

**PENGARUH SUBSTITUSI RUMPUT LAUT *Eucheuma cottonii* DALAM
PAKAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum*) TERHADAP
KONSENTRASI VFA PARSIAL DAN ESTIMASI PRODUKSI GAS
METANA SECARA *IN-VITRO***

SKRIPSI

Oleh

Denis Hikmawan



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

PENGARUH SUBSTITUSI RUMPUT LAUT *Eucheuma cottonii* DALAM PAKAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum*) TERHADAP KONSENTRASI VFA PARASIAL DAN ESTIMASI PRODUKSI GAS METANA SECARA *IN-VITRO*

Oleh

Denis Hikmawan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh substitusi rumput laut *eucheuma cottonii* dalam pakan rumput gajah terhadap konsentrasi *volatile fatty acid* (VFA) parsial dan estimasi produksi gas metana secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi, Balai Penelitian Ternak, Ciawi Bogor pada Oktober sampai November 2018. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu P0 = Rumput Gajah 100%; P1 = Rumput Gajah 96% + *E. cottonii* 4%; P2 = Rumput Gajah 92% + *E. cottonii* 8%; dan P3 = Rumput Gajah 88% + *E. cottonii* 12%. Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut beda nyata terkecil. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa substitusi rumput laut *Eucheuma cottonii* dengan rumput gajah memberikan pengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap VFA total, proporsi asam asetat, propionat, butirat, dan estimasi produksi gas metana dan terdapat dosis terbaik pemberian rumput laut *Eucheuma cottonii* yaitu pada dosis 4% dalam menurunkan produksi gas metana walaupun diiringi dengan penurunan VFA total dan VFA parsial.

Kata kunci : *volatile fatty acid* (VFA), gas metana, rumput laut, rumput gajah,
in vitro

ABSTRACT

EFFECT OF *Eucheuma cottonii* SEAWEED SUBSTITUTION IN ELEPHANT GRASS (*Pennisetum purpureum*) ON *IN VITRO* INDIVIDUAL VFA AND METHANE GAS PRODUCTION ESTIMATION

By

Denis Hikmawan

The objective of this study was to determine effect of *Eucheuma cottonii* seaweed substitution in elephant grass on *in vitro* individual VFA and methane gas production estimation. This *in vitro* research was conducted in Laboratory of Nutrition of Indonesia Livestock Research Institute (ILRI), Ciawi, Bogor from October to November 2018. This research used Completely Randomized Design with 4 treatments and 3 replications. The treatments were P0 = Elephant Grass 100%; P1 = Elephant Grass 96% + *E. cottonii* 4%; P2 = Elephant Grass 92% + *E. cottonii* 8%; dan P3 = Elephant Grass 88% + *E. cottonii* 12%. The data obtained were analyzed using covariance and continued with the Least Significance Difference (LSD) test. The results showed that *Eucheuma cottonii* seaweed substitution level in elephant grass has highly significant effect ($P<0,01$) on total VFA, acetate, propionate, butyrate acid proportion and methane gas production estimation. Moreover, there is the best level of *Eucheuma cottonii* seaweed in decreasing methane gas production estimation on 4% level although total VFA and individual VFA are also decreasing.

Keywords : volatile fatty acid (VFA), methane gas, seaweed, elephant grass, *in vitro*

**PENGARUH SUBSTITUSI RUMPUT LAUT *Eucheuma cottonii* DALAM
PAKAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum*) TERHADAP
KONSENTRASI VFA PARSIAL DAN ESTIMASI PRODUKSI GAS
METANA SECARA *IN-VITRO***

Oleh

DENIS HIKMAWAN

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA PETERNAKAN**

Pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi

: PENGARUH SUBSTITUSI RUMPUT LAUT
Eucheuma cottonii DALAM PAKAN RUMPUT
GAJAH (*Pennisetum purpureum*) TERHADAP
KONSENTRASI VFA PARASIAL DAN ESTIMASI
PRODUKSI GAS METANA SECARA IN-VITRO

Nama Mahasiswa

Denis Hikmawan

No. Pokok Mahasiswa

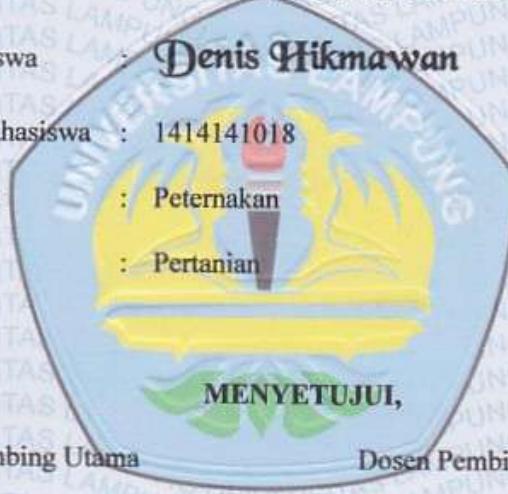
: 1414141018

Program Studi

: Peternakan

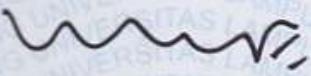
Fakultas

: Pertanian



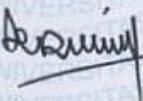
Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota


Dr. Ir. Erwanto, M.S.
NIP 19610225 198603 1 004


Prof. Dr. Ir. Muhtarudin, M.S.
NIP 19610307 198503 1 006

Ketua Jurusan Peternakan



Sri Suharyati, S.Pt., M.P.
NIP 19680728 199402 2 0029

MENGESAHKAN

I. Tim Pengudi

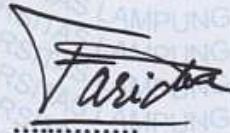
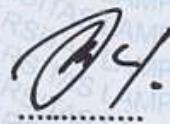
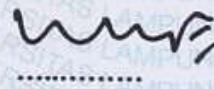
Ketua : **Dr. Ir. Erwanto, M.S.**

Sekretaris

Pengudi
Bukan Pembimbing

: **Prof. Dr. Ir. Muhtarudin, M.S.**

: **Dr. Ir. Farida Fathul, M.Sc.**



2 Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **10 April 2019**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandarlampung pada 10 Juni 1996, putra kedua dari tiga bersaudara, anak pasangan Bapak Imat Hikmat dan Ibu Anna Dwi Koriyati. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN Lengkong Besar 105/5 Bandung pada 2008; sekolah menengah pertama di SMPN 3 Bandung pada 2011; sekolah menengah atas di SMAN 7 Bandung pada 2014. Pada 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama masa studi penulis pernah aktif pada berbagai organisasi yaitu menjadi Ketua Bidang Pengembangan dan Penelitian di Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET) Unila periode 2016-2017 dan Majelis Pekerja Nasional di Ikatan Senat Mahasiswa Peternakan Indonesia (ISMAPETI) periode 2016-2018. Penulis juga pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Bahasa Inggris, Bahan Pakan dan Formulasi Ransum, dan Biologi Ternak. Penulis pernah dinobatkan sebagai Duta Mahasiswa Fakultas Pertanian pada 2016 dan Mahasiswa Berprestasi I tingkat Fakultas Pertanian pada 2017.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Pesanguan, Kecamatan Pematang Sawah, Kabupaten Tanggamus pada Januari – Maret 2018 dan melaksanakan Praktik Umum di Lakefield Station, Northern Territory, Australia melalui program Northern Territory Indonesia Australia Pastoral Program (NIAPP) pada 2016.

Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu yang menciptakan.
Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah dan
Tuhanmu lah yang pemurah yang mengajar (manusia) dengan
perantara kalam. Dia yang telah mengajarkan manusia apa yang
tidak diketahui.

(Q.S. Al-Alaq 1 – 5)

Sebaik-baiknya manusia adalah yang paling bermanfaat bagi
manusia lainnya.

(Rasullulah SAW)

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka
apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah
bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada
tuhanmulah engkau berharap

(Q.S. Al-Insyirah 6—8)

Datanglah ke pinggir.

Tidak, nanti kami jatuh.

Datanglah ke pinggir.

Tidak, nanti kami jatuh.

Mereka datang ke pinggir.

Ia mendorong mereka dan mereka terbang.

(Guillaume Apollinaire)



Alhamdullilahirabbil'alaamiin...

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia, dan hidayah-Nya serta suri tauladanku Nabi Muhammad SAW yang menjadi pedoman hidup dalam berikhtiar dan pemberi syafaat di akhir zaman nanti

Mamah yang tecinta dan Bapak yang terbaik terima kasih atas segala doa, dukungan, dan perjuangan kalian yang telah membawaku menuju jalan kesuksesan

Untuk saat ini hanya inilah yang mampu kubuktikan kepada kalian bahwa aku tak pernah lupa akan peluh dan keringat yang jatuh dalam memperjuangkanku, bahwa aku tak pernah lupa nasihat dan dukunganmu, bahwa aku tak pernah lupa segalanya

Saya persembahkan karya yang sederhana ini kepada :
Mamah (Anna Dwi Koriyati), Bapak (Imat Hikmat), Kakak Delis Permatasari, Adik Dekis Aldamawan, Guru, Dosen, serta teman seperjuangan atas waktu, motivasi, dan pengorbanan kalian yang telah membantuku menyelesaikan skripsi ini

Serta

Almamater tercinta yang membentukku menjadi pribadi yang lebih dewasa dalam berpikir, berucap, dan bertindak

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Substitusi Rumput Laut *Eucheuma cottonii* dalam Pakan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) terhadap Konsentrasi VFA Parsial dan Estimasi Produksi Gas Metana secara *in-vitro*.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini terdapat banyak bantuan dari berbagai pihak, sehingga penulis berterima kasih atas bimbingan, arahan dan bantuan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.--selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung-- yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian dan mengesahkan skripsi ini;
2. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P.--selaku Ketua Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung--yang telah memberikan arahan, nasihat, dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini;
3. Bapak Dr. Ir. Erwanto, M.S. -- selaku Pembimbing Utama-- atas nasihat, saran, dan arahan kepada penulis selama penelitian berlangsung hingga selesainya skripsi ini;

4. Bapak Prof. Dr. Ir. Muhtarudin, M.S. – selaku Pembimbing Anggota – atas arahan, saran, serta motivasi yang selalu diberikan selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini;
5. Ibu Dr. Ir. Farida Fathul, M.Sc.—selaku Pembahas—atas bantuan, petunjuk, kritik, saran, motivasi, dan bimbingan yang diberikan selama penyelesaian skripsi ini;
6. Ibu Dr. Ir. Rr Riyanti., M.P. --.selaku Pembimbing Akademik--, atas nasihat dan bimbingan;
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan, atas semua nasihat dan ilmu yang penulis terima selama menjadi mahasiswa;
8. Bapak Imat Hikmat, Ibu Anna Dwi Koriyati, Teteh Delis Permatasari, dan Dekis Aldamawan yang selalu menyayangi, mendoakan, dan memberi motivasi penulis, serta seluruh Keluarga Besar yang selalu mendukung, menyayangi dan memberikan kasih sayang kepada penulis;
9. Ibu Dr. Ir. RA Yeni Widiawati dan Prof. Dr. Ir. Mohammad Winugroho, M.Sc atas bimbingan, arahan, dan nasihat selama melaksanakan penelitian di Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor;
10. Ibu Ari, Ibu Winwin, dan Mba Qoni yang telah membantu melakukan penelitian dan analisis di Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor;
11. Kang Iyan yang telah memberikan kebaikannya dalam membantu pelaksanaan analisis dan sambutan hangatnya selama penelitian di Bogor;
12. Teman-teman Delegasi Program NIAPP (*Northern Territory Cattlemen's Association Indonesia Australia Pastoral Program*) 2016 atas kebersamaan dan kenangan selama di Australia;

13. Rekan-rekan Peternakan 2014 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, atas kebersamaan selama ini. Semoga kita dapat menggapai impian dan cita-cita kita serta dipertemukan kembali dalam keadaan sehat dan sukses;
14. Seluruh Kakak tingkatku : 2013, 2012, 2011 serta adik tingkatku 2015 dan 2016 atas bantuan yang diberikannya selama ini terutama dalam mendukung Penulis menyelesaikan skripsi ini;
15. Semua orang yang telah mengisi kehidupan dan menemani Penulis meskipun dari kejauhan dengan segala kasih sayang, dukungan, dan kenangan indah yang hanya menjadi persinggahan yang tidak dapat terlupa.

Akhir kata, penulis hanya bisa mendoakan semoga segala dukungan baik moril, maupun materil yang telah penulis terima dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga mendapat balasan yang berlipat dari Allah SWT. Aamiin.

Bandar Lampung, Januari 2019

Denis Hikmawan

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	v

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Kegunaan Penelitian.....	4
D. Kerangka Pemikiran.....	5
E. Hipotesis	8

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Proses Pencernaan Rumen dan Proses Pembentukan Gas Metana	9
B. Rumput Laut <i>Eucheuma cottonii</i>	12
C. Rumput Gajah (<i>Pennisetum purpureum</i>).....	16
D. <i>Volatile Fatty Acid</i> (VFA).....	17
E. Gas Metana.....	19

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat	22
---------------------------	----

B. Bahan dan Alat Penelitian	22
B.1. Bahan Penelitian.....	22
B.2. Alat Penelitian.....	22
C. Metode Penelitian.....	24
D. Peubah yang Diamati	25
D.1. VFA Parsial.....	25
D.2. Estimasi Produksi Gas Metana.....	26
E. Pelaksanaan Penelitian	26
E.1. Persiapan Hijauan Rumput Gajah.....	26
E.2. Persiapan Rumput Laut <i>E.cottonii</i>	26
E.3. Persiapan Sampel.....	26
F. Prosedur Penelitian	27
F.1. Persiapan Media Inkubasi dan Sampel.....	27
F.2. Persiapan Cairan Rumen dan Proses Inkubasi.....	29
G. Analisis Data	30

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengaruh Ransum Perlakuan terhadap VFA Parsial.....	31
B. Pengaruh Ransum Perlakuan terhadap Estimasi Produksi Gas Metana.	38

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	41
B. Saran	41

DAFTAR PUSTAKA 42

LAMPIRAN..... 50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik dari rumput laut pada masing-masing kelas.....	13
2. Kandungan nutrisi rumput laut <i>Eucheuma cottonii</i>	15
3. Kandungan nutrisi rumput gajah (%BK)	16
4. Alat-alat penelitian yang digunakan	23
5. Komposisi media inkubasi	28
6. Pengaruh ransum perlakuan terhadap rataan produk VFA Total, VFA parsial dan gas metana	31
7. Kandungan nutrisi bahan pakan penelitian	51
8. Data VFA total	51
9. Hasil anova VFA total.....	51
10. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) VFA total	51
11. Data asam asetat (C_2)	52
12. Hasil anova asam asetat (C_2).....	52
13. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) asam asetat (C_2)	52
14. Data asam propionat (C_3).....	53
15. Hasil anova asam propionat (C_3)	53
16. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) asam propionat (C_3).....	53
17. Data asam butirat (C_4).....	54

18. Hasil anova asam butirat (C_4)	54
19. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) asam butirat (C_4).....	54
20. Data nisbah C_2/C_3	55
21. Hasil anova nisbah C_2/C_3	55
22. Data estimasi produksi gas metana	56
23. Hasil anova estimasi produksi gas metana.....	56
24. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) estimasi produksi gas metana	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema fermentasi karbohidrat dalam rumen.....	12
2. <i>Eucheuma cottonii</i>	15
3. Jejak konsentrasi gas metana secara global dari tahun ke tahun.....	19
4. Sumber gas metana dari manusia.....	20
5. Proses penimbangan dan pengeringan rumput laut.....	57
6. Proses pengeringan rumput laut dengan oven.....	57
7. Pemasukan bahan ke dalam botol kultur.....	58
8. Pengambilan cairan rumen	58
9. Pemberian Gas CO ₂ ke dalam botol kultur	59
10. Proses fermentasi <i>in vitro</i> dalam <i>waterbath</i>	59
11. Proses pengambilan gas dari botol kultur	60
12. Alat <i>gas chromatography</i>	60

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Peningkatan jumlah penduduk yang cepat dan masif akan terus terjadi di dunia. FAO (2009) memperkirakan pada tahun 2011 jumlah penduduk dunia mencapai 7 miliar jiwa dan akan menjadi 9 miliar pada tahun 2050. Sementara itu, Badan Pusat Statistik (2014) memprediksi jumlah penduduk Indonesia pada tahun 2035 akan mencapai 305 juta jiwa dari sekitar 238 juta jiwa pada tahun 2010. Data ini menunjukan bahwa kebutuhan pangan akan semakin meningkat seiring dengan kenaikan jumlah penduduk.

Peternakan yang menjadi salah satu bagian ruang lingkup pertanian memiliki peranan yang vital dalam memenuhi kebutuhan pangan dunia tersebut. Berdasarkan data tahun 2005, asupan protein hewani rata-rata dunia adalah 23,9 g/kapita/hari, negara maju 49,8 g/kapita/hari dan negara berkembang 17,4 g/kapita/hari (FAO, 2009). Bahkan permintaan daging akan meningkat pesat, pada tahun 2050 konsumsi daging diperkirakan akan meningkat sebesar 76 persen dibandingkan konsumsi pada rentang tahun 2005 – 2007 (FAO, 2012). Namun, seiring dengan peningkatan pembangunan peternakan dalam memenuhi kebutuhan pangan dunia terdapat suatu masalah yang cukup kompleks.

Hal tersebut adalah gas emisi rumah kaca yang dihasilkan oleh industri peternakan khususnya ruminansia (sapi, domba, dan kambing). Metana (CH_4) dan karbondioksida (CO_2) merupakan hasil samping dalam proses pencernaan dalam rumen ruminansia. CH_4 dan CO_2 dikeluarkan melalui sendawa dan feses hewan.

Gas CH_4 dan CO_2 termasuk dalam bagian gas rumah kaca dan memiliki dampak buruk kepada lingkungan. Gas rumah kaca yang meningkat menjadi salah satu penyebab perubahan iklim dunia. Pertama kali dalam abad ke-21, tercatat sebagai suhu tertinggi dunia yang terjadi pada tahun 2010 dan 2015 (NASA, Januari 2013). World Bank (2012) melaporkan suhu dunia akan lebih tinggi 4°C yang akan mengakibatkan temperatur ekstrim, kelangkaan stok pangan dan naiknya permukaan laut. Hal tersebut akan terjadi jika tidak ada upaya apapun oleh manusia untuk mengurangi gas rumah kaca.

Gas rumah kaca yang dihasilkan oleh industri peternakan dunia menyumbang sebesar 14,5 persen dari total gas rumah kaca dunia. Angka tersebut lebih besar dibandingkan gas rumah kaca yang dihasilkan oleh transportasi termasuk mobil, kereta api dan pesawat terbang yang menyumbang gas rumah kaca sebesar 13 persen (FAO, 2013). Oleh karena itu, diperlukan upaya mengurangi gas rumah kaca khususnya di sektor peternakan. Semakin lama upaya mengurangi gas rumah kaca maka semakin sulit peluang untuk menstabilkan suhu dunia (Stocker, 2013). Produksi gas metana sangat erat kaitannya dengan produksi gas CO_2 dan dua jenis asam lemak terbang yaitu asam asetat dan asam butirat. Dalam pembentukan gas metana bakteri *methanogenes* secara intensif akan menggunakan H_2 yang diperoleh dari format dan dari asam asetat dan butirat (Church, 1976). Sedangkan

asam propionat adalah satu-satunya asam lemak terbang yang tidak ada kaitannya dengan produksi gas metana. Gas CO₂ dihasilkan pada saat produksi asam propionat, sehingga pakan yang banyak menghasilkan asam propionat akan menghasilkan banyak CO₂. Hal ini mengindikasikan bahwa komposisi asam lemak terbang yang dihasilkan selama proses fermentasi pakan di dalam rumen akan berpengaruh terhadap produksi gas metana. Baker (1997) menjelaskan bahwa gas metana yang diproduksi dalam rumen merefleksikan kehilangan energi pakan yang dikonsumsi ternak yang mengindikasikan rendahnya efisiensi penggunaan pakan oleh ternak.

Rumput laut sebagai salah satu komiditi unggulan Indonesia menyimpan potensi besar sebagai pakan ternak. Selain itu, rumput laut dapat menekan gas rumah kaca pada rumen. *Asparagopsis taxiformis* (Rhodophyta) merupakan spesies rumput laut yang dapat menekan produksi gas metana pada rumen sapi secara *in vitro* (Kinley *et al.*, 2016). *Asparagopsis* sangat efektif karena mengandung senyawa kimia yang disebut dengan bromoform (CHBr₃) yang dapat memanipulasi mikroba pencerna enzim yang bertanggung jawab atas produksi metana. Selain itu, jenis rumput laut lain seperti *Gigartina sp*, *Ulva sp*, *Saccharina latissima*, dan *Laminaria ochroleuca*, dan *Gracilaria vermiculophylla* juga efektif menurunkan produksi gas metana pada rumen sapi (Maia *et al.*, 2016).

Eucheuma cottonii merupakan spesies rumput laut yang banyak dibudidayakan di perairan Indonesia. Hal tersebut dikarenakan manfaat pikokoloidnya yang besar yaitu karaginan dan agar serta teknik budidayanya yang relatif mudah dan murah. *Eucheuma cottonii* merupakan rumput laut merah (Rhodophyta) yang kaya akan pigmen fotosintesis dan pigmen aksesoris lainnya, yaitu klorofil a, -karoten, -

karoten, fikobilin, neozantin dan zeanthin (Luning, 1990). Belum ada studi yang menyelidiki pengaruh penambahan rumput laut ini pada produksi gas metana dalam rumen. Namun, karena rumput laut ini berada satu kelas dengan *Asparagopsis taxiformis* maka dapat dihipotesiskan bahwa *Eucheuma cottonii* memiliki efek yang sama dengan *Asparagopsis taxiformis*.

Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan rumput laut *Eucheuma cottonii* terhadap konsentrasi VFA parsial dan estimasi produksi gas metana secara *in-vitro*.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. mengetahui pengaruh tingkat substitusi rumput laut *Eucheuma cottoni* dalam pakan rumput gajah terhadap konsentrasi *Volatile Fatty Acid* (VFA) parsial dan estimasi gas metana dalam rumen.
2. mengetahui dosis rumput laut *Eucheuma cottonii* dalam pakan rumput gajah yang terbaik terhadap konsentrasi *Volatile Fatty Acid* (VFA) parsial dan penurunan nilai estimasi produksi gas metana dalam rumen

C. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi tentang pengaruh pemberian rumput laut *Eucheuma cottonii* terhadap konsentrasi VFA parsial dan estimasi produksi gas metana rumen dan jika terdapat pengaruh nyata

maka diharapkan penggunaan rumput laut dapat menekan efek rumah kaca dan perubahan iklim global.

D. Kerangka Pemikiran

Pada proses pencernaan fermentatif di dalam rumen karbohidrat struktural berupa serat (selulosa dan hemiselulosa) dan karbohidrat sederhana yang fermentable (gula, pati) mengalami fermentasi anerob oleh mikroba rumen menjadi asam-asam lemak terbang (VFA), gas metana (CH_4) dan gas karbondioksida (CO_2). Sebagian VFA akan diserap melalui dinding rumen, lalu masuk ke dalam aliran darah dan menjadi sumber energi utama bagi sel-sel tubuh (Erwanto, 1995). Sutton (1986) melaporkan bahwa pada ternak ruminansia asam lemak terbang meliputi sekitar 50% dari energi pakan yang tercerna. Meskipun kontribusi proses pencernaan fermentatif cukup besar, tetapi pada tahap tersebut sebagian energi pakan terbuang sebagai gas metana dan panas fermentasi. Van Nevel dan Dobney (1996) menyatakan bahwa gas metana merupakan gas rumah kaca dan merepresentasikan kehilangan 2 – 15% *gross energy* (GE) dalam pakan. Melalui proses metanogenesis oleh bakteri metanogenik, CO_2 direduksi dengan H_2 membentuk CH_4 , yang keluar melalui eruktasi (sekitar 83%), pernapasan (sekitar 16%) dan anus (sekitar 1%) (Vlaming, 2008).

Produksi gas metana sangat erat kaitannya dengan produksi gas CO_2 dan dua jenis asam lemak terbang yaitu asam asetat dan asam butirat. Dalam pembentukan gas metana bakteri *methanogenes* secara intensif akan menggunakan H_2 yang diperoleh dari format dan dari asam asetat dan butirat (Church, 1976). Sedangkan

asam propionat adalah satu-satunya asam lemak terbang yang tidak ada kaitannya dengan produksi gas metana. Gas CO₂ dihasilkan pada saat produksi asam propionat, sehingga pakan yang banyak menghasilkan asam propionat akan menghasilkan banyak CO₂. Hal ini mengindikasikan bahwa komposisi asam lemak terbang yang dihasilkan selama proses fermentasi pakan di dalam rumen akan berpengaruh terhadap produksi gas metana.

Asparagopsis taxiformis adalah salah satu genus dari alga merah (*Rhodophyta*) yang memiliki karakteristik aktivitas metabolisme sekunder antimikroba (Paul, *et al.*, 2006) yang memiliki potensi efek antimetanogenesis secara *in vitro* (Machado *et al.*, 2014). Menurut Kinley *et al.* (2016) pemberian 2 persen *Asparagopsis taxiformis* dapat menekan produksi gas metana pada rumen sapi secara *in vitro*. Hal tersebut diperkuat oleh Machado *et al.* (2013) bahwa *Asparagopsis* dapat menurunkan produksi CH₄ sebesar 98.9% setelah *in vitro* 72 jam selain itu pemberian *Asparagopsis* menunjukkan peningkatan konsentrasi molar propionat yang paling tinggi. *Asparagopsis* memiliki mekanisme pertahanan sekunder yang menghasilkan senyawa yang disebut bromoform (CHBr₃) yang secara alami terdapat pada makroalga (Paul, *et al.*, 2006). Selain itu, jenis rumput laut yang memiliki habitat di perairan Atlantik dan Mediterania seperti *Gigartina sp*, *Ulva sp*, *Saccharina latissima*, dan *Laminaria ochroleuca*, dan *Gracilaria vermiculophylla* juga efektif menurunkan produksi gas metana pada rumen sapi (Maia *et al.*, 2016).

Eucheuma cottonii merupakan spesies rumput laut yang banyak dibudidayakan di perairan Indonesia. *Eucheuma cottonii* merupakan rumput laut merah (*Rhodophyta*) yang kaya akan pigmen fotosintesis dan pigmen aksesoris lainnya, yaitu klorofil a, -karoten, - karoten, fikobilin, neozantin dan zeanthin (Luning, 1990). Rumput laut merah mengandung senyawa metabolit sekunder dalam bentuk yang berbeda misalnya terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid, dan alkaloid. Ekstrak rumput laut memungkinkan untuk digunakan sebagai sumber antioksidan, karena memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi lemak dan dapat mengurangi beberapa efek dari radikal bebas (Kurniawati *et al.*, 2016). Fenolik merupakan senyawa yang banyak terdapat pada hampir semua jenis rumput laut dan berpotensi sebagai antioksidan. Liem (2013) melaporkan Nilai IC₅₀ *Eucheuma cottonii* pada uji DPPH adalah 16,44 ppm, hal tersebut menunjukkan bahwa rumput laut tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Selain itu, *Eucheuma cottonii* memiliki kandungan *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) sebesar 51,55% (Matanjun *et al.*, 2007). Pemberian PUFA diketahui dapat mempengaruhi proses fermentasi rumen. Menurut Jalc dan Certik (2005), pemberian minyak yang kaya akan PUFA dapat mempengaruhi proses fermentasi rumen yang ditunjukan dengan penurunan asam asetat dan peningkatan asam propionat.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

1. terdapat pengaruh substitusi rumput laut *Eucheuma cottonii* dengan rumput gajah terhadap konsentrasi *Volatile Fatty Acid* (VFA) parsial dan estimasi gas metana dalam rumen.
2. terdapat dosis perlakuan terbaik dalam rumput laut *Eucheuma cottonii* dalam menurunkan estimasi produksi gas metana dalam rumen.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Proses Pencernaan Rumen dan Proses Pembentukan Gas Metana

Pencernaan adalah rangkaian proses perubahan fisik dan kimia yang dialami oleh bahan makanan di dalam alat pencernaan. Proses pencernaan makanan pada ternak ruminansia relatif lebih kompleks dibandingkan dengan proses pencernaan pada jenis ternak lainnya. Menurut Sutardi (1980) proses pencernaan pada ternak ruminansia terjadi secara mekanis (di dalam mulut), secara fermentatif (oleh enzim-enzim pencernaan hewan induk semang).

Organ pencernaan pada ternak ruminansia terdiri atas 4 bagian penting, yaitu mulut, perut, usus halus dan organ pencernaan bagian belakang (*hind gut*). Perut ternak ruminansia dibagi menjadi 4 bagian, yaitu retikulum (perut jala), rumen (perut beludru), omasum (perut buku), dan abomasum (perut sejati). Dalam studi fisiologi pencernaan ternak ruminansia, rumen dan retikulum sering dipandang sebagai organ tunggal dengan sebutan retikulorumen (Forbes dan France, 1993).

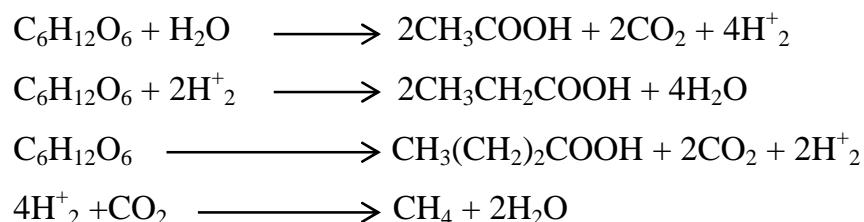
Ukuran rumen dan retikulum sangat besar, mencapai 15 – 22% dari bobot tubuh ternak (Sutardi, 1980). Jumlah tersebut meliputi sekitar 75% dari seluruh volume organ pencernaan ternak ruminansia (Van Soest, 1982). Retikulorumen dihuni oleh bermacam-macam mikroba. Dari segi pencernaan zat-zat makanan, peranan rumen memberi andil sekitar 40 – 70% dari angka kecernaan bahan organik

ransum (Hvelplund dan Madsen, 1985). Oleh karena itu, rumen dan retikulum merupakan bagian yang sangat penting dari organ pencernaan ruminansia.

Pada proses pencernaan fermentatif di dalam rumen karbohidrat struktural berupa serat (selulosa dan hemiselulosa) dan karbohidrat sederhana yang fermentabel (gula, pati) mengalami fermentasi anerob oleh mikroba rumen menjadi asam-asam lemak terbang (VFA), gas metana (CH_4) dan gas karbondioksida (CO_2). Sebagian VFA akan diserap melalui dinding rumen, lalu masuk ke dalam aliran darah dan menjadi sumber energi utama bagi sel-sel tubuh (Erwanto, 1995). Menurut Sutton (1986) pada ternak ruminansia asam lemak terbang meliputi sekitar 50% dari energi pakan yang tercerna. Meskipun kontribusi proses pencernaan fermentatif cukup besar, tetapi pada tahap tersebut sebagian energi pakan terbuang sebagai gas metana dan panas fermentasi.

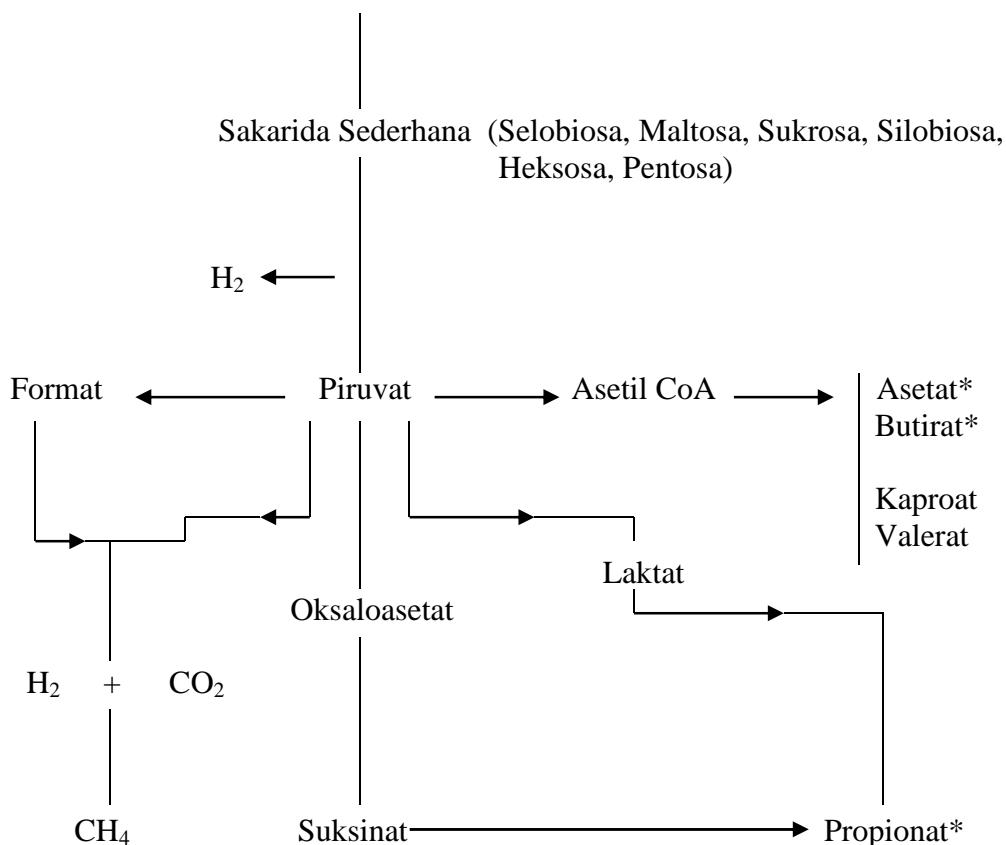
Proses fermentasi karbohidrat dalam rumenretikulum akan menghasilkan asam lemak terbang atsiri (asam lemak terbang, asam lemak bernatai pendek = *Volatile Fatty Acid* atau VFA) terutama asetat, propionat, n-butirat, laktat (dengan ransum yang kaya akan biji-bijian), dan format (dengan *hay* yang tua). Dengan karbohidrat yang mudah tercernakan (misalnya pati) rasio asetat, propionat menjadi kecil, sebaliknya dengan karbohidrat pembangun/struktural (misalnya selulosa dan hemiselulosa). Sebagian besar VFA tersebut diserap langsung melalui dinding rumen, hanya sedikit asetat, beberapa propionat dan sebagian besar butirat termetabolisme dalam dinding rumen. VFA yang terbentuk merupakan sumber energi utama (Parakkasi, 1999).

Termasuk dalam komponen asam lemak terbang rumen adalah asam asetat (CH_3COOH), asam propionat ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), asam butirat ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), asam valerat ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$) dan asam-asam lemak rantai cabang berasal dari katabolisme protein. Produk gas fermentasi meliputi gas CO_2 , gas CH_4 dan hidrogen (Erwanto, 1995). Gas-gas tersebut dikeluarkan dari dalam rumen melalui proses eruktasi. Stiokiometri reaksi fermentasi karbohidrat (heksosa) menjadi tiga produk fermentasi utama di dalam rumen dapat disederhanakan sebagai berikut (Orskov dan Ryle, 1990)



Dari stiokiometri reaksi tersebut di atas bahwa pada proses sintesis asam asetat banyak dihasilkan gas hidrogen. Demikian pula halnya pada proses sintesis asam butirat. Sebaliknya pada proses sintesis asam propionat, gas hidrogen banyak digunakan. Gas hidrogen bersama dengan gas CO_2 merupakan prekursor untuk sintesis gas metana. Gas metana sesungguhnya tidak bermanfaat bagi hewan induk semang. Berdasarkan proses tersebut maka pola fermentasi rumen yang mengarah kepada sintesis asam propionat jelas akan lebih menguntungkan dari segi efisiensi penggunaan energi pakan, karena dengan demikian produksi gas metana akan cenderung berkurang. Secara skematis proses degradasi dan fermentasi karbohidrat pakan di dalam rumen sapi diperlihatkan pada Gambar 1 (Russel dan Hespell, 1981)

Polimer Karbohidrat (Selulosa, Pati, Pektin, Hemiselulosa/Silan)



Gambar 1. Skema fermentasi karbohidrat dalam rumen

*) Produk akhir yang terakumulasi

Menurut Wolin (1979), tipikal stoikiometri reaksi untuk fermentasi pada rumen ialah :



B. Rumput Laut *Eucheuma cottonii*

Rumput laut atau *seaweed* merupakan salah satu tumbuhan laut yang tergolong dalam makroalga yang banyak hidup melekat di dasar perairan. Rumput laut merupakan ganggang yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi *thallophyta*.

Klasifikasi rumput laut berdasarkan kandungan pigmen terdiri dari 4 kelas, yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*) dan rumput laut pirang (*Chrysophyta*) sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik dari rumput laut pada masing-masing kelas

Jenis rumput laut	Pigmen	Zat penyusun dinding sel	Habitat
Hijau (<i>Chlorophyta</i>)	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i> dan karotenoid (siponaxantin, siponein, lutein, violaxantin, dan zeaxantin)	Selulosa	air asin; air tawar
Merah (<i>Rhodophyta</i>)	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>d</i> dan pikobiliprotein (pikoeritrin dan pikosianin)	CaCo ₃ (kalsium karbonat), selulosa dan produk fotosintetik berupa karaginan, agar, fulcellaran dan porpiran	laut; sedikit di air tawar
Coklat (<i>Phaeophyta</i>)	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>c</i> (<i>c₁</i> dan <i>c₂</i>) dan karotenoid (fukoxantin, violaxantin, zeaxantin)	Asam alginat	Laut
Pirang (<i>Chrysophyta</i>)	karoten, xantofil	Silikon	laut, air tawar

Sumber : Kimball, 1992; Pelczar dan Chan, 1986; Simpson, 2006

Alga ada dalam berbagai bentuk dan dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran (mikro dan makroalga), cara berfotosintesis dan pigmen aksesoris (hijau, merah dan coklat). Baik alga laut dan tawar telah digunakan untuk berbagai kebutuhan manusia, seperti kosmetik, makanan, dan produk obat-obatan. Alga memiliki potensi sebagai pakan tambahan untuk ternak (Paul dan Tseng, 2012). Aktivitas

metabolisme sekunder antimikroba telah diidentifikasi dalam alga hijau, merah dan coklat. (Blunt *et al.*, 2011).

Asparagopsis taxiformis adalah salah satu genus dari alga merah (*Rhodophyta*) yang memiliki karakteristik aktivitas metabolisme sekunder antimikroba (Paul, *et al.*, 2006) yang memiliki potensi efek antimetanogenesis secara *in vitro* (Machado *et al.*, 2014). Machado, *et al.* (2013) mengemukakan bahwa *Asparagopsis* dapat menurunkan produksi CH₄ sebesar 98.9% setelah *in vitro* 72 jam selain itu pemberian *Asparagopsis* menunjukkan peningkatan konsentrasi molar propionat yang paling tinggi. *Asparagopsis* memiliki mekanisme pertahanan sekunder yang menghasilkan senyawa yang disebut bromoform (CHBr₃) yang secara alami terdapat pada makroalga (Paul *et al.*, 2006).

Menurut Doty (1985), *Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (Rhodophyceae) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk fraksi kappa-karaginan. Maka jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii* (Doty 1986). Nama daerah ‘cottonii’ umumnya lebih dikenal dan biasa dipakai dalam dunia perdagangan nasional maupun internasional. Bentuk dan warna rumput laut *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Gambar 2. Klasifikasi *Eucheuma cottonii* menurut Doty (1985) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Rhodophyta
 Kelas : Rhodophyceae
 Ordo : Gigartinales
 Famili : Solieracea
 Genus : Eucheuma
 Species : *Eucheuma alvarezii* Doty



Gambar 2. *Euchema cottonii*
Sumber:<http://darsatop.lecture.ub.ac.id/>

Eucheuma cottonii merupakan spesies rumput laut yang banyak dibudidayakan di perairan Indonesia. Hal tersebut dikarenakan manfaat pikokoloidnya yang besar yaitu karaginan dan agar serta teknik budidayanya yang relatif mudah dan murah.

Eucheuma cottonii merupakan rumput laut merah (Rhodophyta) yang kaya akan pigmen fotosintesis dan pigmen aksesoris lainnya, yaitu klorofil a, -karoten, -karoten, fikobilin, neozantin dan zeanthin (Luning, 1990). Kandungan nutrisi rumput laut *Eucheuma cottonii* dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan nutrisi rumput laut *Eucheuma cottonii*

Komponen	Kandungan Nutrisi (%)	
	Kawaroe <i>et al.</i> (2017)	Liem (2013)
Kadar air	16,39	9,95
Kadar abu	14,39	17,69
Kadar lemak	1,03	0,53
Kadar protein	5,33	3,82
Serat kasar	2,77	4,15
karbohidrat	63,17	73,81

Sumber : Kawaroe *et al.* (2017), Liem (2013)

C. Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*)

Rumput gajah dipilih sebagai pakan ternak karena memiliki produktivitas yang tinggi dan memiliki sifat memperbaiki kondisi tanah (Handayani, 2002). Berikut merupakan klasifikasi dari rumput gajah:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Sub Kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Liliopsida (Monokotil)
 Sub Kelas : Commelinidae
 Ordo : Cyperales
 Famili : Poaceae (suku rumput-rumputan)
 Genus : *Pennisetum* Rich.
 Spesies : *Pennisetum purpureum* (USDA, 2012)

Kandungan protein pada daun rumput gajah lebih tinggi dibandingkan batang. Setiap peningkatan umur atau dilakukan penundaan pemotongan selama sepuluh hari maka kandungan protein kasar akan menurun sebesar 0,87% (Syarifuddin, 2004). Kandungan nutrisi rumput gajah dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Kandungan nutrisi rumput gajah (%BK)

Komponen	Kandungan Nutrisi (%)	
	Hartadi <i>et al.</i> (1991)	Sutardi (1981)
Abu	10,1	12,0
Protein kasar	10,1	8,69
Lemak kasar	2,5	2,71
Serat kasar	31,2	32,3
TDN	59,0	52,4

Sumber: Hartadi *et al.* (1991); Sutardi (1981)

Menurut Widiawati *et al.* (2010) rataan proporsi dari asem asetat, asam propionat, dan asam butirat yang dihasilkan oleh rumput gajah masing-masing adalah 70,3%, 21,5%, dan 8,2%. Sedangkan estimasi gas metana yang dihasilkan adalah 0,20 mole/mg bahan organik ternak.

D. *Volatile Fatty Acid (VFA)*

Proses pencernaan karbohidrat di dalam rumen ternak ruminansia akan menghasilkan asam-asam lemak atsiri (VFA) antara lain yaitu asetat, propionat, butirat, valerat dan asam lemak lainnya seperti format. Menurut Hungate (1966), proporsi VFA dalam rumen berkisar 63% asetat, 21% propionat, 16% butirat dan asam lemak lainnya. Produksi VFA di dalam cairan rumen dapat digunakan sebagai tolak ukur fermentabilitas pakan (Hartati, 1998). Konsentrasi VFA mengindikasikan mudah tidaknya pakan tersebut didegradasi oleh mikroba rumen. Komposisi VFA di dalam rumen dapat berubah dengan adanya perbedaan bentuk fisik, komposisi pakan, taraf dan frekuensi pemberian pakan serta pengolahan. Produksi VFA yang tinggi merupakan petunjuk kecukupan energi bagi ternak (Sakinah, 2005).

Kisaran produksi VFA cairan rumen yang mendukung pertumbuhan mikroba yaitu 80 mM sampai 160 mM dengan titik optimumnya 110 mM (Suryapratama, 1999). Produksi VFA dapat dipengaruhi oleh protozoa melalui mekanisme pencernaan partikel pati sehingga VFA menjadi rendah dan rasio butirat : propionat dari 0,5 menjadi 1,7 (Whitelaw *et al.*, 1972).

Sekitar 75% dari total VFA yang diproduksi akan diserap langsung oleh retikulorumen yang masuk ke darah, sekitar 20% diserap abomasum dan omasum, dan sisanya sekitar 5% diserap di usus halus (McDonald *et al.*, 2002). Parakkasi (1999) menambahkan bahwa sebagian besar VFA diserap langsung melalui dinding rumen, hanya sedikit asetat, beberapa propionat, dan sebagian besar butirat termetabolisme dalam dinding rumen. Sedangkan, pakan yang tidak dicerna akan disalurkan ke abomasum dan dicerna secara hidrolitik oleh enzim-enzim pencernaan sama seperti yang terjadi pada hewan monogastrik. Konsentrasi VFA dalam cairan rumen sangat dipengaruhi oleh kecernaan, jenis dan kualitas ransum yang difерментasi oleh mikroba rumen (Tillman *et al.*, 1991).

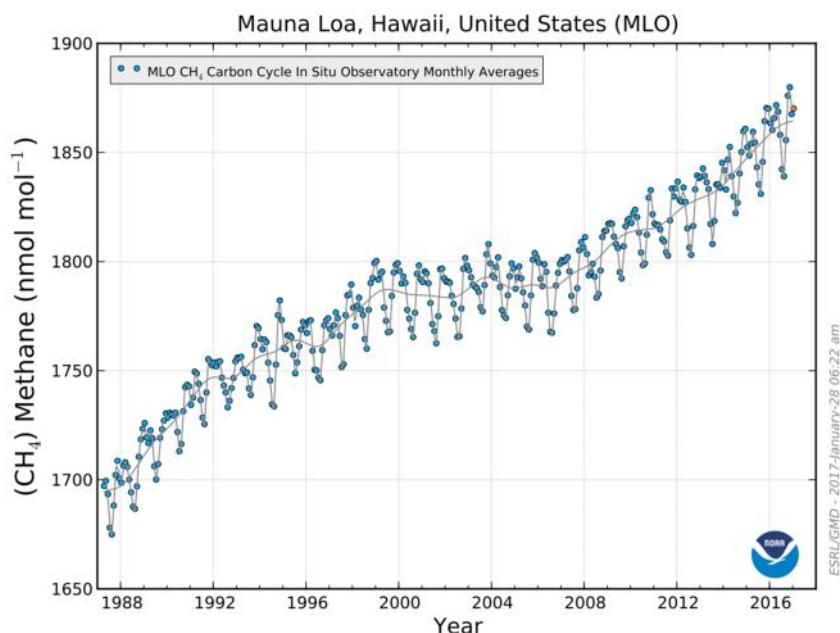
E. Gas Metana

Salah satu penyebab terjadinya perubahan iklim adalah karena makin banyaknya kandungan GRK di atmosfir. Gas-gas rumah kaca (GRK) di atmosfir antara lain CO₂, CH₄, CFC, dan N₂O. Masing-masing GRK mempunyai intensitas penyerapan radiasi gelombang panjang dan waktu tinggal di atmosfir yang berbeda-beda, sehingga dengan demikian masing-masing mempunyai konstanta pemanasan relatif terhadap CO₂ yang berbeda-beda (Sumirat dan Solehudin, 2009).

Metana merupakan gas yang tidak berbau dan tidak berasa, memiliki densitas sebesar 0,72 g/L pada 0°C, 760 mmHg. Titik leleh dan titik didih metana berturut-turut adalah -183,6°C dan -161°C. Metana tidak larut dalam air dan larut dalam

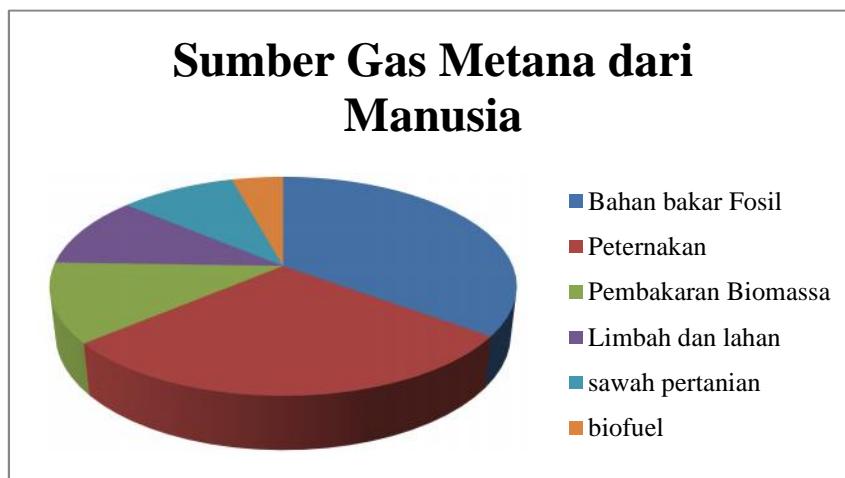
alkohol, memiliki energi disosiasi sebesar 104 kkal/mol dan jenis ikatan adalah kovalen non polar (Sumirat dan Solehudin, 2009).

Gas metana adalah suatu gas rumah kaca, yang mengabsorpsi radiasi inframerah dan melepaskannya kembali dalam bentuk panas sehingga memperbesar pemanasan global (Cicerone dan Oremland, 1988, dalam Diah Safitri, 2001). Gas metana di atmosfir meningkat sekitar 0,9% per tahun (IPCC, 1990, 1992 dalam Diah Safitri, 2001) dan memperbesar sekitar 15% dari potensial pemanasan global (OTA, 1991). Gas metana merupakan sumber pemanasan global 21 kali dari gas CO₂ (Pascal Boeckx *et al.*, dalam Diah Safitri, 2001).



Gambar 3 : Jejak konsentrasi gas metana secara global dari tahun ke tahun
Sumber : ERSL, 2017

Gambar 3 menunjukkan tingkat metana global, meningkat menjadi 1.800 *part per billion* (ppb) pada tahun 2011, meningkat sejak masa pra-industri, dari 722 ppb, nilai tertinggi dalam setidaknya 800.000 tahun (IPCC, 2013)



Gambar 4 : Sumber gas metana dari manusia (Bousquet, P. et al., 2006)

Berdasarkan Gambar 4, sumber gas metana yang berasal dari manusia berturut-turut berasal dari bahan bakar fosil (33%), peternakan (27%), pembakaran biomassa (11%), limbah dan lahan (10%), sawah pertanian (9%), dan *biofuel* (4%). (Bousquet, P. et al., 2006)

Menurut Broucek (2014), Emisi rata-rata gas metana pada sapi perah adalah 151 sampai 479 g/hari^{-1} , sedangkan pada sapi potong emisi rata-rata gas metana adalah 161 g/hari^{-1} sampai 323 g/hari^{-1} . Produksi gas metana sangat erat hubungannya dengan jumlah asam asetat dan asam butirat yang dihasilkan selama masa fermentasi pakan di dalam rumen, namun tidak berhubungan dengan produksi asam propionat. Hal ini disebabkan karena gas metana yang dihasilkan sangat tergantung kepada ketersediaan H_2 dan CO_2 di dalam rumen yang dilepaskan saat terjadi produksi asam asetat dan butirat selama proses fermentasi pakan dalam rumen. Berbeda halnya dengan produksi asam propionat yang tidak disertai dengan produksi H_2 dan CO_2 (Church, 1976).

Menurut Van Nevel dan Dobney (1996), gas metana merupakan gas rumah kaca dan merepresentasikan kehilangan 2 – 15% *gross energy* (GE) dalam pakan. Melalui proses metanogenesis oleh bakteri metanogenik, CO₂ direduksi dengan H₂ membentuk CH₄, yang dikeluarkan melalui eruktasi (sekitar 83%), pernapasan (sekitar 16%) dan anus (sekitar 1%) (Vlaming, 2008).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober hingga November 2018, yaitu uji *in vitro* yang meliputi pengujian asam lemak terbang / VFA parsial yang dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Fisiologi Balai Penelitian Ternak (Balitnak) Ciawi, Bogor.

B. Bahan dan Alat Penelitian

B.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput gajah yang diambil di Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, rumput laut *Euchema cottonii* yang berasal dari Pantai di Kalianda, Lampung Selatan, cairan rumen sapi dari rumah pemotongan hewan. Kandungan nutrisi rumput gajah dan rumput laut yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 7 (lampiran).

B.2. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian disajikan dalam Tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4: Alat-alat penelitian yang digunakan

No.	Nama Alat	Jumlah	Spesifikasi	Fungsi
1.	terpal	2 buah	10mx10m	tempat penyimpanan dan pengeringan rumput gajah dan rumput laut
2.	mesin disk mill	1 buah	Merek Yasuka tipe FFC-15 dengan ukuran screen 1 mm dan speed 3000 rpm	menggiling bahan pakan menjadi tepung
3.	timbangan analitik	1 buah	Ketelitian empat decimal merek Adam	menimbang bahan pakan dengan ketelitian tinggi
4.	corong	1 buah	Diameter 10 cm	memudahkan penuangan cairan
5.	tabung Erlenmeyer	7 buah	Merk pyrex, 250 ml	tempat mencampurkan bahan-bahan dan cairan kimia
6.	pipa volumetric	2 buah	Merk pyrex, 1000ml	untuk mengukur banyaknya cairan yang digunakan
7.	pH meter	1 buah	Skala 1--14	mengukur tingkat keasam suatu bahan
8.	botol fermentor dan tutup karet	12 buah	Merk pyrex	media bahan ketika dimasukan dalam <i>shakerwaterbath</i>
9.	tabung reaksi	5 buah	Merk pyrex	sebagai media penyimpanan sementara cairan
10.	syringe	12 buah	Hohenheim 100 ml	mengukur banyaknya gas yang dihasilkan
11.	tabung gas CO2	12 buah	Merk pyrex	mengukur banyaknya

				gas CO ₂ yang dihasilkan
12.	penjepit	1 buah	Terbuat dari kayu	memudahkan memindahkan tabung reaksi yang panas
13.	shaker waterbath	1 buah	Merk E-scientific ERSA	menjaga suhu konstan sesuai dengan kondisi rumen
14.	kertas saring	12 buah	whatman No.41	memisahkan antara zat cair dan zat padat pada suatu cairan
16.	sentrifuge	1 buah	Hettich EBA-20	memisahkan dua cairan agar terpisah
17.	oven	1 buah	Suhu maksimal sampai 150°C	mengurangi kadar air dalam pakan
18.	<i>gas chromatography</i>	1 buah	GLC, Hewlett Packard, 3700, USA	mengukur asam lemak terbang

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan dengan masing-masing perlakuan mengalami 3 ulangan menggunakan rancangan acak lengkap,. Adapun perlakuannya adalah sebagai berikut :

P0 = Rumput Gajah 100%

P1 = Rumput Gajah 96% + *E. cottonii* 4%

P2 = Rumput Gajah 92% + *E. cottonii* 8%

P3 = Rumput Gajah 88% + *E. cottonii* 12%

D. Peubah yang Diamati

D.1. VFA Parsial

Penentuan kadar VFA Parsial yaitu terdiri dari konsentrasi asam asetat, propionat, dan butirat dilakukan dengan menggunakan alat *Gas Liquid Chromatography* (GLC, HEWLETT PACKARD, 3700, USA), dan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Pakan Ternak Balai Penelitian Peternakan Ciawi Bogor.

D.2. Estimasi Produksi Gas Metana

Produksi gas metana diestimasi dari konsentrasi asam lemak terbang (VFA) parsial yang meliputi konsentrasi asam asetat, asam propionat dan asam butirat. Penghitungan produksi gas metana dilakukan dengan menggunakan data dari konsentrasi asam lemak terbang yaitu konsentrasi dari tiga komponen utama yaitu asam asetat, asam butirat dan asam propionat. Estimasi produksi gas metana dihitung dengan menggunakan rumus dari Owens dan Goetsch (1988), yaitu:

$$\text{CH}_4 = 0,5 \text{ [asetat]} + 0,5 \text{ [butirat]} - 0,25 \text{ [propionat]}$$

[asetat] : konsentrasi asam asetat (mM)

[butirat] : konsentrasi asam butirat (mM)

[propionat]: konsentrasi asam propionat (mM)

E. Pelaksanaan Penelitian

E.1. Persiapan Hijauan Rumput Gajah

Hijauan rumput gajah diperoleh dari kebun di Laboratorium Lapangan Terpadu. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Pengambilan rumput dilakukan secara acak mulai dari daun tua hingga daun muda, rumput gajah hasil koleksi dilayukan sebelum dikeringkan menggunakan oven dengan suhu maksimal 60°C selama 24 jam kemudian digiling menjadi serbuk.

E.2. Persiapan Rumput Laut *E. cottonii*

Rumput laut *E. cottonii* diperoleh dari pantai di daerah Kalianda, Lampung Selatan. Rumput laut hasil koleksi dibersihkan dengan air laut selama 2 menit kemudian direndam dalam air segar untuk menghilangkan residu garam dan memaksimalkan kandungan bahan kering lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu maksimal 60°C selama 24 jam kemudian digiling menjadi serbuk.

E.3 Persiapan Sampel

Rumput gajah dan rumput laut *E.cottonii* yang telah menjadi serbuk kemudian dicampurkan dan diaduk sampai homogen. Proporsi rumput gajah dan rumput laut *E. cottonii* sesuai dengan perlakuan yang ada pada metode penelitian.

F. Prosedur Penelitian

F.1 Persiapan Media Inkubasi dan Sampel

Teknik inkubasi *in vitro* berdasarkan metode Theoudorou dan Brooks (1990). Pada hari pertama, sampel untuk setiap satuan percobaan ditimbang masing-masing sebanyak 1 gram (dalam bahan kering) kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur kedap udara dengan kapasitas 100 ml yang digunakan sebagai tempat di mana proses fermentasi berlangsung. Botol kultur diberi label sesuai satuan percobaan yang digunakan kemudian ditutup menggunakan menutup karet untuk mencegah benda asing masuk ke dalam botol. Seluruh satuan percobaan membutuhkan 12 buah botol kultur.

Pada hari yang sama, 2.000 ml media inkubasi disiapkan dalam gelas kontainer dengan kapasitas 3.000 ml dengan mencampurkan reagen (lihat Tabel 5). Proses pencampuran dilakukan dengan urutan sebagai berikut: 2 ml mikro mineral, 444 ml buffer, 444 ml makro mineral, 4 ml resazurine dan 1.020 ml air terdestilasi. Warna media inkubasi akan berwarna biru yang disebabkan oleh penambahan resazurine. Warna biru tersebut mengindikasikan media inkubasi tidak dalam keadaan anaerobik. Karbondioksida (98%) dialirkan ke dalam medium selama dua jam untuk membuat media inkubasi dalam keadaan anaerobik dan juga untuk menurunkan pH menjadi 6,6 – 6,8. Selama proses pemberian gas, media inkubasi akan berubah warna dari biru menjadi ungu atau merah muda yang mengindikasikan media inkubasi sudah dalam keadaan anaerobik. Setelah 2 jam pemberian gas, pH media inkubasi dicek menggunakan pH meter. Agen pereduksi ditambahkan (86 ml) ke dalam media inkubasi untuk mempertahankan pH antara

6,6 – 6,8 dan mengurangi jumlah oksigen dalam media inkubasi, Proses pemberian gas dilanjutkan sampai perpindahan medium inkubasi ke dalam botol kultur. Kemudian sebanyak 86 ml media inkubasi yang telah ditakar pada 100 ml gelas ukur dipindahkan ke dalam botol kultur, proses pemberian gas karbondioksida masih dilakukan. Beberapa tetes agen pereduksi (4 ml) ditambahkan.

Tabel 5. Komposisi media inkubasi

Reagen	Komposisi Reagen	Proporsi
Mikro-mineral		0,1 %
• Kalsium klorida	26,4 (g)	
• Mangan klorida	20,0 (g)	
• Cobalt klorida	2,0 (g)	
• Besi klorida	16,0 (g)	
• Air terdestilasi	1,0 (L)	
Buffer		22,2 %
• Ammonium Bikarbonat	4,0 (g)	
• Sodium Bikarbonat	35,0 (g)	
• Air terdestilasi	1,0 (L)	
Makro-mineral		22,2%
• di-sodium hidrogen fosfat	9,45 (g)	
• potassium hidrogen fosfat	6,20 (g)	
• Magnesium sulfat	0,60 (g)	
• Air terdestilasi	1,0 (L)	
Resazurine		0,2%
• Resazurine	1,0 (g)	
• Air terdestilasi	1,0 (L)	
Agen pereduksi		4,3%
• 1 M sodium hidroksida	40 (mL)	

• Cystein sulfida	6,25 (g)	
• Sodium sulfida	6,25 (g)	
• Air terdestilasi	1,0 (L)	
Air terdestilasi		51%

Tutup karet dipasang pada botol kultur sehingga kedap udara. 12 botol kultur diberi perlakuan yang sama untuk setiap sampel satuan percobaan. Warna dari media inkubasi tersebut akan berubah dari biru menjadi merah muda dan akan berubah menjadi tak berwarna dalam 2 atau 3 menit setelah penambahan agen pereduksi yang mengindikasikan media inkubasi dalam keadaan anaerobik.

Semua botol kultur disimpan dalam pendingin dengan suhu 4°C selama semalam.

Alat *water-bath* dihidupkan dan difungsikan selama semalam secara konstan dengan suhu air sebesar 39°C. Suhu air dalam *water-bath* dicek secara berkala dengan termometer.

F.2 Persiapan Cairan Rumen dan Proses Inkubasi

Pada hari kedua, sebelum koleksi digesta rumen, semua botol kultur dipindahkan dari pendingin ke dalam *water-bath* untuk mencapai suhu 39°C. Suhu dari media kultur diukur dengan cara memonitor perubahan botol kultur yang hanya diisi air yang sebelumnya disimpan pada pendingin dengan suhu 4°C.

Digesta rumen diambil dari cairan rumen sapi yang berasal dari rumah pemotongan hewan di daerah Bogor. Kemudian digesta rumen disatukan dan diperas menggunakan 4 lapisan *cheese cloth* (ukuran pori-pori 40 um) untuk diekstrak dan dihasilkan cairan rumen. Cairan ekstrak rumen (*inoculum* mikroba)

dikoleksi botol yang telah diisi karbondioksida dan ditempatkan pada water-bath (39°C).

Setiap botol kultur yang telah berisi media inkubasi dan sampel kemudian disuntik dengan 10 ml cairan rumen menggunakan suntikan dengan kapasitas 10 ml. Cairan rumen diinjeksikan melalui tutup karet. Botol kultur di inkubasi dalam *water-bath* dengan suhu 39°C selama 48 jam dimana pada 4 jam pertama dilakukan pengocokan setiap 1 jam dan kemudian dilakukan pengocokan setiap 2 jam hingga inkubasi ke 12 jam. Tepat di jam ke 48 jam tabung dibuka untuk disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil untuk selanjutnya dianalisis konsentrasi VFA parsial dan penentuan estimasi produksi gas metana. Penentuan kadar VFA parsial yaitu terdiri dari konsentrasi asam asetat, propionat, dan butirat dilakukan dengan menggunakan alat *Gas Liquid Chromatography* (GLC, HEWLETT PACKARD, 3700, USA).

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam (ANARA) dan jika berpengaruh nyata maka akan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf nyata 5% dan atau 1% (Steel and Torrie, 1991).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Substitusi rumput laut *Eucheuma cottonii* dalam pakan rumput gajah memberikan pengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap VFA total, proporsi asam asetat, propionat, butirat, dan estimasi gas metana;
2. Terdapat dosis terbaik pemberian rumput laut *Eucheuma cottonii* yaitu pada level pemberian 4% dalam menurunkan produksi gas metana walaupun diiringi dengan penurunan VFA total dan VFA parsial.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh substitusi rumput laut *Eucheuma cottonii* terhadap kecernaan bahan kering, bahan organik, protein, bahan ekstrak tanpa nitrogen dan total protozoa untuk mengetahui profil fermentasi yang terjadi dalam rumen lebih lanjut. Selain itu, perlu dilakukan penelitian tentang pemberian rumput laut *Eucheuma cottonii* yang dengan pakan berkualitas tinggi dan konsentrat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aviantri, A. 2012. Manfaat Vitamin E dan Selenium dalam Fermetasi *in vitro* ransum yang Disuplementasi Asam Lemak Tidak Jenuh. Skripsi. IPB. Bogor
- Badan Pusat Statistik. 2014. Laju pertumbuhan penduduk per tahun menurut provinsi. <https://www.bps.go.id/linkTabelStatis/view/id/1274>. Diakses 22 Februari 2017
- Baker, S.K. 1999. Rumen methanogens and inhibition of methanogenesis. Aust. J. Agric. Res. 50:1293 – 1298
- Balch, D.A. and S.J. Rowland. 1965. Volatile fatty acids and lactic acid in the rumen of dairy cows receiving a variety of diets. Nutr. 11:288:298
- Baldwin, R.L. and S.C. Denham. 1979. Quantitative and dynamic aspects of nitrogen metabolism in rumen: A modeling analysis. J. Anim. Sci. 49:1631—1637
- Blunt J.W., B.R. Copp, M.H.G. Munro, P.T. Northcote, and M.R. Prinsep. 2011. Marine natural products. Nat Prod Rep 28:196-268
- Bousquet, P., S. C. Tyler, P. Peylin, G. R. Van Der Werf, C. Prigent, D. A. Hauglustaine, E. J. Dlugokencky, J. B. Miller, P. Ciais, J. White, L. P. Steele, M. Schmidt, M. Ramonet, F. Papa, J. Lathière, R. L. Langenfelds, C. Carouge, and E.G. Brunke. 2006. Contribution of anthropogenic and natural sources to atmospheric methane variability. Nature 7110:439-443
- Brockman, R.P., 1993. Glucose and Short Chain Fatty Acid Metabolism. In: J.M. Forbes and J. France (Eds.). Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International. Wallingford
- Broucek, J. 2014. Production of methane emissions from ruminant husbandry: A Review. Journal of Environmental Protection 5:1482-1493
- Bryden, W.L. and E.F. Annison. 1998. Prospective on Ruminant Nutrition and Metabolism. Department of Animal Science University of Sydney. Australia

- Campbell, N. and J. Reece. 2005. Animal Nutrition 7th. Ed. Pearson Educ. Inc. Publish
- Church, D.C. 1976. Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Oxford Press, Oregon
- Clark, J.H. and C.L. Davis. 1983. Future improvement of milk production; Potential for nutritional improvement. *J Anim. Sci.* 57:750
- Dawson, K.A., K.E. Newman, and J.A. Boling. 1990. Effect of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal activities. *J. Anim. Sci.* 68:3392
- Denman, S.E., N.W. Tomkins, and C.S. McSweeney. 2007. Quantitation and diversity analysis of ruminal methanogenic populations in response to the antimethanogenic compound bromochloromethane. *FEMS Microbiology Ecology* 62:313–322
- Despal, D. 2005. Nutritional Properties of Urea Treated Cocoa Pod for Ruminant. Cuviller Verlag, Goettingen
- Diah, S. 2001. Pengaruh Tempat dan Waktu Pengambilan Contoh terhadap Fluks Metana di TPA Pasir Impun Bandung. Skripsi. Jur. Kimia. UNPAD. Bandung
- Dohme, F., A. Machmueller, Wasserfallen, and M. Kreuzer. 2000. Comparative efficiency of various fats rich in medium chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. *Canadian Journal Animal Science* 80:473—482
- Doty, M. 1986. *Eucheuma alvarezii* sp.nov (Gigertinales, Rhodophyta) from Malaysia. In: Abbot IA, Norris JN (editors). *Taxonomy of Economic Seaweed*. California Sea Grant Collage Program
- Earth System Research Laboratory. 2017. Carbon Cycle Gases Mauna Loa, Hawaii, United States. <https://www.esrl.noaa.gov/gmd/dv/iadv/graph.php?code=MLO&program=ccgg&type=ts>. Diakses 25 Februari 2017
- Erwanto. 1995. Optimalisasi Sistem Fermentasi Rumen Melalui Suplementasi Sulfur, Defaunasi, Reduksi Emisi Metan dan Stimulasi Pertumbuhan Mikroba pada Ternak Ruminansia. Tesis. Program Pascasarjana. IPB. Bogor
- Food and Agriculture Organization. 2009. The State of Food and Agriculture. Livestock in The Balance. FAO. Rome

- _____. 2012. The State of Food and Agriculture. Livestock in the balance. FAO. Rome
- _____. 2013. Tackling Climate Change Through Livestock. FAO. Rome
- Forbes, J.M. and J. France. 1993. Quantitative Aspect of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International
- Gerson, T., A. John, and S.D. King. 1985. The effects of dietary starch and fibre on the *in vitro* rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta. *J. Agric. Sci (Camb.)* 105:27
- Goel, G., H.P. Makkar, and K. Becker. 2009. Inhibition of methanogens by bromochloromethane: effects on microbial communities and rumen fermentation using batch and continuous fermentations. *The British Journal of Nutrition* 101:1484–1492
- Handayani, I. P. 2002. Laporan Penelitian Pendayagunaan Vegetasi Invasi dalam Proses Agradasi Tanah untuk Percepatan Restorasi Lahan Kritis. Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu. Bengkulu
- Hartadi, H., S. Reksohadiprodjo, S. Lebdosoekojo, dan A. D. Tillman. 1993. Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Hartati, E. 1998. Suplementasi Minyak Lemuru dan Seng ke dalam Ransum yang Mengandung Silase Pod Kakao dan Urea untuk Memacu Pertumbuhan Sapi Holstein Jantan. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Hindratiningsrum, N., M. Bata, dan S. A. Santosa. 2011. Produk fermentasi rumen dan produksi protein mikroba sapi lokal yang diberi pakan jerami amoniasi dan beberapa bahan pakan sumber energi. *Agripet Vol 11, (2)*
- Hungate, R.E. 1966. The Rumen and Its Microbes. Academic Press Inc. New York
- Hvelplund, T. and J. Madsen. 1985. Amino acid passage to the small intestine in dairy cows compared with estimates of microbial protein and undergraded dietary protein from analysis on the feed. *Acta agric. Seand. Suppl.* 25:21-36
- Ja Lee S, N.H. Shin, J.S Jeong, E.T. Kim, S.K. Lee, and S.S Lee. 2017. Effect of Rhodophyta extracts on *in vitro* ruminal fermentation characteristics, methanogenesis and microbial populations. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 31:54—62

- Jalc, D. and M. Certik . 2005. Effect of microbial oil, monensin and fumarate on rumen fermentation in artificial rumen. Czech J. Anim. Sci. 50 : 467–472
- Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. J. Dairy Sci. 76:3851
- Kawaroe, M, Salundik, W. Rhojim, and F.L. Dea. 2017. Comparison of biogas production from macroalgae *Euchema cottonii* in anaerobic degradation under different salinity conditions. World Applied Sciences Journal 35 (3):344-351
- Kementrian Perdagangan. 2013. Warta Ekspor Rumput Laut Indonesia. Kementrian Perdagangan. Jakarta
- Kimball, J.W. 1992. Biologi Jilid 3, Edisi kelima. Terjemahan Soetarmi T. dan Nawangsari S. Erlangga. Jakarta
- Kinley, R. D., R. de Nys, M.J. Vuck, L. Machado, and N.W. Tomkins. 2016. The red macroalgae *Asparagopsis taxiformis* is a potent natural antimethanogenic that reduces methane production during in vitro fermentation with rumen fluid. Anim. Prod. Sci. 56:282–289
- Kurniawati, I., Maftuch, dan A.M. Hariati. 2016. Penentuan pelarut dan lama ekstraksi terbaik pada teknik maserasi *Gracilaria* sp. serta pengaruhnya terhadap kadar air dan rendemen. Jurnal Ilmu Perikanan. 7(2):72-77
- Liem, Z.A. 2013. Kandungan Proksimat dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Merah (*Eucheuma cottonii*) di Perairan Kupang Barat. Tesis. Program Magister Biologi UKSW. Salatiga
- Lindsay, D.B. 1970. Carbohydrate metabolism in Ruminants. In. A.T. Phillipson (Edit). Physiology of Digestion and Metabolism in Ruminant. Oriel Press, Newcastle upon-Tyne
- Luning, K. 1990. Seaweed Their Environment, Biogeography and Ecophysiology. John Wiley and Sons. New York
- Machado, L., M. Magnusson, N.A. Paul, R. de Nys, and N. Tomkins. 2013. Effect of marine and freshwater Mmacroalgae on *in vitro* total gas and methane production. PLOS one 9:1
- Machado, L., R.D. Kinley, M. Magnusson, R. de Nys , and N.W. Tomkins. 2014. The potential of macroalgae for beef production systems in Northern Australia. Journal of Applied Phycology 27:2001–2005
- Madrid, J., M.D. Megias, and F. Hernandez. 1999. Determination of short volatile fatty acids in silages from artichoke and orange by-products by capillary gas chromatography. J. Sci. Food Agric. 79:580—584

- Maia, R.G., Margarida, J.A. Fonseca, M.H. Oliveira , C. Mendonca, and R.J.C. Ana. 2016. The potential role of seaweeds in the natural manipulation of rumen fermentation and methane production. *Sci. Rep.* 6:32321
- Maria, I.D.H. 2009. Evaluasi Kualitas Nutrien Silase dan Hay Daun Rami dalam Ransum Komplit untuk Ruminansia secara *in vitro*. Skripsi. IPB. Bogor
- Matanjun P., S. Mohamed, N.M. Mustapha, and K. Muhammad. 2007. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *J Appl Phycol* 21:75–80
- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F. D Greenhalg, and C.A. Morgan. 2002. Animal Nutrition 6th Ed. Ashford Color Pr. Gosport
- McDonald, P., R. Edward, and J. Greenhalgh. 2002. Animal Nutrition.6th ed. Academic Press Inc. New York
- Mitsumori M. and W. Sun. 2008. Control of rumen microbial fermentation for mitigating methane emissions from the rumen. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21(1)
- Moss, A.R., J.P. Jouany, and J. Newbold. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie* 49:231—253
- Newbold C.J., B. Lassalas, and J.P. Jouay. 1995. The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. *Letters in Applied Microbiology* 4:230—234
- Owens, F.N. and A.L. Goetsch. 1988. Ruminal Fermentation. In: Church, D.C. (Ed.) *The Ruminal Animals, Digestive Physiology and Nutrition*. Prentice Hall. New Jersey
- Orskov, E.R. and M. Ryle. 1990. Energy Nutrition in Ruminant. Elsevier Applied Science. London
- Pamungkas, D., Y.N. Anggraeni, Kusmartono, dan N.H. Krisna. 2008. Produksi asam lemak terbang dan ammonia rumen sapi Bali padaimbangan daun lamtoro (*L. Leucocephala*) dan pakan lengkap yang berbeda. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner
- Parakkasi, A. 1999. Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminan. UI Press. Jakarta
- Paul N. and C.K. Tseng. 2012. Seaweed. In ‘Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants’. 2nd ed. Eds JS Lucas, PC Southgate. Blackwell Publishing Ltd. Oxford

- Paul N., R. de Nys, and P. Steinberg. 2006. Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata*: linking structure with function. *Marine Ecology Progress Series* 306, 87–101
- Pelczar, M. J. dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Terjemahan Ratna Siri H. dkk. UI Press. Jakarta
- Prasetyaningrum, A., S.D. Kartika, and W.D. Hesti. 2013. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from *Eucheuma cottonii*. *Reaktor.* 14:291-297
- Russel, J.B. and C.J. Sniffen. 1984. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 67:987-994
- Sakinah, D. 2005. Kajian Suplementasi Probiotik Bermineral terhadap Produksi VFA, NH₃, dan Kecernaan Zat Makanan pada Domba. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Simpson, M.G. 2006. Plant Systematics. Elsevier Academic Press. Canada
- Stocker, T.F. 2013. The closing door of climate targets. *Science*, 339(6117): 280–282
- Sumirat, U. dan A. Solehudin. 2009. Nitrous Oksida (N₂O) dan Metana (CH₄) sebagai gas rumah kaca. *TORSI*, VII, No. 2
- Suryapratama, W. 1999. Efek Suplementasi Asam Lemak Volatile Bercabang dan Kapsul Lisin serta Treonin terhadap Nutrisi Protein Sapi Holstein. Disertasi. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Sutardi, T. 1981. Sapi perah dan Pemberian Makanannya. Departemen Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- _____. 1980. Landasan Ilmu Nutrisi. Departemen Ilmu Nutrisi Makanan Ternak. Fakultas Peternakan IPB. Bogor
- Sutton, J.D. 1980. Digestion and end-product formation in the rumen from production ration *in Y. Ruckebusch and P. Thivend (edit)*. *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. AVI Publishing Company Inc. Connecticut
- Suwandyastuti, S.N.O. 2007. Produk metabolisme rumen pada domba jantan. *J. Anim. J. Anim. Prod.* 9 (1) : 9 – 13
- _____. 2011. Produk Metabolisme Rumen pada Sapi Jantan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan UNSOED. Purwokerto

- _____, R.A. Rimbawanto dan B. Rustomo. 1993. Penggunaan Ragi *Saccharomyces cereviseae* dalam Ransum Sapi Perah untuk Memperbaiki Kualitas Susu. Laporan Penelitian DP3M. Dikti
- Syarifudin, N. A. 2004. Nilai gizi rumput gajah sebelum dan setelah ensilase pada berbagai umur pemotongan. J. Ilmiah Nas. 22: 36
- Theodorou, M.K. and A.E. Brooks. 1990. Evaluation of a New Procedure for Estimating the Fermentation Kinetics of Tropical Feeds. The Natural Resources Institute. Ctatham
- Tomkins N.W., S. Colegate, and R. Hunter. 2009. A bromochloromethane formulation reduces enteric methanogenesis in cattle fed grain-based diets. Animal Production Science 49, 1053–1058
- United State Department of Agriculture. 2012. *Pennisetum purpureum*. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=PEPU2>. Diakses 14 Agustus 2018
- Van Houtert, M.J.F. 1993. The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages. Animal Feed Science Technology Vol. 43:189
- Van Nevel C., D. Demeyer. 1996. Control of rumen methanogenesis. Environmental Monitoring and assessment 42: 73–97
- Van Soest. 1982. Nutritional Ecology of The Ruminant, Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, The Cellulolytic Fermentation and The Chemistry of Forages and Plant Fiber. O&B book Inc. Oregon USA
- Vlaming, J.B. 2008. Quantifying Variation in Estimated Methane Emission from Ruminants Using the SF6 Tracer Technique. A Thesis of Doctor of Philosophy in Animal Science. Massey University. Palmerston North, New Zealand
- Whitelaw, F.G., J.M. Eadie, S.O. Mann, and R.S. Reid. 1972. Some effects of rumen ciliate protozoa in cattle given restricted amount of barley diet. Br. J. Nutr. 27: 425-437
- Widiawati. Y, M.Winnugroho dan P. Mahyudin. 2010. Estimasi produksi gas metana dari rumput dan leguminosa yang diukur secara in vitro. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Bogor
- Widyobroto B.P., S.P.S. Budhi, A.Agus, dan B. Santosa. 1999. Effect of undegraded protein level on nutrient digestibility and microbial protein synthesis of dairy cows. In : Lobley G.E, A. White, and J.C. MacRae (Ed). Protein metabolism and nutrition. Book of abstracts of the VIIIth

International Symposium on Protein and Metabolism. P. 72 EAAP publication Wageningen. Holland

Wolin, M. J., T. L. Miller, and C. S. Stewart. 1997. Microbemicrobe interactions In: The Rumen Microbial Ecosystem. 2nd ed. (Ed. P. J. Hobson and C. S. Stewart), Blackie Acad. Profess. London

World Bank. 2012. Turn Down The Heat, Why a 4°C Warmer World Must Be Avoided. A Report for The World Bank by The Potsdam Institute for Climate Impact Research and Climate Analytics. Washington, DC, USA

Yaghoubi, S.M.J., G.R. Ghorbani, H.R. Rahmani, and A. Nikkah. 2010. Flavonoids manipulation of rumen fermentation: an alternative for monensin?. Agricultural Segment: 1(1) AGS/1508.