg/kg berat kering. Setelah dikeringkan menjadi pati, maka kandungan sianidanya menjadi lebih rendah lagi yakni 1,2–4,0 mg/kg.

Ensilase atau fermentasi dari singkong merupakan teknik preservasi yang dapat mempertahankan kualitas nutrisi dan meningkatkan umur simpan dari

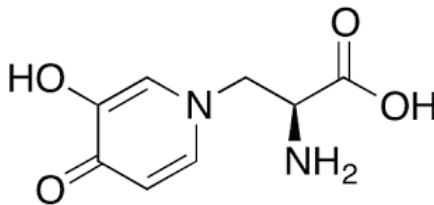
singkong sehingga dapat digunakan pada kondisi suplai pakan yang sedikit. Ensilase singkong dapat menurunkan kadar sianida dari 85 mg/kg menjadi 2,6 mg/kg atau sekitar 97%. Penurunan sianida diduga karena terjadinya *leaching* glukosida dan sianida bebas melalui efluen silase yang terbentuk. Hal ini terjadi khususnya pada beberapa hari awal ensilase. Ketika pH sudah mencapai 4,3–4,5, maka aktivitas enzim linamarase menjadi terhambat pada kondisi asam tersebut.

BAB 9

MIMOSIN

9.1 Struktur dan Karakteristik Mimosin

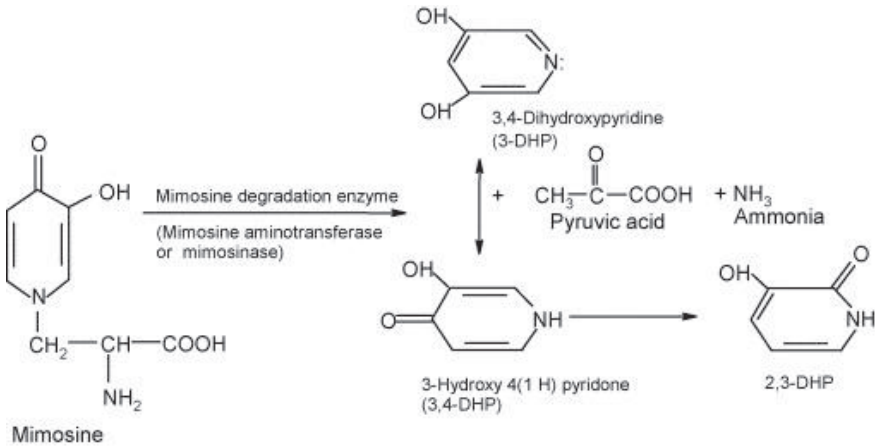
Mimosin merupakan asam amino bukan protein yakni β -(3-hidroksi-4-piridon-1-yl)-L-alanin, dan secara struktur kimia serupa dengan asam amino tirosin (Gambar 29). Senyawa ini pertama kali diisolasi dari tanaman *Mimosa pudica* sehingga dinamakan mimosin. Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) merupakan hijauan khas yang tinggi akan kandungan mimosin. Daun lamtoro mengandung 2–10% mimosin (basis bahan kering), sedangkan biji lamtoro mengandung 2–5% mimosin. Kandungan mimosin berbeda antara daun yang muda dan daun tua; umumnya daun muda mengandung mimosin dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Daun tua mengandung 1–2% mimosin, sedangkan daun muda mengandung 3–5% mimosin. Bahkan pada daun yang sangat muda, kandungan mimosin dapat mencapai 12%.



Gambar 29 Struktur kimia mimosin

Keberadaan mimosin pada lamtoro membatasi penggunaan hijauan tersebut sebagai pakan karena mimosin bersifat toksik pada berbagai spesies ternak, baik hewan monogastrik maupun ruminansia. Mimosin dapat dikonversi menjadi 3-hidroksi-4-(1H)-piridon (3,4-DHP) dan 2,3-dihidroksipiridin (2,3-DHP) oleh mikroba rumen (Gambar 30). Sejumlah enzim pada tanaman juga dapat

mengkatalisis konversi mimosin menjadi 3,4-DHP dan 2,3-DHP. Senyawa 3,4-DHP dapat diekskresikan melalui urin dalam bentuk bebas maupun bentuk terkonjugasi khususnya sebagai glukuronida.

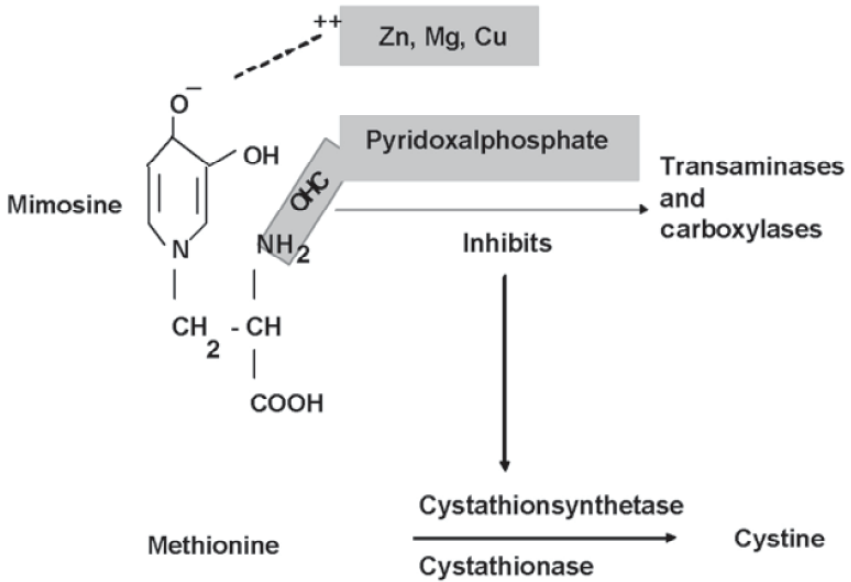


Gambar 30 Konversi mimosin menjadi 3-hidroksi-4-(1H)-piridon (3,4-DHP) dan 2,3-dihidroksipiridin (2,3-DHP)

9.2 Efek Biologis Mimosin

Konsumsi mimosin pada konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan rontoknya rambut, goiter, gangguan reproduksi, kerusakan sel epitel, menurunkan konsumsi pakan, dan bahkan menyebabkan kematian baik pada ternak ruminansia maupun monogastrik. Efek toksik mimosin pada ternak sangat bergantung pada konsentrasi mimosin pada bahan pakan serta lamanya ternak mengonsumsi pakan tinggi mimosin tersebut.

Mekanisme aksi biologis dari mimosin ditampilkan pada Gambar 31. Mimosin dapat mengikat sejumlah mineral (seperti Zn, Mg, dan Cu) dan piridoksal fosfat yang diperlukan untuk aktivitas berbagai enzim, baik sebagai komponen kofaktor ataupun koenzim. Pengikatan ini menghambat aktivitas enzim tirosin dekarboksilase, tirosinase, dan ribonukleotida reduktase yang kemudian menghambat konversi metionin menjadi sistin. Sistin sendiri merupakan komponen asam amino penting pada rambut/wool. Ketika konversi sistin dari metionin terhambat, maka sintesis rambut/wool mengalami hambatan sehingga pada akhirnya menyebabkan kerontokan bulu atau rambut pada ternak yang mengonsumsi mimosin dalam jumlah yang signifikan.

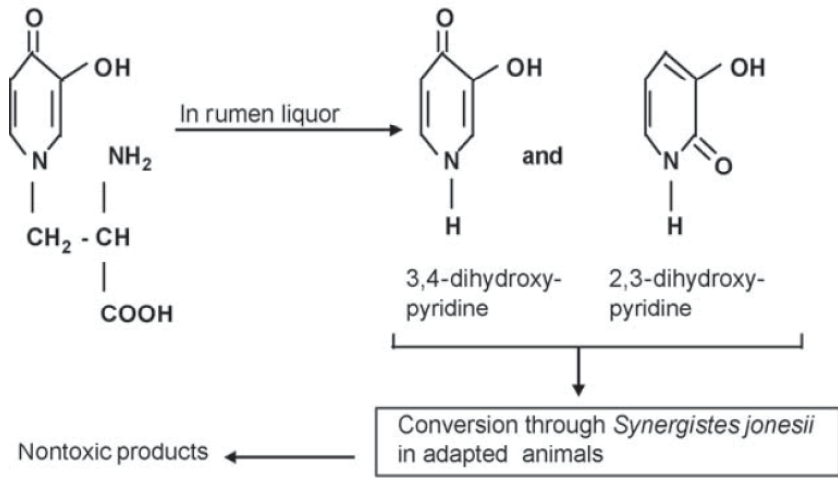


Gambar 31 Mekanisme aksi mimosin

(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

9.3 Adaptasi dan Detoksifikasi Mimosin

Pada awalnya, keracunan mimosin terjadi pada ternak ruminansia di negara Australia, Papua Nugini, beberapa negara Afrika, dan negara bagian Florida di USA. Namun demikian, keracunan ini tidak terjadi pada ternak ruminansia di sejumlah negara, khususnya yang berada di daerah tropis. Setelah melalui sejumlah rangkaian penelitian, ternak yang dapat beradaptasi terhadap lamtoro yang mengandung mimosin memiliki mikroba yang terdapat pada rumennya, di mana mikroba tersebut mampu memetabolisasi mimosin dan DHP menjadi sejumlah senyawa yang tidak toksik. Mikroba tersebut kemudian dinamakan *Synergistes jonesii* (Gambar 32). Transfer cairan rumen dari ternak ruminansia di Indonesia dan Hawaii yang mengandung *Synergistes jonesii* pada ternak ruminansia di Australia (melalui proses inokulasi) dapat menghilangkan permasalahan keracunan mimosin pada lamtoro.



Gambar 32 Bakteri *Synergistes jonesii* yang mampu mengkonversi mimosin dan DHP menjadi senyawa nontoksik di rumen

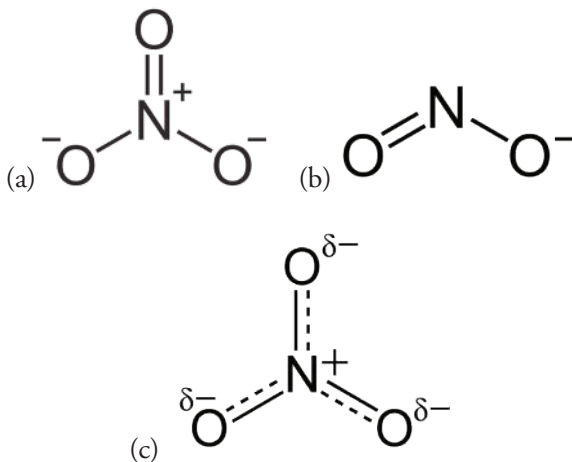
(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

BAB 10

NITRAT DAN NITRIT

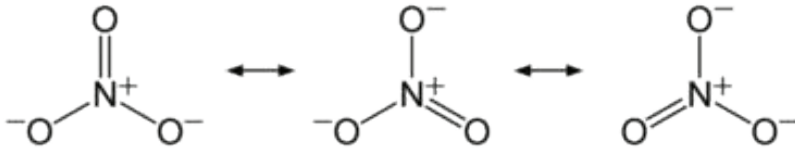
10.1 Karakteristik Kimia Nitrat dan Nitrit

Nitrat merupakan ion poliatomik dengan rumus molekul NO_3^- yang dapat direduksi menjadi nitrit (NO_2^-) (Gambar 33 a dan b). Berat molekul nitrat berkisar 62,0049 g/mol. Molekul ini hadir dalam bentuk anion yang bermuatan total negatif sebesar -1. Anion nitrat ini merupakan basa terkonjugasi dari asam nitrat, yang terdiri dari satu atom nitrogen di bagian tengah dan dikelilingi oleh tiga atom oksigen dengan jenis ikatan yang identik. Muatan -1 berasal dari gabungan tiga oksigen yang masing-masing bermuatan $-2/3$ dan nitrogen yang bermuatan +1 (Gambar 33).



Gambar 33 Struktur kimia (a) nitrat, (b) nitrit, dan (c) muatan ionik pada nitrat

Dengan struktur ion serta kombinasi ikatan tunggal dan ganda menghasilkan struktur yang memiliki kemampuan beresonansi (Gambar 34). Pada suhu dan tekanan udara normal, nitrat bersifat larut dalam air.



Gambar 34 Anion nitrat yang beresonansi menjadi tiga macam struktur molekul yang berbeda

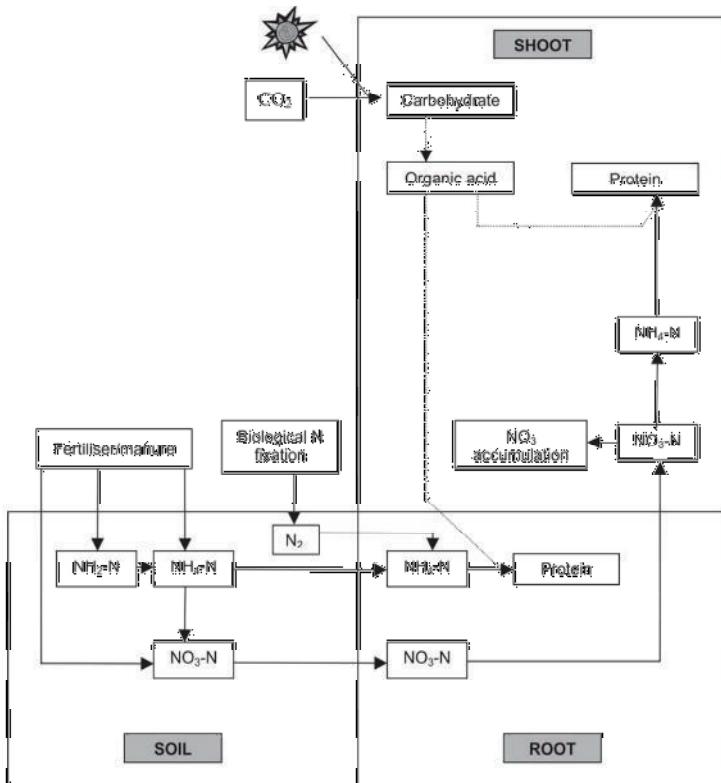
10.2 Sumber Nitrat dan Nitrit

Meskipun akar tanaman mengambil nitrogen (N) baik sebagai ion amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-), dalam sebagian besar kondisi tanah penyerapan NO_3^- mendominasi proses ini. Setelah diserap oleh akar tanaman, NO_3^- direduksi oleh enzim reduktase menjadi NH_4^+ , yang selanjutnya berasimilasi menjadi senyawa organik seperti protein. Namun, ketika laju serapan melebihi tingkat reduksi NO_3^- , maka akan terjadi akumulasi NO_3^- di dalam tanaman (Gambar 35). Hewan ruminansia dengan kadar NO_3^- tinggi dalam asupan makanannya mengakumulasi nitrit (NO_2^-). Nitrit diserap ke dalam darah dan bergabung dengan hemoglobin untuk membentuk methemoglobin. Kondisi ini dikenal sebagai keracunan nitrat (*methemoglobinaemia*). Beberapa bahan yang banyak mengandung nitrat di antaranya adalah bayam, sorgum, dan rerumputan.

Keracunan nitrat terjadi ketika hewan memakan bahan makanan hijauan dengan kandungan NO_3^- tinggi. Penyebab paling umum dari kandungan NO_3^- tinggi dalam hijauan jaringan meliputi: (i) pemakaian pupuk yang terlalu tinggi; (ii) kondisi kekeringan; (iii) kerusakan jaringan tanaman (seperti defoliasi sebagai akibat dari aplikasi herbisida); (iv) intensitas cahaya rendah, yang mengurangi aktivitas fotosintesis; dan (v) keberadaan spesies tanaman yang tidak terakumulasi, seperti gulma tahunan.

Pada tanaman leguminosa seperti semanggi putih, nitrogen diubah menjadi amonia selama fiksasi N biologis. Sementara pada tanaman nonleguminosa seperti *ryegrass*, pada umumnya nitrogen diserap hampir secara eksklusif dalam bentuk NO_3^- dan NH_4^+ . Hal ini terjadi karena ion NH_4^+ mengalami

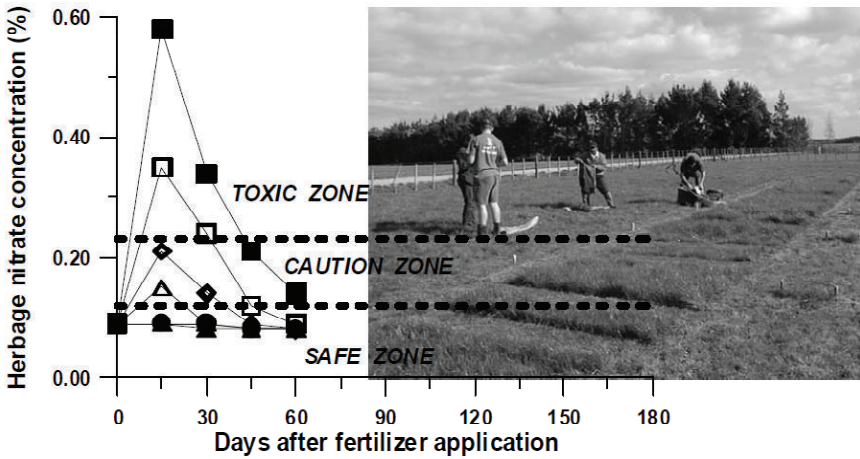
nitifikasi cepat dan juga ion NH_4^+ sangat dipertahankan di situs pertukaran. Ketika ion NH_4^+ diambil, mereka dikonversi langsung ke bentuk organik di akar sehingga mencegah akumulasi NO_3^- . Sedangkan dalam kasus NO_3^- yang tinggi, setelah diserap oleh akar tanaman sebagian NO_3^- direduksi menjadi NH_4^+ yang kemudian berasimilasi menjadi senyawa organik, seperti protein. Karena reduksi NO_3^- sebagian besar terjadi pada pucuk, akumulasi NO_3^- dapat terjadi pada daun tanaman di mana NO_3^- ditranslokasi ke daun dengan laju yang lebih cepat daripada proses reduksi menjadi NH_4^+ (Gambar 35). Sintesis protein tergantung pada proses fotosintesis untuk mengubah NO_3^- menjadi asam amino sehingga akumulasi NO_3^- pada tanaman jauh lebih besar terjadi dalam kondisi cahaya rendah seperti hari berawan.



Gambar 35 Proses pengambilan unsur nitrogen dari dalam tanah oleh akar tanaman

(Sumber: Bolan dan Kemp 2003)

Percobaan lapangan dilakukan di Massey University pada sapi perah untuk menguji pengaruh aplikasi pupuk urea terhadap akumulasi NO_3^- di padang rumput berbasis leguminosa. Enam tingkat pupuk nitrogen (0, 50, 100, 200, 400, dan 600 kgN/ha) diterapkan pada area ukuran plot 9 m². Dua tingkat tertinggi (400 dan 600 kgN/ha) diterapkan dalam 2 dosis terbagi dengan interval 5 hari untuk menghindari pembakaran padang rumput yang dihasilkan dari aplikasi urea yang berlebihan. Meskipun tidak mungkin bahwa lebih dari 50 kgN/ha diterapkan pada satu dosis tunggal untuk padang rumput yang digembalakan, tujuan dari percobaan ini adalah untuk menguji pengaruh aplikasi pupuk N yang berlebihan terhadap akumulasi NO_3^- di padang rumput. Empat replikasi digunakan untuk setiap perlakuan pupuk. Sampel padang rumput diambil secara berkala dan dianalisis untuk total N dan 2% asam asetat yang dapat diekstraksi NO_3^- N.



Gambar 36 Pengaruh pupuk nitrogen terhadap konsentrasi nitrogen nitrat di padang rumput (600 kgN/ha; 400 kgN/ha, 200 kgN/ha; 100 kgN/ha, 50 kgN/ha; 0 kgN/ha) (pelat inset: Percobaan lapangan memeriksa pengaruh pupuk nitrogen terhadap konsentrasi nitrat)

(Sumber: Bolan dan Kemp 2003)

Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi herba NO_3^- meningkat seiring dengan meningkatnya tingkat aplikasi N, tetapi konsentrasi menurun dengan meningkatnya waktu setelah aplikasi pupuk (Gambar 10.4). Konsentrasi NO_3^-

di padang rumput mencapai tingkat toksik ($>0,23\%$) segera setelah aplikasi pupuk, hanya pada level 200 kgN/ha ke atas. Ini menunjukkan bahwa pada tingkat optimal aplikasi pupuk N (50–100 kgN/ha) potensi keracunan nitrat masih dalam level aman.

10.3 Faktor-faktor yang Memengaruhi Akumulasi Nitrat pada Tanaman

Akumulasi dan keracunan nitrat terjadi terutama dipengaruhi oleh jenis tanaman, usia dan kondisi tanaman, kondisi sedikit hujan (kekeringan), cahaya matahari, kondisi stres tanaman, dan jenis hewan yang mengonsumsi. Pada ulasan berikut akan dicoba untuk diulas satu persatu.

10.3.1 Jenis tanaman

Pada tanaman berbasis leguminosa, kemungkinan terjadinya akumulasi NO_3^- berlebih lebih kecil. Karena tanaman leguminosa secara aktif memperbaiki N dalam akar mereka sebagai amonia. Sementara pada jenis rerumputan, potensi akumulasi NO_3^- berlebih lebih mungkin terjadi terutama pada awal periode pertumbuhan dan cenderung berkurang dengan bertambahnya usia tanam.

Pada jenis *ryegrass* sebagian besar akumulasi terjadi akibat penyerapan NO_3^- yang tinggi. Pada jenis lain, misal *Avena sativa*, akumulasi NO_3^- terutama disebabkan oleh laju reduksi NO_3^- yang lambat. Pada tanaman muda yang aktif tumbuh, sebagian besar nitrogen berasimilasi menjadi protein yang menghasilkan nitrogen organik tinggi, sedangkan pada daun tua dan mati hanya sejumlah kecil nitrogen yang berasimilasi menjadi N organik sehingga menghasilkan akumulasi NO_3^- yang tinggi. Perbedaan dalam akumulasi NO_3^- telah ditemukan antara spesies dan varietas. Spesies yang terakumulasi nitrat termasuk gandum, jagung (*Zea mays*), gandum hitam (*Secale cereale*), gandum (*Triticum aestivum*), dan barley (*Hordeum vulgare*), dan non-akumulator termasuk *timothy* (*Phleum pratense*), *browntop* (*Agrostis capillaris*), dan *cocksfoot* (*Dactylis capillaris*).

Secara umum, tanaman hijau yang menghasilkan sejumlah besar bahan berdaun, seperti *ryegrass* mengubah NO_3^- menjadi nitrogen organik, sedangkan tanaman biji-bijian seperti oat mengubah lebih sedikit NO_3^-

menjadi nitrogen organik, sehingga menghasilkan akumulasi NO_3^- . Sebagian besar spesies gulma cenderung mengakumulasi NO_3^- , terutama karena laju pertumbuhannya yang lambat.

10.3.2 Fase pertumbuhan tanaman

Umumnya konsentrasi NO_3^- tinggi pada awal pertumbuhan dan menurun dengan proses pematangan. Namun dalam daun dewasa proses reduksi NO_3^- terbatas sehingga menyebabkan proses pada akumulasi NO_3^- , terutama terjadi sesaat setelah aplikasi pupuk nitrogen. Jika tanaman ditekan pada setiap tahap pertumbuhan, mereka dapat mengakumulasi NO_3^- . Nitrat biasanya menumpuk pada bagian batang dan jaringan konduktif. Konsentrasi cenderung rendah pada daun karena kadar enzim reduktase NO_3^- yang tinggi. Pada umumnya biji-bijian mengandung NO_3^- dalam jumlah yang tidak terlalu besar.

10.3.3 Kondisi kekeringan

Telah sering diamati bahwa konsentrasi NO_3^- dalam herba tinggi setelah kondisi kekeringan singkat karena dua alasan. Pertama, selama periode kekeringan konsentrasi NO_3^- menumpuk di tanah dan sebagian besar nitrogen diambil dalam bentuk ini. Kedua, tingkat kelembapan selama periode kekeringan menyebabkan depresi hasil bahan kering sehingga menghasilkan pengurangan lebih sedikit NO_3^- menjadi nitrogen organik. Telah diamati bahwa kekeringan selama periode pematangan meningkatkan konsentrasi NO_3^- dalam oat. Di Selandia Baru, akumulasi NO_3^- di padang rumput telah diperhatikan dalam kondisi cuaca dingin dan berawan, terutama setelah musim kemarau. Selama musim kemarau panjang, level NO_3^- menumpuk di tanah dan saat hujan, tanaman cenderung mengambil NO_3^- dalam jumlah berlebihan. Ketika tanaman mengalami kekurangan air, ada gangguan umum proses asimilasi. Tingkat reduksi NO_3^- diperlambat, sebagian terjadi akibat penurunan enzim NO_3^- reduktase. Nitrat terakumulasi dalam tanaman selama periode kekeringan moderat karena akar terus menyerap NO_3^- , tetapi suhu siang hari yang tinggi cenderung menghambat konversi menjadi asam amino. Selama kekeringan parah, kurangnya kelembapan mencegah penyerapan NO_3^- oleh akar tanaman. Setelah hujan, akar cepat menyerap NO_3^- dan mengakumulasi dalam konsentrasi yang tinggi.

10.3.4 Sinar matahari

Variasi konsentrasi NO_3^- pada tanaman telah sering diamati. Sinar matahari memengaruhi akumulasi NO_3^- melalui efek langsungnya pada proses reduksi NO_3^- dan efek tidak langsung pada hasil pengeringan kering. Pengurangan nitrat terjadi pada daun muda dan membutuhkan cahaya sebagai sumber energi. Tumbuhan teduh kekurangan energi yang cukup untuk mengubah NO_3^- menjadi asam amino. Perpanjangan periode cuaca berawan telah terbukti meningkatkan kandungan NO_3^- pada tanaman. Hijauan yang dipanen atau digembalakan setelah beberapa hari cuaca berawan diketahui mengandung kadar NO_3^- lebih tinggi daripada setelah cuaca cerah. Di Amerika Utara, tanaman yang ditanam di musim panas ternyata mengandung kadar NO_3^- yang tinggi. Sintesis senyawa organik akan terbatas karena intensitas cahaya rendah pada periode itu. Namun, penyerapan nitrogen umumnya tetap tinggi akibat suhu tanah yang relatif tinggi dan pasokan air yang baik.

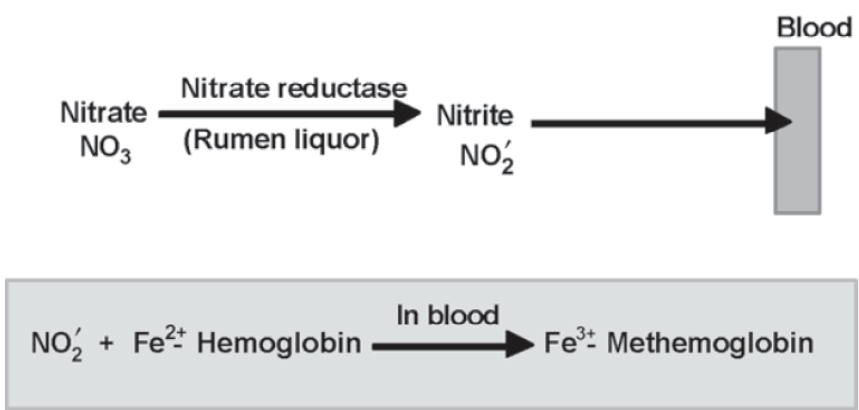
10.3.5 Kondisi tanaman

Faktor stres tanaman, seperti hujan es, embun beku ringan, atau penyakit tanaman dapat merusak area daun tanaman dan mengurangi aktivitas fotosintesis. Faktor-faktor stres ini dapat meningkatkan bahaya NO_3^- pada hewan. Sebagai contoh, hujan es biasanya mengurangi luas daun, menyisakan proporsi batang yang lebih tinggi untuk konsumsi hewan, di mana konsentrasi NO_3^- tinggi. Juga, tekanan dari luas daun berkurang mengurangi konversi NO_3^- . Demikian pula herbisida seperti 2,4-D untuk sementara waktu dapat meningkatkan kandungan NO_3^- hijauan dan gulma. Namun, karena banyak gulma terakumulasi NO_3^- , bahaya keseluruhan dapat dikurangi jika gulma terbunuh. Gulma yang rusak karena herbisida cenderung mengakumulasi NO_3^- karena berkurangnya luas daun dan berkurangnya aktivitas enzim NO_3^- reduktase.

10.4 Toksisitas Nitrat dan Nitrit

Dalam kondisi normal, level nitrat yang tidak terlampaui tinggi dapat diabaikan. Hijauan pada kondisi tertentu dapat mengakumulasi nitrat pada konsentrasi yang bersifat toksik pada ternak. Kondisi yang memengaruhi akumulasi nitrat pada tanaman di antaranya adalah kekeringan, keberadaan

naungan, penggunaan herbisida, dan penggunaan pupuk nitrogen. Sebetulnya nitrat sendiri tidak begitu beracun, namun nitrat dapat dikonversi menjadi nitrit oleh bakteri di saluran pencernaan yang jauh lebih toksik. Pada sapi dan domba, konversi ini terjadi di rumen, sedangkan pada kuda terjadi di sekum. Nitrit dapat dengan mudah diserap di saluran pencernaan dan masuk ke dalam darah, kemudian bergabung dengan hemoglobin pada sel darah merah untuk membentuk methemoglobin (Gambar 37).



Gambar 37 Mekanisme nitrat menjadi nitrit kemudian berikatan dengan hemoglobin

(Sumber: Makkar *et al.* 2007)

Hasil studi meta-analisis mengkonfirmasi kemungkinan keracunan nitrat yang dipicu oleh tingginya kadar methemoglobin akibat asupan yang tinggi akan nitrat. Methaemoglobin ini tidak mampu untuk mengambil dan mentransportasikan oksigen. Oleh karena itu, konsekuensi dari keracunan nitrit berkaitan dengan kekurangan oksigen, membuat tubuh lemas dan turunnya tekanan darah. Ternak yang masih muda dan bayi sangat rentan terhadap keracunan nitrit karena volume darah yang sedikit sehingga membutuhkan lebih sedikit nitrit untuk mengkonversi seluruh hemoglobin menjadi methemoglobin.

Sebuah survei menunjukkan bahwa sejumlah kasus padang rumput dan keracunan hijauan yang disebabkan oleh kandungan NO_3^- yang tinggi telah dilaporkan pada domba dan sapi perah di Selandia Baru dalam 10 tahun terakhir. Beberapa kasus terbaru keracunan nitrat pada hewan ruminansia

tersaji dalam Tabel 8. Sebagai contoh, pada tahun 1999, 63 sapi perah mati karena keracunan nitrat di peternakan sapi perah Northland setelah konsumsi padang rumput dengan kadar NO_3^- yang tinggi. Keracunan nitrat pada sapi menyerang secara tiba-tiba. Peristiwa ini diduga dipicu oleh adanya cuaca dingin dan berawan setelah musim kering melanda di wilayah tersebut. Ruminansia lebih rentan terhadap toksisitas nitrat daripada hewan monoogastrik karena adanya aksi mikroba dalam rumen.

Tabel 8 Kasus keracunan nitrat pada hewan ruminansia

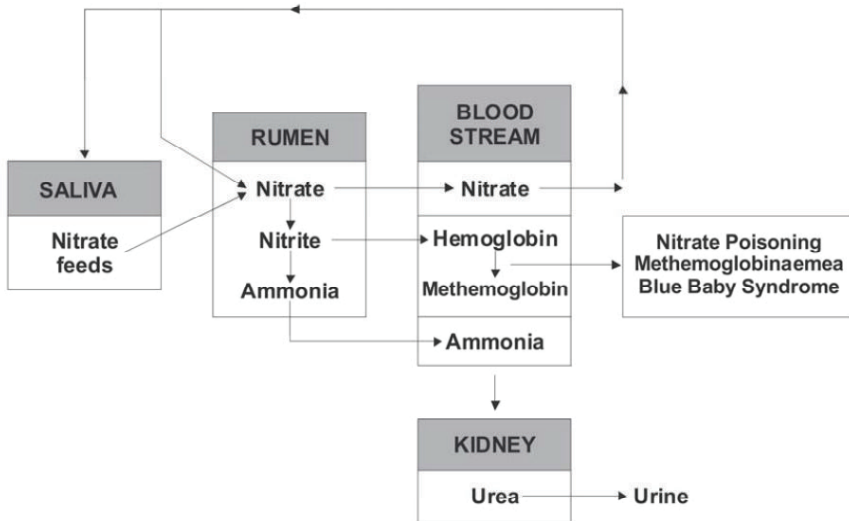
Hewan	Pakan	Kasus keracunan
Sapi perah	<i>Ryegrass</i>	63 meninggal; 10 dirawat
Sapi perah	<i>Ryegrass</i>	23 meninggal; 10 keguguran; 15 dirawat
Sapi perah	<i>Brassica/hay</i>	13 meninggal; 14 keguguran; 5 dirawat
Sapi perah	<i>Grass/hay</i>	3 meninggal; 5 dirawat
Sapi jantan	<i>Brassica</i>	2 meninggal; 2 dirawat
Domba	<i>Ryegrass</i>	12 meninggal
Domba	<i>Ryegrass</i>	7 pingsan, koma dengan respirasi cepat, dan meninggal
Domba	<i>Ryegrass</i>	21 meninggal mendadak
Sapi perah	<i>Ryegrass</i>	12 meninggal; 7 dirawat
Sapi perah	<i>Maize</i>	3 meninggal; 120 keguguran; 6 dirawat
Sapi perah	<i>Brassica</i>	5 meninggal; 10 keguguran; 40 anak sapi mati

Sumber: Bolan dan Kemp (2003); Bolan (1998)

Gejala toksisitas yang muncul termasuk gemeteran, cara berjalan yang tidak normal, serta pernapasan cepat dan lemah. Hewan yang terkena dampak berhenti makan dan segera kolaps, koma, bahkan kematian. Pada kasus keracunan nitrat akhirnya menyebabkan kehilangan berat badan dan produksi susu, serta keguguran mendadak. Alasan fisiologis keracunan ini adalah bahwa NO_3^- dalam hijauan dikonversi menjadi NO_2^- dalam saluran pencernaan. Ketika NO_3^- diserap ke dalam darah, ia mengubah hemoglobin menjadi suatu bentuk methaemoglobin yang tidak dapat mengangkut oksigen sehingga hewan ternak tersebut sesak napas.

Nitrat dalam hijauan yang dikonsumsi oleh hewan ruminansia direduksi menjadi NO_2^- dan kemudian menjadi amonia. Amonia kemudian dikonversi menjadi protein oleh mikroba dalam rumen. Kelebihan amonia diserap oleh

darah dan dikeluarkan dalam urin sebagai urea. Hewan ruminansia dengan tingkat NO_3^- tinggi dalam makanannya mengakumulasi NO_2^- (nitrit). Tergantung pada tingkat reduksi nitrat oleh mikroba rumen, nitrat, dan nitrit dapat terakumulasi dalam rumen dan diserap ke dalam darah melalui dinding rumen. Nitrat yang muncul dalam darah tidak beracun, tetapi nitrit beracun. Nitrit dalam darah akan berikatan dengan sel darah merah dan mengubah bentuk ferro (Fe^{2+}) dari hemoglobin menjadi bentuk ferri (Fe^{3+}) sehingga hemoglobin berubah menjadi methaemoglobin. Sementara senyawa nitrit itu sendiri teroksidasi kembali menjadi nitrat. Methaemoglobin merupakan suatu zat yang tidak mampu mengangkut oksigen (Gambar 38). Sebagian nitrat dalam darah akan didaur ulang kembali ke dalam usus dan diekskresikan ke dalam urin, atau kemungkinan dimasukkan dalam metabolisme oksida nitrat.



Gambar 38 Mekanisme nitrat pada tanaman dan ruminansia

(Sumber: Bolan dan Kemp 2003)

Darah tidak lagi dapat mengangkut oksigen ke jaringan tubuh, detak jantung hewan meningkat, dan tremor otot berkembang. Kondisi ini dikenal sebagai keracunan nitrat (methemoglobinaemia atau sindrom bayi biru pada manusia). Tanda-tanda klinis mulai muncul ketika methaemoglobin mencapai 30–40% dalam darah dan beralih ke kejang diikuti oleh kematian

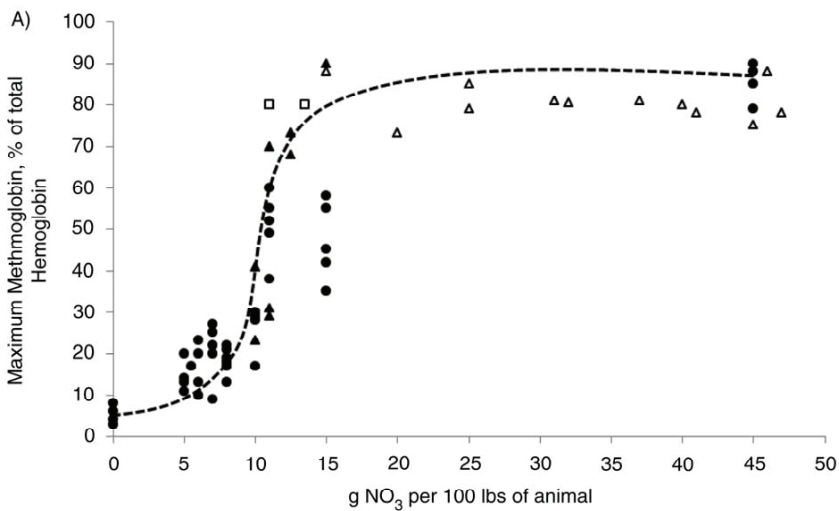
pada level methaemoglobin mencapai 8.090%. Sejumlah kasus gejala akut dan kematian pada sapi setelah konsumsi jerami telah dilaporkan di banyak negara dan disebut keracunan gandum-jerami. Di negara-negara ini, batang jagung serta jerami gandum, silase jagung, silase sorgum (*Sorghum vulgare*), dan jerami alfalfa (*Medicago sativa*) telah ditemukan bertanggung jawab atas keracunan nitrat.

Gejala fisik yang dicatat termasuk gemetaran, warna lendir/kelenjar menjadi kecokelatan, gaya berjalan yang abnormal, pernapasan cepat, dan tersungkur. Hewan yang terkena dampak berhenti makan, serta segera runtuh dan mati tanpa kejang-kejang. Sianosis lidah dan sklera diamati dan darah berubah menjadi cokelat kemerahan karena adanya methaemoglobin. Tingkat methaemoglobin dalam darah (persen dari total hemoglobin) dapat dijadikan indikator yang baik untuk mengukur tingkat keracunan nitrat. Hal ini karena tingkat keracunan nitrat dan methemoglobin darah secara langsung berkaitan.

Sapi tampaknya lebih rentan daripada domba dan kuda. Kehilangan berat badan dan produksi susu, serta keguguran telah tercatat sebagai efek *sublethal* pada sapi perah. Diperkirakan bahwa NO_2^- dapat mengganggu sintesis progesteron, yang merupakan hormon utama yang terlibat dalam mendukung kehamilan. Terdapat ketidakpastian mengenai tingkat minimal konsumsi NO_3^- yang dianggap sebagai dosis mematikan. Penelitian telah menunjukkan bahwa 7,6–9,0 g NO_3^- N per 100 kg berat badan sudah mematikan bagi hewan. Dengan asumsi bahwa rata-rata asupan padang rumput harian oleh sapi perah adalah 4% dari berat badan, padang rumput dengan kandungan NO_3^- lebih dari 0,3% cenderung beracun bagi hewan dengan berat badan hidup 300 kg. Penting untuk diingat bahwa tingkat padang rumput NO_3^- di atas di mana toksisitas terjadi tergantung pada tingkat konsumsi padang rumput oleh hewan.

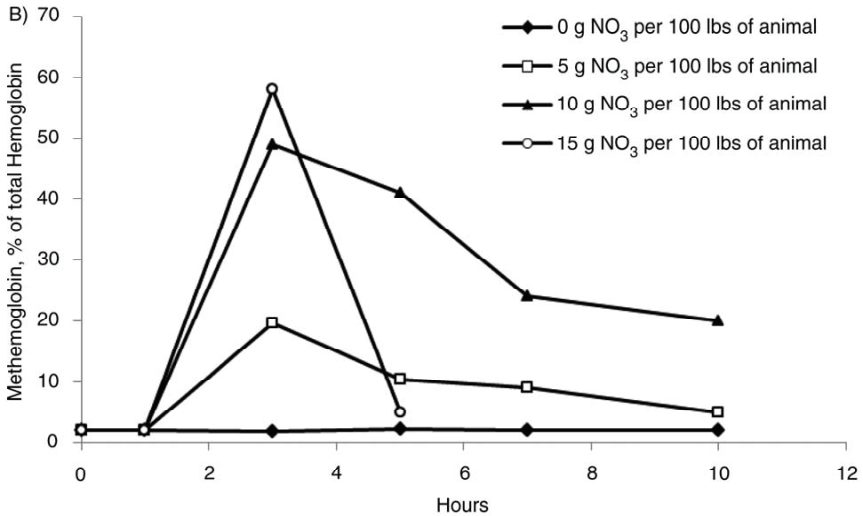
Hasil studi gabungan menunjukkan adanya hubungan sigmoid antara kadar methaemoglobin dalam darah dan peningkatan asupan kadar nitrat (Gambar 39). Level methaemoglobin dalam darah akan dengan cepat naik segera sesaat setelah pemberian natrium nitrat dalam asupan. Kemudian methaemoglobin menurun secara bertahap setelahnya puncak (Gambar 40). Level toksik mematikan berkisar pada 70–80% methaemoglobin dalam darah. Hasil analisis menunjukkan bahwa tingkat mematikan dapat dicapai

dalam waktu 3 jam setelah pemberian pakan mengandung nitrat tinggi yaitu sekitar 10–15 g nitrat per 100 lbs hewan, atau setara dengan 0,22–0,33 g nitrat/kg berat badan hewan. Hasil serupa juga telah dilaporkan, dengan sapi Hereford (382–445 kg BB) dengan natrium nitrat yang diberikan secara *intraruminally* pada tingkat 0,22 g nitrat/kg BB. Akibatnya, sapi teracuni oleh nitrat di antaranya satu sapi mati dan enam dari delapan sapi dirawat. Sapi tersebut memiliki kadar methaemoglobin yang lebih besar dari 50% dalam periode 6–8 jam setelah pemberian nitrat.



Gambar 39 Respons methemoglobin darah (persen dari total hemoglobin) terhadap peningkatan kadar nitrat

(Sumber: Lee dan Beauchemin 2014)

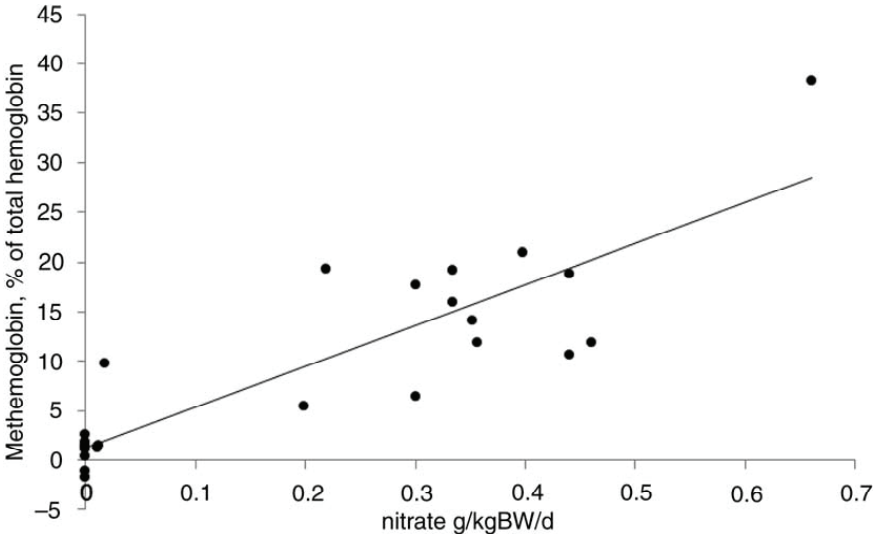


Gambar 40 Level methaemoglobin dalam darah sapi yang mendapat asupan natrium nitrat 15 g per 100 lbs (analisis methaemoglobin dilakukan dengan larutan biru metilen). Terlihat methaemoglobin menurun 2 jam setelah pemberian pakan mengandung nitrat

(Sumber: Lee dan Beauchemin 2014)

Penting untuk diketahui bahwa respons methaemoglobin dalam darah kemungkinan besar *underestimate* karena penelitian tersebut mengukur kadar methaemoglobin dalam darah rata-rata dari beberapa poin waktu selama siklus pemberian pakan. Seperti dijelaskan di atas (Gambar 40), kadar methaemoglobin meningkat dengan cepat setelah pemberian nitrat, kemudian menurun setelahnya. Karena itu, tingkat methaemoglobin rata-rata yang dinyatakan dalam publikasi kemungkinan besar lebih kecil dari nilai yang sesungguhnya (*underestimate*).

Bagaimanapun potensi risiko keracunan nitrat terjadi ketika tingkat methaemoglobin mencapai level tertinggi dicapai dalam darah. Oleh karena itu, kadar methaemoglobin tertinggi dalam siklus pemberian pakan (3–6 jam setelah pemberian pakan) akan lebih informatif dan tepat daripada mencantumkan level rata-rata. Meskipun cenderung *underestimate*, Gambar 41 menunjukkan peningkatan risiko toksisitas nitrat karena kadar methaemoglobin yang lebih tinggi ketika konsumsi nitrat meningkat.

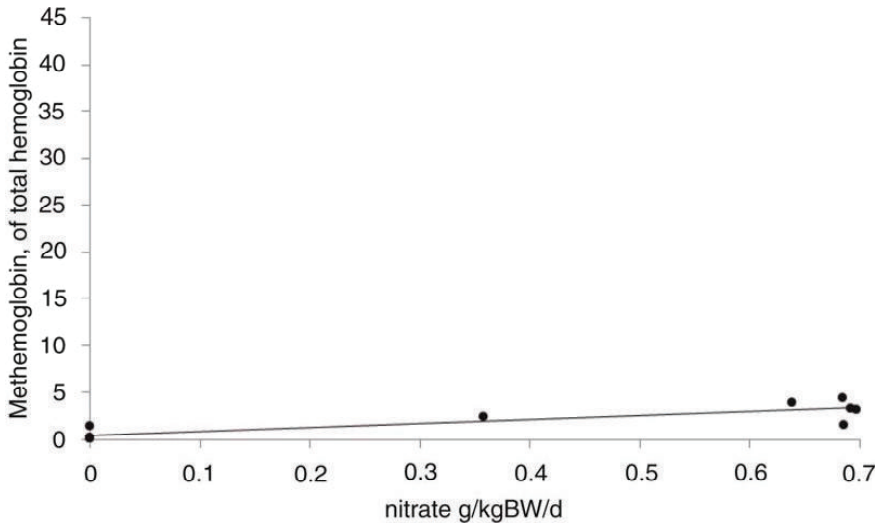


Gambar 41 Respons methemoglobin darah (setiap titik mewakili nilai rata-rata untuk kelompok perlakuan) terhadap peningkatan kadar nitrat dalam diet dari sembilan penelitian dengan 25 perlakuan, $Y = 41,3 \times \text{nitrate (g/kg BW/d)} + 1,2$; $R^2 = 0,76$, $P < 0,001$.

(Sumber: Lee dan Beauchemin 2014)

Untuk menurunkan toksisitas nitrat pada ruminansia, suatu strategi aklimasi telah diimplementasikan dalam beberapa penelitian. Tujuan dari strategi aklimasi ini adalah untuk meningkatkan aktivitas atau populasi mikroba rumen yang mampu mengurangi nitrat menjadi amonia dalam rumen melalui adaptasi. Hasil studi *in vitro* menunjukkan adanya beberapa mikroba rumen seperti *Ruminococcus albus* dan *Ruminococcus flavofaciens* berhasil memetabolisme media berbasis nitrat. Produksi asam lemak volatil pada media secara signifikan meningkat setelah aklimatisasi. Pemberian pakan bertahap pada domba dengan kenaikan dari 0,5 g nitrat/kg BB menjadi 2,5 g nitrat/kg BB dalam waktu lebih dari 2 minggu. Hasil analisis menunjukkan peningkatan kemampuan rumen ternak dalam mereduksi nitrat hingga lima kali lipat lebih tinggi dengan populasi mikroba pereduksi nitrat bertambah hingga tiga kali lipat lebih besar dari semula. Hasil studi mengonfirmasi strategi aklimasi ini. Kemampuan reduksi nitrat domba meningkat dengan strategi aklimasi dibandingkan dengan domba tanpa manajemen pemberian pakan

nitrat aklimasi. Penelitian *in vivo* mengenai metode aklimasi ini jumlahnya masih sangat terbatas. Respons methaemoglobin terhadap pemberian pakan nitrat aklimasi ditunjukkan pada Gambar 42.



Gambar 42 Respons methaemoglobin darah (setiap titik mewakili nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan) dari tiga penelitian 11 perlakuan pakan nitrat teraklimasi; $YY = 4.2 \times \text{nitrate (g/ kg BB/hari)} - 0.4$, R^2

(Sumber: Lee dan Beauchemin (2014); Farra dan Satter (1971); Nolan *et al.* (2010); van Zijderveld *et al.* (2011))

Hanya tiga studi yang dikumpulkan dari literatur yang menggunakan manajemen nitrat teraklimasi. Kadar methemoglobin darah merespons secara linear peningkatan kadar nitrat, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 41 dan 42 jelas bahwa kemiringannya jauh lebih kecil (4,2 vs 41,3) ketika metode aklimasi ini diterapkan. Hal ini menunjukkan bahwa nitrat dan nitrit berkurang dengan cepat karena nitrat tidak menumpuk di dalam rumen dan darah.

Bagaimanapun strategi nitrat aklimasi ini masih perlu dikonfirmasi kembali mengingat jumlah studi yang ada masih sangat sedikit.

Nitrat umumnya dianggap sebagai senyawa yang tidak diinginkan pada pakan ruminansia karena potensinya untuk menginduksi methaemoglobinaemia, dan fakta bahwa senyawa ini merupakan karsinogenik. Selain karsinogenik, senyawa ini diprediksi dapat mengganggu metabolisme vitamin A pada ruminansia. Bagaimanapun, studi kaitan antara nitrat dan vitamin A belum kuat untuk disimpulkan.

10.5 Upaya Mencegah dan Menangani Keracunan Nitrat

10.5.1 Menambah asupan air dan karbohidrat

Langkah pertama dan terpenting yang harus diambil dalam menangani kasus keracunan nitrat adalah segera menghentikan asupan pakan sumber NO_3^- tinggi dan memberikan banyak air. Asupan tinggi karbohidrat dan rendah NO_3^- harus segera diberikan. Perlakuan ini akan mengurangi konsentrasi NO_3^- pada rumen serta menurunkan pH rumen yang dapat memperlambat proses reduksi NO_3^- menjadi NO_2^- dalam rumen.

10.5.2 Pemberian *methylene blue*

Penanganan yang direkomendasikan adalah *methylene blue*, yang terbukti menjadi penangkal efektif untuk toksisitas NO_3^- . Hewan yang terserang akut harus dirawat secara intravena. Suatu larutan berair 1–4% yang diberikan dengan laju 2 g metilen biru per 300 kg berat badan sudah memadai, meskipun metilen biru dalam glukosa 5% atau 1,8% natrium sulfat telah disarankan. Metilen biru dianggap bertindak sebagai akseptor elektron untuk enzim reduktase methemoglobin dalam darah sehingga mempercepat perubahan methemoglobin menjadi hemoglobin.

10.5.3 Mencegah lebih direkomendasikan

Pada dasarnya peternak harus lebih berkonsentrasi pada pencegahan daripada perawatan, karena begitu seekor hewan mulai menunjukkan gejala keracunan nitrat, kemungkinan hanya ada waktu singkat untuk menyelamatkan

hewan tersebut, karena kesehatan hewan tersebut memburuk dengan cepat. Keracunan nitrat pada sapi dapat diminimalisir dengan praktik manajemen penggembalaan yang tepat.

10.5.4 Waspada dengan level toksik nitrat

Tindakan pencegahan harus diambil jika kelebihan NO_3^- terakumulasi dalam hijauan. Hijauan dengan $>0,3\%$ NO_3^- harus dianggap berpotensi toksik dan harus dicampur dengan pakan yang rendah NO_3^- dan tinggi karbohidrat dan protein. Sapi yang kelaparan tidak boleh merumput di padang rumput baru dalam kondisi cuaca berawan, terutama setelah periode kering. Dalam kondisi ini, sampel padang rumput harus diuji kadar NO_3^- -nya dan hewan harus diberikan padang rumput hanya sebagai bagian dari ransum.

10.5.5 Membatasi pupuk nitrogen

Pupuk nitrogen tidak boleh diaplikasikan dalam jumlah yang tinggi sebagai pupuk tunggal selama cuaca yang sangat kering. Ini akan mempredisiposisi padang rumput atau tanaman hijauan ke level NO_3^- tanah yang tinggi. Pertumbuhan kembali yang subur dari rumput N yang banyak dibuahi umumnya mengandung kadar NO_3^- tinggi dan tidak boleh digembalakan. Memastikan tanaman hijauan daripada memanen sebagai jerami akan mengurangi NO_3^- sebesar 40–60% selama proses penguburan. Namun, hijauan dengan tingkat NO_3^- yang sangat tinggi saat panen mungkin masih berbahaya setelah diasingkan dan harus dianalisis sebelum memberi makan.

10.5.6 Menyapah ternak secara bertahap

Hewan muda harus disapah secara bertahap ke dalam diet dengan kandungan NO_3^- tinggi. Seiring waktu, mikroba rumen mampu mengasimilasi kadar NO_3^- yang tinggi sehingga mencegah *flush* NO_2^- menumpuk di dalam rumen.

Rumput yang mengandung NO_3^- tinggi diberikan secara bergantian dengan sumber pakan karbohidrat tinggi. Ini akan mencegah rumen NO_3^- mencapai tingkat toksik dan pH rendah yang diciptakan oleh konsentrasi karbohidrat yang tinggi dari diet akan memperlambat reduksi NO_3^- menjadi NO_2^- dalam rumen.

10.5.7 Menjaga kesehatan ternak

Menjaga kesehatan ternak dengan baik juga akan mengurangi potensi toksisitas nitrat. Ternak yang kurang sehat akan lebih rentan terhadap toksisitas nitrat daripada ternak yang kondisi kesehatannya kurang terjaga dengan baik. Sebagai contoh, ternak yang menderita infeksi parasit akan lebih rentan keracunan toksik.

10.5.8 Mengatur penggunaan herbisida

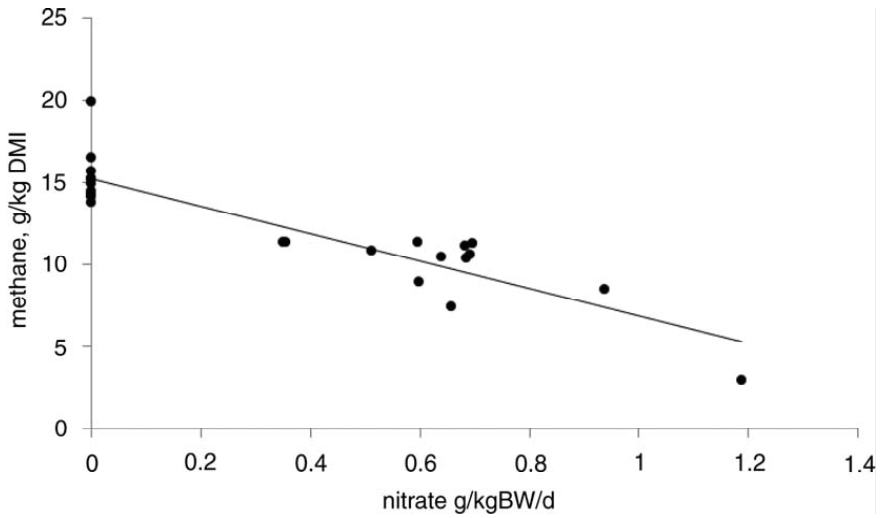
Perhatian perlu lebih ditingkatkan ketika merumput pada tanaman dengan kerusakan jaringan, misalnya setelah aplikasi herbisida. Setiap kerusakan pada jaringan tanaman akan menghasilkan penurunan potensial fotosintesis tanaman secara langsung yang secara tidak langsung akan memengaruhi level NO_3^- di dalam tanaman. Rerumputan yang mengalami kerusakan jaringan akan cenderung memiliki kadar nitrat yang tinggi akibat kurangnya konversi NO_3^- menjadi nitrogen organik. Selain itu, rasio ternak dengan rumput sebaiknya diatur agar tidak terlalu tinggi karena terlalu banyak peternak memaksa ternak untuk memakan batang yang mengandung level NO_3^- tertinggi.

10.6 Nitrat dan Emisi Gas Metan

Meskipun banyak kasus kematian ternak (bahkan manusia) akibat keracunan nitrat terungkap, bagaimanapun studi telah juga banyak mengungkap bahwa asupan nitrat yang terkontrol dengan baik mampu mengurangi emisi gas metan pada ternak ruminansia. Emisi gas metan dalam ternak menjadi salah satu indikator inefisiensi metabolisme energi dalam hewan ruminansia. Selain indikator inefisiensi, senyawa metan dari ternak juga dihimbau untuk dapat diturunkan karena terbukti berkorelasi dengan pemanasan global. Senyawa metan yang masuk dalam udara terbukti mampu memberikan efek menaikkan suhu bumi dengan efek yang lebih besar dari pada emisi karbon dioksida.

Efek perubahan emisi metan ternak terhadap kadar nitrat dalam pakan disajikan pada Gambar 43. Enterik emisi metana berkurang secara linier dengan meningkatnya kadar nitrat yang dikonsumsi oleh hewan ($R^2=0,80$, $P<0,001$). Uniknya, semua studi yang digunakan dalam analisis ini melaporkan pengurangan emisi metana yang signifikan dari hewan yang diberi diet berbasis

nitrat dibandingkan dengan diet tanpa nitrat. Karena itu, nitrat tampaknya memiliki efektivitas yang konsisten antara studi dalam menurunkan enterik produksi metana pada ruminansia.



Gambar 43 Respons emisi metana enterik (setiap titik mewakili nilai rata-rata untuk setiap kelompok perlakuan) hingga tingkat nitrat yang meningkat

(Sumber: Lee dan Beauchemin 2014; Sar *et al.* 2004, 2005; Huyen *et al.* 2010; Nolan *et al.* 2010; van Zijderveld *et al.* 2010, 2011; Hulshof *et al.* 2012; Li *et al.* 2012)

Salah satu persyaratan untuk strategi mitigasi yang efektif adalah kemanjuran yang persisten dalam menurunkan enterik emisi metana. Hanya ada sedikit studi yang menyelidiki efek nitrat pada metana enterik untuk jangka panjang. Pemberian pakan nitrat untuk sapi perah dalam penelitian jangka panjang di mana sapi diberi makan berbasis silase jagung/bungkil kedelai diet ditambah dengan nitrat (2,1% nitrat dari makanan DM) selama sekitar 90 hari. Emisi metan berkurang hingga 16,5% secara konsisten untuk seluruh periode percobaan.

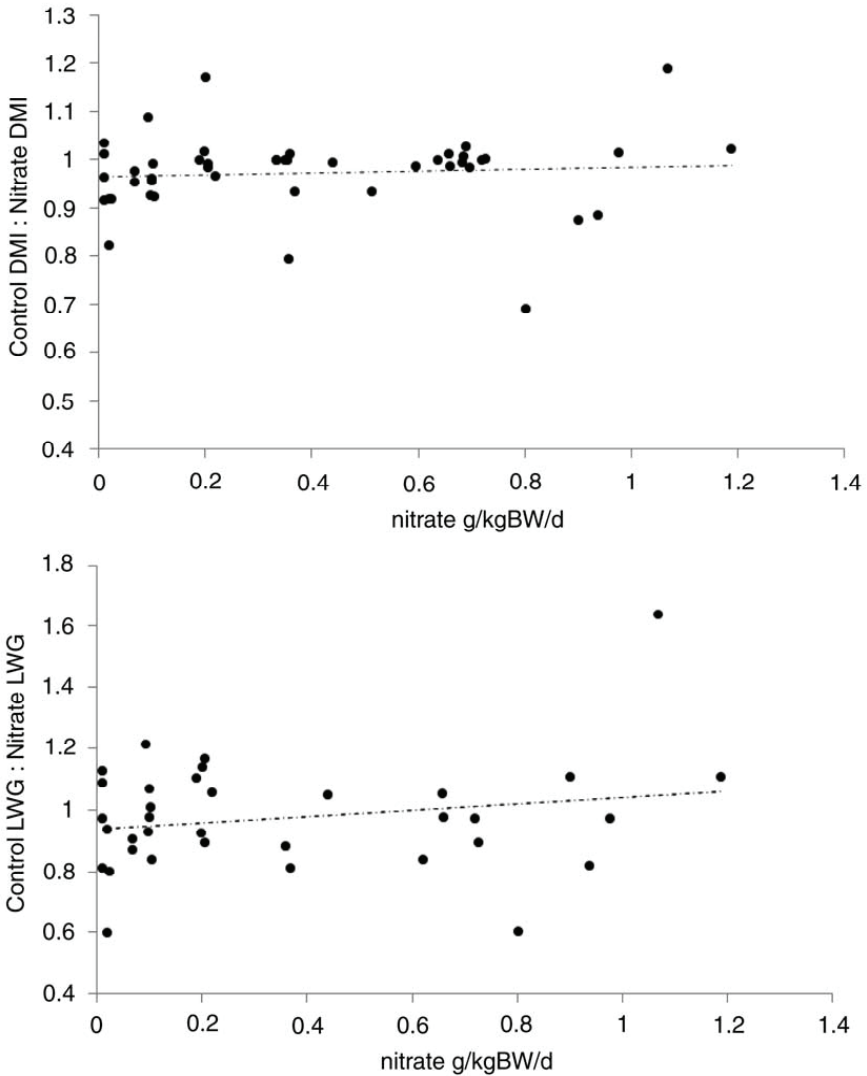
Percobaan selama 54 hari pada dengan domba dengan pemberian pakan diet yang mengandung nitrat (0,88 g nitrat/kg BB) menghasilkan 34% lebih sedikit metana enterik dibandingkan dengan mereka yang diberi diet yang mengandung urea. Studi lain, pemberian pakan dalam bentuk

enkapsulasi nitrat (2,7% nitrat dari makanan DM) selama 92 hari pada domba menghasilkan metana enterik hingga 33% lebih sedikit dibandingkan dengan domba diberi makan diet berbasis urea. Karena itu, sekalipun sangat sedikit penelitian yang dilakukan, tampaknya pemberian nitrat secara terus-menerus efektif dalam mengurangi enterik emisi metana. Perlu dicatat bahwa keefektifan mitigasi emisi metana menurun dengan meningkatnya level nitrat yang diberikan pada ruminansia.

10.6.1 Manfaat lain dari nitrat

Meski termasuk senyawa antinutrisi, nitrat terbukti tidak banyak memengaruhi asupan bahan kering dan pertambahan bobot hidup (*Life Weight Gain*). Bahkan studi juga membuktikan bahwa penambahan nitrat dalam pakan ruminansia dapat menjadi pengganti urea sumber nitrogen nonprotein yang berguna (NPN), yang mampu mengubah komposisi nitrogen urin dengan cara meningkatkan amonia dan emisi nitrous oksida dari *manure* (urin). Studi asupan pakan dan produksi hewan yang diberi nitrat diet ditunjukkan dalam Gambar 44.

Selanjutnya, suplementasi nitrat tambahan tersebut mungkin memiliki berbagai peran fisiologis dalam metabolisme oksida nitrat pada ruminansia. Sebagai kesimpulan, nitrat tambahan bisa menjadi salah satu cara alternatif dalam mengurangi emisi metana enterik. Risiko toksisitas nitrat dapat dikurangi dengan manajemen aklimasi bertahap hewan terhadap nitrat. Hanya saja perlu diingat bahwa penurunan produksi metana ini sepertinya tidak sampai mengarah pada pengonversian menjadi energi yang dapat dimetabolisme sebagai tambahan untuk produksi hewan.



Gambar 44 12 *Dry matter intake* (DMI) (20 studi dan 46 perlakuan; $R^2 = 0.007$, $P = 0.65$) dan perubahan *live weight gain* (LWG) (12 studi dan 35 perlakuan; $R^2=0.03$, $P = 0.31$) pada ruminansia (sapi potong, sapi perah, domba) diberi pakan mengandung nitrat.

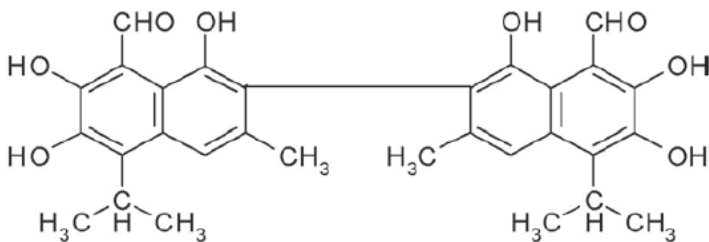
(Sumber: Lee dan Beauchemin 2014)

BAB 11

GOSIPOL

11.1 Struktur Kimia Gosipol

Gosipol adalah senyawa fenolik yang pertama kali diisolasi tahun 1899. Nama ini berasal dari nama ilmiah genus tumbuhan (*Gossypium*) dikombinasikan dengan akhiran “ol” dari fenol. Gosipol memiliki berat molekul 518,55 Dalton, memiliki pigmen kuning, kristal, tidak larut dalam air dan heksana, namun larut dalam aseton, kloroform, eter, dan metil etil keton (butanon), dan sebagian larut dalam minyak sayur. Formula kimianya adalah $C_{30}H_{30}O_8$, dengan struktur 2,2-bis (8-formyl-1,6,7-trihydroxy-5-isopropyl-3-methylnaphthalene) (Gambar 45).



Gambar 45 Struktur gosipol

Gosipol diproduksi oleh kelenjar pigmen di batang kapas, daun, biji, dan kuncup bunga. Kelenjar ini berupa bintik-bintik hitam kecil tersebar di seluruh tanaman kapas. Kelenjar pigmen ini paling banyak terdapat dalam biji. Benih dari *G. barbadense* dapat mengandung hingga 34 g gosipol/kg. Gosipol memiliki beberapa efek toksik pada vertebrata tetapi memberi tanaman kapas ketahanan terhadap hama. Kelenjar pigmen menghasilkan

pigmen fenolik tambahan. Gosipol adalah campuran dari dua enansiomer, yakni (-) dan (+). Enansiomer gosipol (-) lebih lambat dihilangkan, meskipun itu adalah bentuk yang paling aktif secara biologis. Akibatnya, enansiomer (-) lebih beracun daripada enansiomer (+).

11.2 Gosipol dalam Produk Kapas

Terdapat dua jenis gosipol yakni gosipol bebas (larut di dalam 70% aseton) dan gosipol terikat. Gosipol terikat diproduksi melalui ikatan kovalen gosipol dan gugus epsilon-amino bebas dari lisin dan arginin melalui reaksi pencokelatan atau reaksi Maillard. Gosipol terikat akan bereaksi dengan 3-amino-1-propanol dalam larutan dimethylformamide untuk membentuk kompleks diaminopropanol. Kompleks ini kemudian bereaksi dengan anilin menghasilkan dianilinosipol. Metode ini dapat diterapkan pada biji kapas yang dideportasi, biji kapas dengan dan tanpa kelenjar, tepung biji kapas, biji kapas matang, kue biji kapas, makanan biji kapas, dan minyak biji kapas.

Sementara itu, gosipol bebas merupakan gosipol yang larut dalam 70% aseton. Gosipol ini bereaksi dengan tiourea dan anilin dalam kondisi asam memberikan kompleks oranye kekuningan, yang diukur pada 440 nm. Metode ini dapat diterapkan pada biji kapas, makanan biji kapas, lempengan biji kapas, dan kue ukuran (kue kecil). Total produksi gosipol dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk kondisi cuaca dan spesies kapas. Mengingat kondisi cuaca, produksi gosipol berkorelasi positif dengan tingkat curah hujan dan berkorelasi negatif dengan suhu. Mengenai variasi di antara spesies kapas, *G. barbadense* memiliki konsentrasi gosipol yang lebih tinggi daripada *G. hirsutum*.

Kandungan gosipol bebas dalam biji kapas bervariasi yakni berkisar antara 0,02–6,64%. Biji kapas mengandung konsentrasi gosipol lebih besar dibanding bagian kapas lainnya. Konsentrasi gosipol pada biji kapas berkisar 14.000 mg/kg total gosipol dan 7.000 mg/kg gosipol bebas. Selain efek berbahaya, gosipol dan turunannya memiliki potensi penggunaan terapeutik. Senyawa ini menunjukkan tindakan *in vitro* terhadap beberapa virus pada manusia seperti virus imunodefisiensi, virus influenza H5N1, dan beberapa bakteri serta ragi. Gosipol memiliki potensi pengobatan untuk leukemia, limfoma, usus besar karsinoma, kanker payudara, mioma, dan kanker prostat. Pada 1970, gosipol digunakan untuk mengobati fibroid rahim, endometriosis, dan perdarahan uterus pada wanita di Cina.

11.3 Toksikokinetik Gosipol

Tingkat penyerapan gosipol berbanding terbalik dengan jumlah zat besi dalam makanan. Dalam ruminansia, fermentasi mikroba dalam rumen mengikat makanan yang mengandung gosipol bebas dengan protein. Gosipol yang diserap terakumulasi di hati dan ginjal. Ekskresi gosipol primer melalui empedu, kemudian dihilangkan melalui kotoran setelah konjugasi dengan glucuronides dan sulfat. Pada tikus yang diberi dosis oral 5 mg dari kedua bentuk rasemat gosipol, 70,4% gosipol (+) dan 80,2% gosipol (-) diekskresikan dalam tinja dalam waktu lima hari. Sementara 2,30% gosipol (+) dan 2,79% gosipol (-) diekskresikan dalam urin. Gosipol yang terserap dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan organ hati. Berikut merupakan tabel hasil studi eksperimental yang menunjukkan kerusakan hati disebabkan oleh gosipol dengan mengikuti dosis intravena tunggal.

Tabel 9 Hasil studi eksperimental yang menunjukkan kerusakan hati disebabkan oleh gosipol

Hewan	Dosis gosipol	Jalan masuk	Durasi pengobatan
Ayam pedaging	0,4% total gosipol dalam makanan	Oral	20 hari
Ayam	0,1% gosipol bebas dalam makanan	Oral	20 hari
Tikus	25 mg/kg BW	Intraperitoneal	Dosis tunggal
Tikus	30 mg/kg BW	Intraperitoneal	Dosis tunggal
Tikus	5,10 dan 20 mg/kg BW	Intraperitoneal	10 hari

11.4 Keracunan Gosipol

Biji kapas mengandung konsentrasi gosipol yang cukup tinggi untuk menghasilkan keracunan akut. Keracunan gosipol telah dilaporkan pada banyak spesies, termasuk pada ayam broiler, babi, anjing, domba, dan kambing. Sementara itu, hewan monogastrik, seperti burung, ikan, dan hewan pengerat, lebih rentan terhadap toksisitas gosipol dari ruminansia. Tanda-tanda umum toksisitas akut gosipol pada hewan di antaranya gangguan pernapasan, kenaikan berat badan, anoreksia, kelemahan, apatis, dan kematian setelah beberapa hari. Gosipol juga memengaruhi metabolisme tiroid. Beberapa penelitian terhadap tikus jantan dan betina menunjukkan

penurunan konsentrasi T₄ dan T₃ dalam darah setelah pemberian dosis dengan gosipol. Di sisi lain, dosis gosipol dihasilkan dalam peningkatan konsentrasi serum T₃ tanpa memengaruhi T₄ di tikus dan domba. Tanda-tanda klinis tertentu dari keracunan gosipol dikaitkan dengan berkurangnya antioksidan dalam jaringan dan meningkatnya pembentukan spesies oksigen reaktif, yang menghasilkan lipid peroksidasi. Pada konsentrasi tinggi, gosipol juga mengganggu pembangkitan energi dari metabolisme oksidatif dengan mengganggu aktivitas enzimatis dalam mitokondria, rantai transpor elektron dan fosforilasi oksidatif.

11.5 Imunotoksitas

Gosipol dapat menyebabkan berkurangnya jumlah leukosit, terutama limfosit, yang dapat memengaruhi imunokompetensi organisme. Eksperimen tikus *in vivo* dan *in vitro* juga menunjukkan bahwa gosipol memiliki aktivitas immunosupresif yang beroperasi dengan memengaruhi limfosit melalui penghambatan proliferasi dan penginduksian apoptosis. Tikus yang menerima gosipol mengalami penurunan jumlah limfosit yang signifikan. Selain itu, gosipol juga memengaruhi tingkat kesuburan hewan baik jantan maupun betina.

11.6 Prosedur Pencegahan

Prosedur pencegahan pada saat ini melibatkan perawatan produk biji kapas untuk mengurangi konsentrasi gosipol bebas melalui penggunaan panas dan tekanan dalam pengolahan produk kapas. Arahan dari Eropa Union (2002L0032 - EN - 26.02.2013 - 017.001) menyatakan bahwa konsentrasi gosipol bebas maksimum untuk biji kapas adalah 5.000 ppm dan 1.200 ppm untuk makanan atau kue yang terbuat dari biji kapas. Sementara itu, untuk makanan lengkap dibatasi sebanyak 20 ppm untuk ayam petelur dan anak babi, 60 ppm untuk kelinci dan babi, 100 ppm untuk unggas, dan 500 ppm untuk sapi, domba, serta kambing. Pemrosesan termasuk perlakuan panas dan proses ekstrusi dapat mengurangi konsentrasi gosipol bebas di biji kapas. Namun, mungkin saja konjugat terbentuk dapat melepaskan gosipol bebas selama pencernaan. Beberapa jamur dapat mengurangi konsentrasi gosipol bebas dalam makanan biji kapas dengan fermentasi, termasuk *Aspergillus*

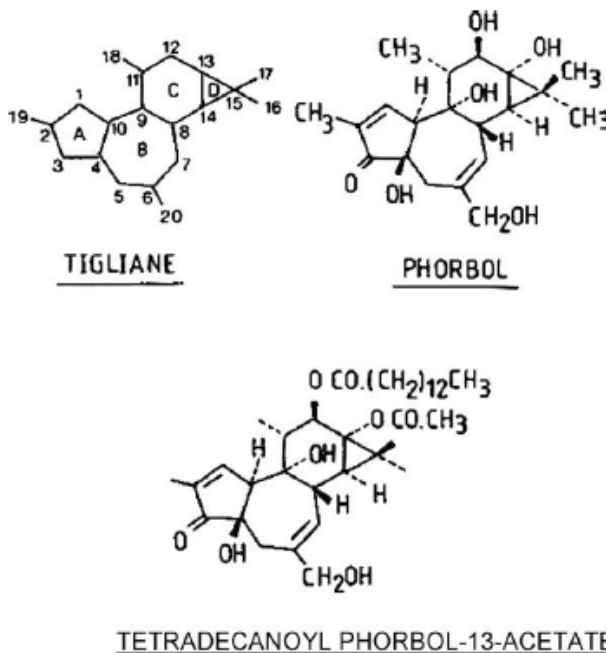
niger, *Aspergillus oryzae*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Geotrichum candidum*. Selain itu, suplementasi makanan dengan besi sulfat dapat mengurangi konsentrasi gosipol bebas dalam makanan karena pengikatan besi sulfat dengan kelompok reaktif dari gosipol. Nutrisi tambahan dapat digunakan untuk suplemen makanan untuk mengurangi ketersediaan gosipol.

BAB 12

FORBOL ESTER

12.1 Struktur Kimia Forbol Ester

Struktur forbol ester tergantung pada tetrasiklik kerangka karbon diterpen yang dikenal sebagai tigliane. Tigliane adalah bagian alkohol mendasar di forbol ester. Tigliane berisi empat cincin yang ditetapkan sebagai A, B, C, dan D (Gambar 46).



Gambar 46 Struktur kimia forbol ester

Hidroksilasi struktur dasar pada posisi yang berbeda kemudian membentuk ikatan ester ke berbagai gugus asam menghasilkan pembentukan varietas besar senyawa forbol ester. Forbol mengandung lima gugus hidroksil dengan reaktivitas yang berbeda terhadap asilasi. Cincin A ada di sebelah kiri dan trans terhubung ke 7 anggota cincin B. Cincin C beranggotakan 6 orang dan terhubung dengan siklopentana D ring. Dua kategori phorbol, α dan β , berbeda dalam kelompok OH mereka di cincin C. Penempatan kelompok OH membuat phorbol tipe aktif (β) atau tidak aktif (α). Struktur forbol dikenal sebagai 12-O (N-methylaminobenzoyl) 13-O-asetil 14-deoksi phorbol. Senyawa itu ditemukan menjadi agen proinflamasi yang bekerja cepat pada kulit mamalia.

Forbol ester aktif, TPA (4 β -12-O-tetradecanoylphorbol-13-asetat), pertama kali ditemukan di tanaman puring, semak di Asia Tenggara. Tanaman yang mengandung forbol ester pada konsentrasi tinggi adalah tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*). Forbol ester bersifat toksik pada berbagai spesies hewan seperti domba, kambing, sapi, ayam, ikan, dan bahkan manusia. Senyawa ini bersifat karsinogenik, mutagenik, dan mendorong pertumbuhan tumor.

12.2 Potensi Pertumbuhan Tumor

Forbol itu sendiri tidak menyebabkan tumor tetapi mempromosikan pertumbuhan tumor setelah paparan dosis subkarsinogenik sesuatu yang menyebabkan kanker. Dengan demikian forbol dapat disebut sebagai *cocarcinogens*. *Cocarcinogenic* dari senyawa ini diproduksi oleh *Euphorbiaceae* terungkap ketika Berenblum (1941) menemukan puring minyak (*Croton tiglium*) mampu meningkatkan pembentukan tumor ketika diterapkan pada kulit tikus, baik bersama-sama atau secara terpisah.

12.3 Toksisitas Forbol Ester

Konsumsi bahan tanaman beracun menyebabkan kematian hewan, mengurangi produksi susu dan reproduksi, serta kontaminasi susu dengan konstituen beracun. Dalam hal ini, keracunan ternak berasal dari konsumsi banyak tanaman genus *Spurge*, *Aleutrites*, *Jatropha*, dan *Mercurialis* telah dilaporkan. Studi toksisitas juga telah dilaporkan untuk manusia, tikus, dan ternak. Toksisitas biji jarak telah dipelajari secara luas pada hewan seperti

kambing, domba, tikus, tikus, dan ikan saat diberi makan dengan *feed* yang mengandung forbol ester. Penurunan kadar glukosa, peningkatan konsentrasi arginase, glutamat, dan oksaloasetat transaminase dalam serum terjadi pada kambing dengan diikuti gejala kekurangan nafsu makan, kekurangan asupan air, diare, dehidrasi, dan efek hemoragik lainnya pada organ tertentu.

12.4 Forbol Ester pada Tanaman Jarak

Upaya pemanfaatan limbah pertanian atau hasil samping pertanian sebagai sumber hewan makan sedang marak dikembangkan. Dalam hal ini, tanaman jarak telah mendapat perhatian khusus karena merupakan produk tanaman yang berpotensi untuk digunakan sebagai biofuel, pakan ternak, dan inklusi dalam persiapan obat. Tanaman jarak telah banyak diselidiki sebagai sumber minyak. Kernel benih tanaman mengandung sekitar 60% minyak yang bisa dikonversi menjadi biodiesel dan digunakan sebagai pengganti diesel bahan bakar. Sementara itu, benih yang tersisa setelah ekstraksi minyak sangat baik sebagai sumber nutrisi tanaman. Namun penggunaannya sebagai pakan hewan dicegah karena tingginya konsentrasi antinutrisi pada tanaman jarak.

12.5 Manfaat Forbol Ester

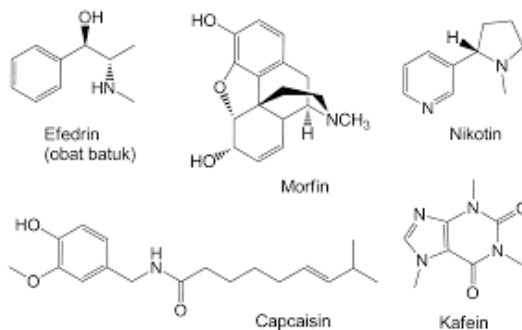
Forbol ester adalah pedang bermata dua; selain punya banyak efek negatif pada manusia dan ternak, forbol ester juga memiliki beberapa efek menguntungkan. Beberapa manfaat forbol di antaranya adalah menghambat *human immunodeficiency virus* (HIV) dan memiliki aktivitas antileukemik. Senyawa jatrophone diterpenoid makrosiklik diisolasi dari *Jatropha gossypifolia* (tanaman jarak) menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap sel kanker di bawah kondisi *in vitro* dan *in vivo*. Jatrophone juga memiliki aktivitas antileukemik yang signifikan terhadap P-388 leukemia limfositik pada 27 dan 12 mg/kg sitotoksitas (ED50) terhadap kultur sel pada 0,17 μ g/ml.

BAB 13

ALKALOID

13.1 Struktur Kimia Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang sangat beragam yang mengandung gugus amina sekunder, tersier, atau siklik. Alkaloid mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan umumnya merupakan bagian dari sistem siklik. Lebih dari 5.500 senyawa alkaloid sudah diketahui. Banyak alkaloid berada dalam bentuk terpenoid dan sebagiannya lagi adalah steroid (seperti solanin, yakni alkaloid steroid yang terdapat pada kentang). Jenis alkaloid lainnya berupa senyawa aromatik. Alkaloid umumnya bersifat toksik bagi manusia dan memiliki efek fisiologis dan neurologis. Berikut merupakan struktur beberapa senyawa alkaloid.



Gambar 47 Struktur senyawa alkaloid

13.2 Alkaloid pada Tanaman

Beberapa tanaman yang kaya akan alkaloid adalah spesies *Phalaris* sp., *Datura stramonium*, atau rumput gandum hitam (*Lolium perenne* L.), dan terinfeksi oleh endofitik jamur (*Acremonium lolii*). Spesies *Phalaris* sp. mengandung

alkaloid triptamin dan menyebabkan gerbang dari kematian yang mengejutkan. *D. stramonium* mengandung tropana alkaloid seperti hiosciamine. Apabila dikonsumsi, zat ini yang menyebabkan kelumpuhan, detak jantung yang cepat, dan berakhir pada kematian.

Kandungan alkaloid dalam daun atau buah segar ditandai dengan adanya rasa pahit. Rasa pahit tersebut disebabkan oleh zat alkaloid quinin. Zat ini adalah salah satu zat paling pahit yang dikenal dengan konsentrasi pahitnya 1×10^{-5} molar. Secara umum, keluarga angiospermae merupakan tumbuhan yang kaya akan zat ini, tetapi perlu diingat bahwa distribusi alkaloid sangat tidak merata, bahkan ada tumbuhan dengan spesies yang sama namun sama sekali tidak mengandung zat ini. Alkaloid jarang terdapat pada tumbuhan gymnospermae, pakis, lumut, dan tanaman rendah.

13.3 Toksisitas Alkaloid

Alkaloid bersifat toksik pada ternak seperti unggas, babi, domba, sapi, dan kuda. Alkaloid pada tubuh hewan berasal dari konsumsi rumput dan biji-bijian yang telah terkontaminasi. Gejala toksik ini di antaranya terjadi gangren (kehilangan bagian tubuh), kejang, aborsi pada hewan hamil, dan kematian. Contoh gejala toksik baru-baru ini adalah terjadinya hipertermia pada ternak, menurunnya produksi susu pada ternak sapi di Afrika Selatan akibat konsumsi kacang yang terkontaminasi *C. cyperi*, dan berkurangnya produksi susu pada babi dan sapi perah di Australia terkait dengan biji sorgum yang terkontaminasi dengan *C. africana*.

13.4 Metode analisis alkaloid

Ada berbagai macam metode untuk menentukan kadar alkaloid dalam biji-bijian dan rumput, yakni metode kolorimetri, TLC, *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), LCfluorescence, Deteksi LC-elektrokimia, dan LC-massa spektrometri (MS). Alkaloid tidak dapat diidentifikasi dengan metode tunggal, karena secara kimia struktur alkaloid sangat heterogen. Sulit untuk mengidentifikasi alkaloid dari sumber tanaman baru. Namun prosedur penyaringan umum dilakukan, tetapi mungkin gagal mendeteksi senyawa lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Babar VS, Chavan JK, Kadam SS. 1988. Effects of heat treatments and germination on trypsin inhibitor activity and polyphenols in jack bean (*Canavalia ensiformis* L. DC). *Plant Foods Hum Nutr.* 38: 319–324.
- Campbell NA, Reece JB. 2008. *Biology - 8th Ed.* California (US): Pearson Education, Inc.
- Chang KC, Harrold RL. 1988. Changes in selected biochemical components, in vitro protein digestibility and amino acids in two bean cultivars during germination. *J Food Sci.* 53: 783–787.
- Cheke PR. 1988. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. *J Anim Sci* 66: 2343–2350.
- Crozier A, Clifford MN, Ashihara H. 2006. *Occurrence, Structure and Role in the Human Diet of Plant Secondary Metabolites.* United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.
- Cullen, Katherine E. 2009. *Encyclopedia of Life Science.* New York (US): Facts On File, Inc. <https://damnloveit.blogspot.com/2015/07/enzim.html>
- D'Mello JPF. 1992. Chemical constraints to the use of tropical legumes in animal nutrition. *Animal Feed Science and Technology* 38: 237–261.
- Erlanger BF, Kakowsky N, Cohen W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates for trypsin. *Arch Biochem Biophys.* 95: 271–278.
- Farra PA, Satter LD. 1971. Manipulation of the ruminal fermentation. III. effect of nitrate on ruminal volatile fatty acid production and milk composition. *J. Dairy Sci.* 54: 1018–1024.
- Francis G, Kerem Z, Makkar HPS, Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems. A review. *British Journal of Nutrition* 88: 587–605.

- Gadelha ICN, Fonseca NBS, Oloris SCS, Melo MM, Blanco BS. 2014. Gossypol toxicity from cottonseed products. A review. *The Scientific World Journal* 10: 1–11.
- Goel G, Makkar HPS, Francis G, Becker K. 2007. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *International Journal of Toxicology* 26: 279–288.
- Hammond AC. 1995. *Leucaena toxicosis* and its control in ruminants. *J Anim Sci* 73: 1487–1492.
- Hulshof RBA, Berndt A, Gerrits WJJ, DijkstraJ, van Zijderveld SM, Newbold JR, Perdok HB. 2012. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. *J. Anim. Sci.* 90: 2317–2323.
- Huyen LTN, Quang DH, Preston TR, Leng RA. 2010. Nitrate as fermentable nitrogen supplement to reduce rumen methane production. *Livest. Res. Rural Dev.* 22 [Online] Available: <http://www.lrrd.org/lrrd22/8/huye22146.htm>.
- Jayanegara A, Palupi E. 2010. Condensed tannin effects on nitrogen digestion in ruminants: A meta-analysis from in vitro and in vivo studies. *Media Peternakan*, 33 (3): 176–181.
- Jayanegara A, Sujarnoko TUP, Ridla M, Kondo M, Kreuzer M. 2019. Silage quality as influenced by concentration and type of tannins present in the material ensiled: A meta-analysis. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103 (2): 456–465.
- Jayanegara A, Wina E, Takahashi J. 2014. Meta-analysis on methane mitigating properties of saponin-rich sources in the rumen: influence of addition levels and plant sources. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27 (10): 1426–1435.
- Kakade ML, Simon N, Liener IE. 1969. An evaluation of natural versus synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 46: 518–526.
- Kakade MD, Rackis J J, McGhee JE, Puski G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 51: 376–382.

- Lee CH, Beauchemin KA. 2014. Feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. A review. *J Anim Sci* 94: 557–570.
- Li L, Davis J, Nolan J, Hegarty R. 2012. An initial investigation on rumen fermentation pattern and methane emission of sheep offered diets containing urea or nitrate as the nitrogen source. *Anim. Prod. Sci.* 52: 653–658.
- Makkar HPS, Siddhuraju P, Becker K. 2007. Plant Secondary Metabolites. New Jersey (US): Humana Press Inc.
- McSweeney CS, Palmer B, McNeill DM, Krause DO. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91 (1-2): 83–93.
- Morgavi DP, Forano E, Martin C, Newbold CJ. 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4 (7): 1024–1036.
- Mueller-Harvey I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. A review. *J Sci Food Agric* 86: 2010–2037.
- Nolan JV, Hegarty RS, Hegarty J, Godwin IR, Woodgate R. 2010. Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep. *Anim. Prod. Sci.* 50: 801–806.
- Padmaja G. 1995. Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. A review. *Food Science and Nutrition* 35: 299–339.
- Pallauf J, Rimbach G. 1997. Nutritional significance of phytic acid and phytase. *Arch Anim Nutr* 50: 301–319.
- Rahman MM, Abdullah RB, Wan Khadijah WE. 2012. Oxalate poisoning in domestic animals: tolerance and performance aspects. A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 10: 1–10.
- Randel RD, Chase Jr CC, Wyse SJ. 1992. Effects of gossy and cottonseed products on reproduction of mammals. *J Anim Sci* 70: 1628–1638.

- Sar C, Mwenya B, Pen B, Takaura K, Morikawa R, Tsujimoto A, Kuwaki K, Isogai N, Shinzato I, Asakura Y, Toride Y, Takahashi J. 2005. Effect of ruminal administration of *Escherichia coli* wild type or a genetically modified strain with enhanced high nitrite reductase activity on methane emission and nitrate toxicity in nitrate-infused sheep. *Br. J. Nutr.* 94: 691–697.
- Sar C, Santoso B, Mwenya B, Gamo Y, Kobayashi T, Morikawa R, Kimura K, Mizukoshi H, Takahashi J. 2004. Manipulation of rumen methanogenesis by the combination of nitrate with beta 1-4 galacto-oligosaccharides or nisin in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115: 129–142.
- Savelkoul FHM, Van Der Poel AFB, Tamminga S. 1992. The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination. A review. *Plant Foods for Human Nutrition* 42: 71–85.
- Scott PM. 2009. Ergot alkaloids: extent of human and animal exposure. *World Mycotoxin Journal* 2: 141–149.
- Selle PH, Ravindran V, Caldwell RA, Bryden WL. 2000. Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. *Nutrition Research Reviews* 13: 255–278.
- Shah B, Seth AK. 2010. *Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry*. India: Elsevier.
- Shim YY, Gui B, Arnison PG, Wang Y, Reaney MJT. 2014. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 38 (1): 5–20.
- Subbulakshmi G, GaneshKumar K, Venkataraman LV. 1976. Effect of germination on the carbohydrates, proteins, trypsin inhibitor, amylase inhibitor and hemagglutinin in horse- gram and mothbean. *Nutr Rep Int.* 13: 19–31.
- Tan-Wilson AL, Rightmire BR, Wilson KA. 1982. Different rates of metabolism of soybean proteinase inhibitors during germination. *Plant Physiol.* 70: 493–497.
- Tripathi MK, Mishra A. 2007. Glucosinolates in animal nutrition. A review. *Animal Feed Science and Technology* 132: 1–27.

- van Zijderveld SM, Gerrits WJJ, Apajalahti JA, Newbold JR, Dijkstra J, Leng RA, Perdok HB. 2010. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. *J. Dairy Sci.* 93: 5856–5866.
- van Zijderveld SM, Gerrits WJJ, Dijkstra J, Newbold JR, Hulshof RBA, Perdok HB. 2011. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 4028–4038.
- Vetter J. 2000. Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon* 38: 11–36.
- Wink M. 2010. *Function and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.

PROFIL PENULIS



Dr Anuraga Jayanegara, SPT, MSc

Dr Anuraga Jayanegara, SPT, MSc dilahirkan di Bojonegoro pada tanggal 2 Juni 1983. Pendidikan sarjana (S-1) ditempuh di Fakultas Peternakan IPB dan lulus pada tahun 2003. Saat lulus sarjana beliau masih berusia 19 tahun dan dinobatkan sebagai lulusan terbaik IPB dengan meraih IPK tertinggi. Pendidikan S-2 ditempuh di University of Hohenheim, Jerman, pada kurun waktu 2006–2008 dengan beasiswa dari Pemerintah Jerman (DAAD). Pendidikan S3 diselesaikan di salah satu universitas top dunia, yakni Swiss Federal Institute of Technology Zurich (ETH Zurich) dalam tempo 2 tahun 9 bulan. Disertasinya dianugerahi penghargaan sebagai salah satu disertasi terbaik oleh Society of Nutritional Physiology-Schaumann Stiftung, Jerman. Bidang kajian riset utamanya adalah eksplorasi, pengolahan, dan pemanfaatan senyawa metabolit sekunder tanaman sebagai aditif pakan untuk meningkatkan produktivitas, menurunkan emisi gas metana, dan meningkatkan profil asam lemak tak jenuh ganda pada produk ternak ruminansia.



Dr Ir Muhammad Ridla, MAg

Dr Ir Muhammad Ridla, MAg dilahirkan di Bandung pada tanggal 6 Desember 1963. Pendidikan sarjana (S-1) diselesaikan di Fakultas Peternakan IPB pada tahun 1987. Pada tahun 1993 beliau menyelesaikan program S-2 di Okayama University, Jepang. Pendidikan S-3 juga ditempuh di universitas yang sama dan lulus pada tahun 1998 dengan topik penelitian mengenai ilmu dan teknologi silase.

Dr Ir Muhammad Ridla, MAgr pernah dipercaya menjadi Ketua Departemen Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak serta Ketua Program Studi Pascasarjana Peternakan IPB.



Prof Dr Ir Erika B. Laconi, MS

Prof Dr Ir Erika B. Laconi, MS lahir di Teluk Betung pada tanggal 16 September 1961. Pendidikan sarjana (S-1) diselesaikan pada tahun 1984 di Fakultas Peternakan IPB. Pendidikan S-2 dan S-3 diselesaikan di IPB pada tahun 1992 dan 1998. Sebelum memulai karirnya sebagai dosen, beliau pernah bekerja sebagai karirnya sebagai dosen, beliau pernah bekerja sebagai nutrisisionis di PT Anwar Sierad selama 2 tahun. Bidang keahlian utama beliau adalah kebijakan dan

pengawasan mutu pakan. Sejak tahun 2010 beliau diangkat sebagai Guru Besar Fakultas Peternakan IPB. Saat ini beliau diberikan amanah sebagai Wakil Rektor Bidang Inovasi, Bisnis, dan Kewirausahaan IPB.



Prof Dr Ir Nahrowi, MSc

Prof Dr Ir Nahrowi, MSc lahir di Jakarta pada tanggal 25 April 1962. Pendidikan sarjana (S-1) ditempuh di Fakultas Peternakan IPB pada tahun 1980 hingga 1984. Pendidikan S-2 ditempuh di Uppsala University, Swedia, dan lulus pada tahun 1990. Adapun pendidikan S-3 beliau diselesaikan dari Ehime University, Jepang, pada tahun 1995. Keahlian utama Prof Dr Ir Nahrowi, MSc adalah pada bidang

teknologi pengolahan pakan. Sejak tahun 2010 beliau diangkat sebagai Guru Besar Fakultas Peternakan IPB. Beliau pernah diberikan amanah sebagai Ketua Departemen Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak. Saat ini Prof Dr Ir Nahrowi, MSc merupakan Ketua Senat Akademik Fakultas Peternakan dan Sekretaris Program Magister, Sekolah Pascasarjana IPB.