

PENGARUH PEMANFAATAN POD KAKAO (*THEOBROMA CACAO*) FERMENTASI DENGAN SUPLEMENTASI MINERAL, PROBIOTIK DAN *BY-PASS* PROTEIN TERHADAP POPULASI BAKTERI RUMEN SECARA *IN-VITRO*

Afrizal Syaripudin¹, Nurhaita¹, Edwar Suharnas^{1*}, Rita Zurina¹, Suliasih¹, dan
Lezita Malianti¹

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Corresponding author: edwarsuharnas@umb.ac.id

Diterima : 03-12-2023 **Direvisi** : 03-12-2023 **Disetujui** : 10-01-2024

Abstrak. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pod kakao fermentasi dengan suplementasi mineral, probiotik dan *by-pass* protein terhadap populasi bakteri rumen secara *In-vitro*. Penelitian dilaksanakan selama 3 bulan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan Fakultas Peternakan IPB. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 4 kelompok. Materi yang digunakan adalah ransum yang terdiri dari hijauan dan konsentrat dengan perbandingan 60% + 40%. Hijauan terdiri dari rumput lapangan (70%) dan pod kakao (*Theobroma cacao*) fermentasi (30%). Konsentrat terdiri dari kapur/dolomit, garam, tepung ampas tahu dan dedak padi halus. Perlakuan yang diujikan adalah A= ransum tanpa suplementasi (sebagai kontrol), B= suplementasi mineral (S 0,11%, P 0,08%, dan Zn 20 ppm), C= B + 0,4% *S. cereviceae*, D= B + 1% tepung indigofera E= suplementasi mineral (S 0,11%, P 0,08% dan Zn 20 ppm) + probiotik (0,4% *S. cereviceae*) + *by-pass* protein (1% tepung Indigofera sp). Parameter yang diamati adalah populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen. Populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen yang dihasilkan berkisar 5,75-8,65 dan 4,80-8,60 (log cfu/ml). Populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen tertinggi terdapat pada perlakuan E, yaitu suplementasi mineral dengan probiotik dan *by-pass* protein. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemanfaatan pod kakao fermentasi dengan suplementasi mineral, probiotik dan *by-pass* protein dapat meningkatkan populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen secara *In-vitro*. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah pemanfaatan pod kakao fermentasi dengan suplementasi mineral fosfor (P), sulfur (S), dan Zn), *by-pass* protein dan probiotik mampu meningkatkan populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen secara *In-vitro*.

Kata kunci : *By Pass Protein, Fermentasi, Mineral, Probiotik dan Bakteri Rumen, Pod Kakao, Suplementasi*

Abstract. The aim of the research was to determine the effect of fermented cocoa pods with mineral supplementation, probiotics and protein bypass on rumen bacterial populations *In-*

vitro. The research was carried out for 3 months at the Dairy Animal Nutrition Science Laboratory, Department of Nutrition Science and Feed Technology, Faculty of Animal Husbandry, IPB. The research used a Randomized Block Design (RAK) with 5 treatments and 4 groups. The material used is a ration consisting of forage and concentrate in a ratio of 60% + 40%. Forage consists of field grass (70%) and fermented cocoa (*Theobroma cacao*) pods (30%). The concentrate consists of lime/dolomite, salt, tofu dregs flour and fine rice bran. The treatments tested were A= ration without supplementation (as control), B= mineral supplementation (S 0.11%, P 0.08% and Zn 20 ppm), C= B + 0.4% *S. cereviceae*, D= B + 1% indigofera flour E= mineral supplementation (S 0.11%, P 0.08% and Zn 20 ppm) + probiotics (0.4% *Saccharomyces cereviceae*) + *by-pass* protein (1% indigofera sp flour). The parameters observed were the total bacterial population and rumen cellulolytic bacteria. The results showed that the treatment had a very significant effect ($P < 0.01$) on the total bacterial population and rumen cellulolytic bacteria. The total bacterial population and rumen cellulolytic bacteria produced ranged from 5.75 to 8.65 and 4.80 to 8.60 (log cfu/ml). The highest population of total bacteria and rumen cellulolytic bacteria was found in treatment E, namely mineral supplementation with probiotics and protein by-pass. From the research results it can be concluded that the use of fermented cocoa pods with mineral supplementation, probiotics and protein bypass can increase the population of total bacteria and rumen cellulolytic bacteria In-vitro. The conclusion of this research is that the use of fermented cocoa pods with supplementation of the minerals phosphorus (P), sulfur (S), and Zn), protein by-pass and probiotics can increase the population of total bacteria and rumen cellulolytic bacteria In-vitro.

Keywords : *By Pass Protein, Fermented Pod Cacao, Mineral, Probiotic dan ration bacteria, Suplementation*

PENDAHULUAN

Pod kakao cukup berpotensi untuk dijadikan sebagai pakan alternatif pengganti rumput karena produksinya setiap tahun mengalami peningkatan dan juga tersebar luas di wilayah tertentu, misalnya di daerah Bengkulu. Statistik perkebunan Indonesia menyajikan data luas area perkebunan kakao pada tahun 2014 adalah 1.727.437 ha dan data statistik Provinsi Bengkulu memiliki lahan pertanaman kakao seluas 13.421 ha yang tersebar di 10 kabupaten; Kabupaten Bengkulu Utara, Kepahiang, Rejang Lebong, Muko-muko, Seluma, Kaur, Lebong, Bengkulu Tengah, Bengkulu Selatan, dan Kota Bengkulu, tercatat data terakhir pada tahun 2014 produksi kakao sebesar 5.392 ton dengan produksi limbah sebesar ± 4.477,52 ton (Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kakao 2014 – 2016).

Pod kakao tergolong pakan serat yang mempunyai kandungan gizi yang cukup baik tetapi tingginya kandungan lignin (27,95%) yang membatasi kecernaannya di samping adanya kandungan

theobromine yang bersifat racun dan dapat mengganggu metabolisme ternak yang mengkonsumsinya, untuk meningkatkan pencernaan dan menghilangkan racun yang terdapat pada pod kakao, perlu dilakukan pengolahan terlebih dahulu, salah satunya dengan cara fermentasi. Fermentasi dengan Mikroorganisme Lokal (MOL) merupakan salah satu alternatif dan akhir-akhir ini sering digunakan. MOL berupa larutan merupakan hasil fermentasi dari berbagai bahan limbah. Larutan MOL ini mengandung bakteri dan jamur yang berpotensi sebagai perombak bahan organik. Keunggulan menggunakan MOL yang paling utama adalah murah bahkan tanpa biaya karena MOL dapat di buat dari buah-buahan dan sayuran-sayuran yang sudah busuk dan terbuang, limbah ternak, limbah rumah potong ataupun limbah rumah tangga, serta mudah dalam proses pembuatannya dan bersifat aplikatif.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan Fakultas Peternakan IPB.

Materi Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian sebagai berikut: Tepung pod kakao fermentasi yang telah difermentasi dengan MOL isi rumen, tepung rumput, tepung ampas tahu, dedak padi halus, kapur dolomit, garam, tepung Indigofera sp sebagai sumber *by-pass* protein, mineral S, P dan Zn.

Peralatan yang digunakan untuk penelitian sebagai berikut: Timbangan analitik untuk menimbang bahan sampel, alat tulis untuk mencatat semua rangkaian penelitian, kertas hvs untuk wadah sampel, plastik untuk membungkus sampel yang akan dikirim, dan seperangkat peralatan *In-vitro* serta seperangkat alat analisis Populasi Bakteri Rumen.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diujikan adalah sebagai berikut:

- Perlakuan A : 60% hijauan + 40% konsentrat
- Perlakuan B : A + Mineral S 0,08%, P0,11%, dan Zn 20 ppm
- Perlakuan C : B + 0,4% ragi tape
- Perlakuan D : B + 1% tepung indigofera
- Perlakuan E : A + B + C + D

Komposisi ransum perlakuan, nilai gizi bahan penyusun ransum dan komposisi nutrisi ransum perlakuan dapat dilihat pada tabel 1, 2 dan 3.

Tabel 1. Komposisi ransum perlakuan

Bahan	Proporsi (%)
Rumput Lapangan	42,00
Pod Kakao Fermentasi (<i>Theobroma cacao</i>)	18,00
Dedak Padi Halus	31,36
Ampas Tahu	8,00
Garam	0,32
Jumlah	100

Tabel 2. Nilai gizi bahan penyusun ransum

Bahan	Kadar dalam 100% Bahan Kering				
	BK (%)	BO (%)	LK (%)	SK (%)	PK (%)
R. Lapangan	17,81	89,32	0,98	42,91	8,53
PKF	14,52	88,12	2,54	45,35	8,29
Dedak	87,23	91,31	9,32	19,96	12,04
Ampas Tahu	8,07	99,48	2,80	20,11	18,95
Indigofera	84,22	90,37	3,26	37,29	30,31
Ragi Tape	87,19	99,67	1,36	0,01	7,39

Keterangan: Hasil Analisis Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Pertanian dan Peternakan UNDIP (2016)

Tabel 3. Komposisi Nutrisi Ransum Perlakuan

Perlakuan	BK	BO	LK	SK	PK
A	38,74	89,43	4,02	34,06	10,37
B	38,94	89,43	4,02	34,06	10,37
C	39,29	90,12	4,03	34,06	10,40
D	39,79	90,63	4,05	34,43	10,68
E	40,13	91,03	4,06	34,43	10,71

Keterangan: Dihitung dari Tabel 1 dan Tabel 2

Pengambilan Data

Larutan *Mc dougall* sebagai buffer dibuat dengan komposisi sebagai berikut seperti terlihat pada Tabel 4. Semua bahan dilarutkan menjadi 1 liter aquades. Larutan buffer dipersiapkan sehari sebelum fermentasi, kemudian diletakkan dalam shaker waterbath pada suhu 39°C dan gas CO₂ dialiri selama 30-60 detik sehingga kondisi tetap anaerob dengan pH 6,8.

Variabel yang diamati terdiri atas Populasi Bakteri Rumen dan Populasi Bakteri Selulolitik.

Tabel 4. Komposisi larutan *Mc dougall*

Larutan	Gram/liter
NaHCO ₃	9,8
Na ₂ HPO ₄	3,71
KCL	0,57
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,12
NaCl	0,47

Sumber: Tilley and Terry (1963)

Populasi Bakteri Rumen

Populasi bakteri dihitung dengan metode pencacahan koloni bakteri hidup. Prinsip perhitungannya adalah cairan rumen diencerkan secara serial, lalu disimpan dalam tabung Hungate. Media tumbuh yang digunakan untuk menghitung populasi bakteri total adalah media BHI (Brain Heart Infusion). Pembuatan media BHI yaitu dengan cara mencampurkan bahan-bahan seperti BHI powder, glukosa, sellulobiosa, pati, cystein, hemin dan resazurin, kemudian dimasukkan ke dalam botol yang telah disterilkan dengan autoclave. Campuran tersebut dipanaskan sampai terjadi perubahan warna dari coklat kekuningan menjadi coklat kemerahan dan berubah kembali menjadi coklat kekuningan, setelah itu didinginkan dan dialiri dengan gas CO₂. Media BHI anaerob dimasukkan ke dalam tabung Hungate yang sebelumnya telah diisi bacto agar sebanyak 0,150gram dengan volume masing – masing 4,9 ml. Sampel (cairan rumen yang telah mengalami perlakuan dan inkubasi 4 jam) dipipet 0,05 ml dimasukkan ke dalam media pengencer. Pengenceran dilakukan sebagai berikut: 0,05 ml kultur bakteri dimasukkan ke dalam 4,95 ml media pengencer.

Penghitungan populasi bakteri dilakukan dengan rumus:

$$\text{Populasi bakteri} = n \times 10^{0,05} \times 0,1 \frac{\text{CFU}}{\text{MC}}$$

Keterangan:

n : Jumlah koloni yang terdapat pada tabung seri pengencer ke x

CFU : Colony Forming Units

MC : Larutan

Populasi Bakteri Selulolitik

Penghitungan ini dapat menggunakan haemactometer, petroff-hausser bacteri counter, dan alat-alat lain sejenisnya, dasar penghitungan ialah dengan menempatkan 1 tetes suspensi bahan atau biakan mikroba pada alat tersebut, di tutup dengan gelas penutup kemudian di amati dengan mikroskop dengan pembesaran sesuai dengan besar kecilnya mikroba, dengan menentukan jumlah sel rata-rata tiap petak (ruangan) yang telah diketahui volumenya dan alat tersebut dapat ditentukan jumlah sel mikroba tiap cc (Jutono, et al., 1980).

Sampel yang tersedia dibuat pengenceran 102 dengan cara 1 gr sampel diencerkan dengan 99 ml aquadest steril. Hasil pengenceran diambil 1 ml untuk diinokulasikan didalam media CMC agar yang bersuhu jurang dari 45oC sebanyak kurang lebih 15 ml dengan metode tuang (pour plate). Pencampuran dilakukan dengan cara memutar cawan petri, setelah dingin cawan petri diinkubasikan pada suhu ruang selama 3 hari.

Hasil positif dinyatakan dengan adanya zona bening (clear zone) di sekitar koloni. Setelah pengujian zona bening, dihitung persentase bakteri selulolitik dengan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah Koloni Bakteri Selulolitik}}{\text{Total Keseluruhan Koloni Bakteri}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANAVA. Apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan, dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Steel dan Torrie 1991).

HASIL DAN PEMBAHASA

Populasi Bakteri Rumen

Rata-rata populasi bakteri rumen yang di beri perlakuan dalam penelitian di tampilkan pada Tabel 5 dibawah ini:

Tabel 5. Tabel rata-rata populasi bakteri rumen hasil (log)

Perlakuan	Rata-rata
A	5,75 ^a
B	5,86 ^a
C	6,27 ^{ab}
D	7,06 ^b
E	8,65 ^c

Keterangan : Superkrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil analisis sidik ragam menyatakan bahwa suplementasi mineral pada pod kakao fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap populasi bakteri rumen. Uji lanjut DMRT memperlihatkan bahwa perlakuan A, B dan C tidak berbeda nyata tetapi berbeda dengan perlakuan D dan E.

Hasil penelitian ini memperlihatkan terjadinya peningkatan populasi bakteri rumen dengan suplementasi mineral (perlakuan B), hal ini membuktikan bahwa mineral S dan P esensial untuk bakteri rumen, seperti di ketahui sekitar 80% dari total P pada bakteri terdapat dalam asam nukleat dan 10% dalam bentuk fosfolipid. (Ruckebuch dan Thivend., 1980). Peningkatan populasi bakteri rumen terbaik pada penelitian ini terdapat pada perlakuan E (8,65 %) dengan suplementasi S+P. Adanya penambahan *S. cereviceae* sebagai sumber probiotik pada penelitian ini menyebabkan populasi mikroba rumen dapat berkembang dan proses fermentasi di dalam rumen dapat berjalan dengan optimal sehingga populasi bakteri rumen yang dihasilkan dapat meningkat. Hasil penelitian (Kamel, et al., 2000) menunjukkan bahwa penambahan *S. cereviceae* akan menstimulasi proliferasi (pembelahan) mikroba rumen yang dapat mempengaruhi peningkatan pencernaan dinding sel dan mengubah pola fermentasi rumen. Meningkatnya populasi bakteri rumen memberikan manfaat ganda, di satu sisi akan meningkatkan pencernaan pada serat karena meningkatnya jumlah enzim yang dihasilkan oleh mikroba, disisi lain juga meningkatnya suplai protein mikroba bagi induk semang. (Nurhaita, et al., 2008). Suplementasi Mineral S+P pada perlakuan E mampu meningkatkan total populasi bakteri rumen sebesar (8,65 %) di bandingkan dengan perlakuan A (5,75 %)

dan perlakuan B (5,86 %) hal ini senada dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Nurhaita dan Rusmana, 2011) bahwa suplementasi mineral sulfur dan fosfor mampu meningkatkan populasi bakteri rumen, Suplementasi mineral sulfur dan fosfor memberikan pengaruh positif terhadap total populasi bakteri rumen yang pada gilirannya akan berpengaruh terhadap pencernaan

Populasi Bakteri Selulolitik

Rata-rata populasi bakteri selulolitik yang diberi perlakuan dalam penelitian ditampilkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata populasi bakteri Selulolitik (log)

Perlakuan	Rata-rata
A	4,80a
B	5,78b
C	6,15b
D	7,66c
E	8,60d

Keterangan : Superkrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil analisis sidik ragam menyatakan bahwa suplementasi mineral pada pod kakao fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap populasi bakteri selulolitik. Uji lanjut DMRT memperlihatkan bahwa perlakuan E, D dan A tidak berbeda nyata tetapi berbeda dengan perlakuan B dan C.

Perlakuan A (kontrol), penambahan mineral pada perlakuan B tidak berpengaruh terhadap Populasi mikroba selulolitik, hal ini mungkin di sebabkan karena level penggunaan atau level penambahan mineral pada penelitian ini masih sangat sedikit. Fungsi mineral S (0,108), P (0,08), dan Zn (20 ppm), Fungsi utama Mineral Sulfur adalah untuk menyokong pembentukan asam amino yang mengandung sulfur dan sintesa protein mikroba, disamping itu juga penting untuk sintesa beberapa vitamin (thiamin dan biotin) serta coenzym. Mineral Phospor mempunyai fungsi sangat penting bagi tubuh ternak diantara elemen mineral lainnya. Dan

Mineral Zn berfungsi sebagai aktifator yang banyak melibatkan enzim dan berpengaruh terhadap sintesa protein, proses pencernaan, absorbs, system imunitas, dan metabolisme energy.

Hasil terbaik pada penelitian (Nurhaita, et al., 2015) Tahun 1 tahap ke 2 memperlihatkan suplementasi S, P, dan Zn mampu meningkatkan bio proses dalam rumen, terlihat dari meningkatnya kecernaan bahan organik dan bahan kring, dan mampu mempertahankan kondisi rumen yang optimal untuk perkembangan dan aktivitas mikroba. Namun, tidak berpengaruh terhadap populasi mikroba rumen. Kondisi populasi bakteri selulolitik rumen pada penelitian ini dengan rata-rata 8,60 yang dinyatakan baik karena pada populasi bakteri selulolitik tersebut mikroba penghasil enzim pencernaan serat dapat hidup secara optimal di dalam rumen. Dapat dilihat pada perlakuan E, D dan A (suplementasi mineral A + B + Mineral + Probiotik + *By-Pass* Protein) memiliki populasi bakteri selulolitik yang tinggi yaitu 8,60, sedangkan perlakuan A dan B memiliki populasi bakteri selulolitik relatif lebih rendah yaitu 4,80 dan 5,78 di bandingkan dengan perlakuan C yaitu 6,15 perlakuan dengan probiotik relatif lebih tinggi jumlah populasi bakteri selulolitik di bandingkan pada perlakuan E, D dan A meskipun tidak berbeda nyata antara perlakuan. Hasil ini sesuai dengan penelitian (Gusasi., 2014) yang menyatakan tidak berpengaruh nyata pada populasi bakteri selulolitik dengan fermentasi pod kakao.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemanfaatan Pod kakao fermentasi dengan suplementasi mineral fosfor (P), sulfur (S), dan Zn), *by-pass* protein dan probiotik mampu meningkatkan populasi bakteri total dan bakteri selulolitik rumen secara *In-vitro*. Perlakuan terbaik adalah pada Perlakuan E yaitu suplementasi mineral dengan probiotik dan *by-pass* protein.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik

kepentingan dalam penulisan paper ini baik antar individu maupun individu dengan kelompok atau instansi.

DAFTAR PUSTAKA

- Dinas perkebunan. 2014. Statistik Perkebunan Provinsi Bengkulu. Pemerintahan Daerah Provinsi Bengkulu: Bengkulu.
- Gusasi, A. 2014. Nilai pH, Produksi Gas, Konsentrasi Amonia dan VFA Sistem Rumen In Vitro Ransum Lengkap Berbahan Jerami Padi, Daun Gamal dan Urea Mineral Molases Liquid. Makasar: Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
- Jutono, Hartati, S., Soesanto, Joedoro, S., Kabirun, S., & Suhadi D. 1980. Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum. Departemen mikrobiologi fakultas pertanian UGM. Yogyakarta.
- Kamel, H. E. M., El-Waziry, A. M., & Sekine, J. 2000. Effect of *Saccharomyces Cerevisiae* on Fibre Digestion and Ruminant Fermentation in Sheep Fed Berseem Hay (*Trifolium alexandrinum*) as a Sole Diet. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.*, 139-142.
- Nurhaita, Jamarun, N., Saladin, R., Warly, L., & Mardiaty, Z. 2008. Efek Suplementasi Mineral Sulfur dan Fosfor pada Daun Sawit Amoniasi terhadap Kecernaan Zat Makanan secara In-vitro dan Karakteristik Cairan Rumen. *J. Pengembangan Peternakan Tropis*, 33: 51-58.
- Nurhaita & Rusmana, W. S. N. 2011. Efek Suplementasi Daun Ubi Kayu terhadap Kecernaan dan Karakteristik Cairan Rumen (in-vitro) Daun sawit Amoniasi. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 13(1): 43-47.
- Nurhaita, Neli, D., & Suliasih. 2015. Fermentation with Local Microorganism to Improve Pod Cacao Quality as Ruminants Feed. International Seminar on Promoting Local Resources for Food and Health, 12-13 October 2015, Bengkulu, Indonesia
- Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik. Jakarta (ID): PT Gramedia Pustaka
- Tilley, J. M. A., & Terry, R. A. 1963. A Two Stage Technique For The In Vitro Digestion Of Forage Crops. *J. Brit. Grassland Sci.*, 18:104-111.