

Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia

Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds (Tannin and Saponin) to Reduce Methane Emissions from Ruminant Livestock

N. Hidayah

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

E-mail: hidayahintp@gmail.com

ABSTRACT

Ruminant livestock is a vital sector that is providing an animal protein source. But as the developing, ruminant livestock have some problems with methane production that have negative effects in decreasing productivity and polluted environment (the accumulation of greenhouse gases that have an impact on global warming). One effort to lowering ruminant methane production is to use secondary metabolic compounds from plants such as tannin and saponin. Many researches have been done to take advantage from this metabolite. So this article aimed to review the results of several studies related to utilization of plant bioactive compounds (tannin and saponin) to reduce methane production from ruminant livestock. Based on the results of journals review, it can be concluded that bioactive compounds (tannin and saponin) can reduce methane emissions, increase feed efficiency and safe for animals and the environment. The addition of tannin and saponin *in vitro* and *in vivo* had different respond of methane production. It associated with the content, level and form of tannin and saponin that given to ruminant livestock. The addition of tannin and saponin at optimal dose can reduce methane production, protozoa and metanogen bacteria population, as well as increased total and partial (especially propionate) VFA production, rumen bacterial populations and did not disturb feed digestibility.

Key words: methane, ruminant, saponin, tannin

ABSTRAK

Peternakan ruminansia merupakan sektor yang sangat penting dalam menyediakan sumber protein hewani. Namun seiring perkembangannya mendapat beberapa kendala terkait dengan produksi metan dari ternak ruminansia yang berdampak negatif bagi penurunan produktivitas ternak dan lingkungan (akumulasi gas rumah kaca yang berdampak pada pemanasan global). Salah satu upaya dalam menurunkan produksi metan ternak ruminansia yaitu dengan menggunakan senyawa metabolis sekunder dari tanaman berupa tanin dan saponin. Banyak penelitian yang sudah dilakukan dengan memanfaatkan senyawa metabolit ini. Sehingga tulisan ini bertujuan untuk mereview tentang hasil berbagai penelitian terkait pemanfaatan senyawa bioaktif tanaman (tanin dan saponin) terhadap produksi metan ternak ruminansia. Dari hasil review beberapa jurnal penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa bioaktif tanin dan saponin dapat dimanfaatkan dalam rangka menurunkan emisi metan, meningkatkan efisiensi pakan serta aman bagi ternak dan lingkungan. Penambahan tanin dan saponin secara *in vitro* dan *in vivo* memberikan respon yang berbeda-beda terhadap produksi metan. Hal ini terkait dengan kandungan, level serta bentuk tanin dan saponin yang diberikan. Penambahan tanin dan saponin pada dosis yang optimal mampu menurunkan produksi metan, populasi metanogen dan populasi protozoa, serta meningkatkan produksi VFA total dan parsial (terutama propionat), populasi bakteri rumen dan tidak mengganggu pencernaan bahan pakan.

Kata kunci : metan, ruminansia, saponin, tanin

PENDAHULUAN

Peternakan merupakan sektor yang sangat penting dalam menyediakan sumber protein hewani. Peran dan manfaat dari

sumber protein asal hewani tidak bisa digantikan dengan sumber protein nabati, terkait dengan kandungan asam aminonya yang lengkap. Ternak ruminansia

dalam pembentukan asetat dan butirrat menghasilkan H₂. Hal ini menandakan bahwa pembentukan asetat dan butirrat memicu terbentuknya H₂ sehingga akan akan dimanfaatkan oleh bakteri metanogen untuk diubah menjadi CH₄, sedangkan produksi propionat yang tinggi membutuhkan H₂ sehingga terbentuknya CH₄ akan menurun (Gambar 1).

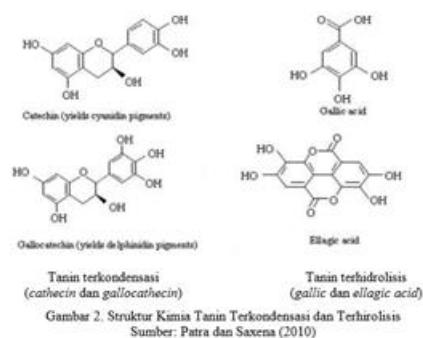
Menurut Jouany (1991), sebanyak 70% dari total bakteri metanogen bersimbiosis dengan protozoa. Penurunan jumlah protozoa akan diikuti dengan penurunan bakteri metanogen, sehingga perlu dilakukan proses defaunasi (proses penghilangan protozoa dari dalam rumen) secara parsial karena keberadaan protozoa cenderung merugikan. Jouany (1991) menyatakan bahwa dengan adanya proses defaunasi yang menyebabkan protozoa siliata dihilangkan dari partisipasi pencernaan di dalam rumen, ruminansia masih normal dalam fungsi pencernaan fermentatifnya.

Defaunasi menyebabkan turunnya mekanisme simbiosis antara metanogen dengan protozoa, sehingga hanya sedikit hidrogen yang dapat dikonversikan menjadi metan (Takahashi, 2006). Menurut Hess *et al.*, (2003) penghilangan protozoa dapat mengurangi produksi metan yang sama halnya dengan penurunan protozoa diikuti dengan penurunan bakteri metanogen.

Tanin dan Strukturnya

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman

(Jayanegara dan Sofyan, 2008). Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Fahey and Berger, 1988).



Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer gallic dan ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa catechin dan gallo catechin (Patra dan Saxena, 2010) (Gambar 2).

Tanin yang berasal dari hijauan (leguminosa) umumnya membentuk tanin terkondensasi dan mempunyai ikatan kompleks dengan protein yang lebih kuat dibandingkan dengan tanin terhidrolisis (Fahey & Berger, 1988). Tanin dapat berinteraksi dengan protein dan ada tiga bentuk ikatan yaitu: (1) ikatan hidrogen, (2) ikatan ion, (3) ikatan kovalen. Tanin terhidrolisis dan terkondensasi berikatan dengan protein dengan membentuk ikatan hidrogen antara kelompok fenol dari tanin

dan kelompok karboksil (aromatik dan alifatik) dari protein. Ikatan kuat antara tanin dan protein akan berpengaruh terhadap pencernaan protein (Mueller, 2006).

Efek Tanin Terhadap Metan

Banyak penelitian yang sudah dilakukan dengan memanfaatkan tanin yang berasal dari ekstraknya atau langsung dari tanamannya (tanpa diekstrak), dari tanin yang terkondensasi atau terhidrolisis, secara *in vitro* atau *in vivo*. Penelitian tersebut melihat pengaruh penambahan tanin pada pakan terhadap emisi metan, populasi metanogen, populasi protozoa dan karakteristik VFA nya (asetat, propionat, butirrat dan valerat), produksi gas, pertambahan bobot badan, pencernaan bahan kering dan organik, konsumsi bahan pakan.

Hasil penelitian Tan *et al.*, (2011) secara *in vitro* yang melakukan penambahan tanin terkondensasi murni dari ekstrak tanaman *Leucaena leucocephala* pada level 0, 10, 15, 20, 25 dan 30 mg dalam 500 mg sampel, menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan tanin terkondensasi murni maka semakin menurun produksi gas metan, total VFA, populasi protozoa dan bakteri metanogen. Produksi gas metan sangat nyata menurun ($P < 0,01$) dari 10,0-5,5 mg/g BK dibandingkan dengan kontrol 14,9 mg/g BK. Produksi total VFA sangat nyata menurun ($P < 0,01$) dari 47,6-46,7 mmol/L dibandingkan dengan kontrol 57,3 mmol/L. Total protozoa menurun sangat nyata ($P < 0,01$) dari $4,73-4,11 \times 10^7$

dibandingkan dengan kontrol $5,83 \times 10^7$. Total bakteri metanogen sangat nyata menurun ($P < 0,01$) dari $3,24-1,65 \times 10^7$ dibandingkan dengan kontrol $3,25 \times 10^7$.

Penambahan tanin terkondensasi murni pada level 15 mg/500 mg sampel memberikan hasil yang terbaik dalam menurunkan produksi metan sebesar 47% dan tidak memberikan efek yang negatif terhadap pencernaan bahan kering. Penurunan produksi metan dengan penambahan tanin juga dilaporkan oleh (Jayanegara *et al.*, 2009) secara *in vitro*. Penambahan tanin murni baik dari jenis tanin terkondensasi ataupun tanin terhidrolisis pada konsentrasi rendah 0,5 mg/ml cairan rumen atau yang setara dengan 25mg/500 mg sampel nyata ($P < 0,05$) menurunkan produksi metan, VFA total dan parsial (asetat, propionat, valerat, butirrat), pencernaan bahan organik dan produksi gas dibandingkan dengan kontrol. Produksi metan dengan penambahan tanin sebesar 13,3-13,5% sedangkan kontrol 14,7%. Total VFA sebesar 40,6-43,4 mM sedangkan kontrol 46 mM. Pencernaan bahan organik sebesar 70,36-71,46% sedangkan kontrol 74,83%.

Menurut hasil penelitian ini, penambahan tanin terhidrolisis lebih tinggi menurunkan emisi metannya dibandingkan dengan tanin terkondensasi. Hal ini berkaitan dengan kapasitas presipitasi protein dari tanin, yaitu bahwa tanin mudah terhidrolisis dapat lebih banyak mengendapkan protein BSA dibandingkan dengan tanin terkondensasi (Jayanegara *et al.*, 2009). Namun banyak penelitian yang

menggunakan tanin terkondensasi karena tanin terkondensasi memiliki efek toksik yang lebih rendah dibandingkan dengan tanin terhidrolisis (Beauchemin *et al.*, 2008). Penambahan tanin dalam level yang rendah ini, masih dapat menurunkan kecernaan bahan organik dan produksi gas selama fermentasi.

Penambahan tanin juga diteliti secara *in vivo* yang menunjukkan hasil yang berbeda dan sama dengan hasil *in vitro*. Hasil penelitian (Bauchemin *et al.*, 2007) melaporkan bahwa penambahan ekstrak tanin terkondensasi dari tanaman *quebracho* yang mengandung 91% tanin terkondensasi dengan level 0, 1, 2 %BK tidak berpengaruh terhadap emisi metan, kecernaan bahan kering, PBB pada ternak sapi perah namun menurunkan degradasi protein sebesar 5 dan 15% pada level 1 dan 2%.

Hasil yang berbeda dilaporkan oleh (Puchala *et al.*, 2005) yang melakukan penelitian penambahan tanin terkondensasi secara *in vivo* pada kambing mampu menurunkan produksi metan. Penelitian ini membandingkan pakan yang ditambahkan tanin terkondensasi yang berbeda dosisnya. Penambahan tanin yang berasal dari tanaman *Sericea lespedeza* (17,7% tanin terkondensasi) sangat nyata ($P < 0,001$) menurunkan emisi metan (10,7 g/kg kecernaan BK) dan meningkatkan ($P < 0,01$) kecernaan bahan kering (0,71 kg/hari) dibandingkan dengan penambahan campuran tanaman *Digitaria ischaemum* dan *Festuca arundinacea* (0,5% tanin terkondensasi), dimana produksi metan

(21,5 g/kg kecernaan BK) dan kecernaan bahan kering hanya (0,51 kg/hari).

Perbedaan hasil penelitian terhadap efek penambahan tanin terhadap produksi metan, produksi VFA total dan parsial, produksi gas, kecernaan bahan kering dan organik, populasi protozoa, populasi bakteri metanogen, pertambahan bobot badan ini dapat disebabkan oleh berbedanya dosis tanin, jenis tanin, substrat dasar sebagai pakan, dan ternak yang digunakan selama penelitian. Mekanisme penurunan produksi metan dengan penambahan tanin disebutkan oleh Tavendale *et al.* (2005) ada dua mekanisme, yaitu (1) secara langsung yang menghambat pertumbuhan dan aktivitas metanogen, dan (2) secara tidak langsung melalui penghambatan pada pencernaan serat yang mengurangi produksi H_2 . Tanin terkondensasi memiliki efek toxic pada bakteri metanogen (Tavendale *et al.*, 2005).

Hess *et al.* (2003) melaporkan bahwa penelitian pengukuran protozoa dengan menggunakan PCR menunjukkan penambahan tanin terkondensasi mampu menurunkan populasi protozoa. Menurut McSweeny *et al.* (2001) tanin merupakan polifenol yang reaktif dengan dinding sel bakteri dan enzim ekstraseluler yang diproduksi oleh bakteri. Interaksi ini akan menghambat transport nutrisi ke dalam sel sehingga menghambat pertumbuhan organisme. Penambahan tanin cenderung menurunkan kecernaan bahan pakan dan produksi VFA total. Penurunan ini disebabkan tanin akan mengikat kuat protein sehingga sebagian protein menjadi

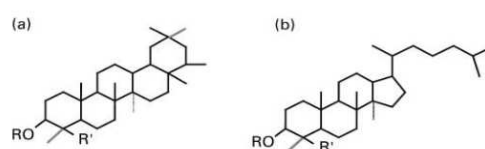
tidak dapat didegradasi oleh mikroba rumen. Mekanisme ini akan menguntungkan ternak dalam kondisi tanin yang optimal sehingga protein akan tersedia bagi inang. Tanin mampu mengendapkan protein dengan sejumlah gugus fungsional yang dapat membentuk ikatan kompleks yang sangat kuat dengan molekul protein. Ikatan tersebut yaitu ikatan antara grup fenol tanin dengan keto protein yang merupakan ikatan hidrolisis antara cincin aromatik struktur protein dan tanin (Fahey & Berger, 1988). Adanya ikatan tersebut mengakibatkan protein tidak dapat didegradasi oleh mikroba rumen. Ikatan kompleks tanin protein ini stabil pada pH sekitar 4-7 kemudian akan terpecah di abomasum karena pHnya 2,5-3,5 yang selanjutnya masuk ke usus halus sehingga protein tersebut dapat dicerna dan diserap (Wiryawan *et al.*, 1999).

Proteksi protein ini sangat menguntungkan karena akan meningkatkan pasokan protein pakan yang berkualitas dapat terhindar dari degradasi yang berlebihan oleh mikroba rumen, sehingga akan meningkatkan jumlah asam amino pakan yang diserap oleh hewan inang. Namun jika konsentrasinya tidak diatur secara optimal maka pencernaan dan absorpsi nutrisi secara keseluruhan dapat terganggu karena tanin tidak hanya berinteraksi dengan protein, melainkan juga dengan serat dan komponen-komponen lain seperti serat, vitamin dan mineral

Saponin dan Strukturnya

Saponin merupakan senyawa sekunder yang ditemukan pada banyak

tanaman di bagian akar, kulit, daun, biji, dan buah yang berfungsi sebagai sistem pertahanan. Keberadaan saponin dapat dicirikan dengan adanya rasa pahit, pembentukan busa yang stabil pada larutan cair dan mampu membentuk molekul dengan kolesterol. Secara umum pada tanaman yang sama, tanaman yang belum matang memiliki kandungan saponin yang lebih tinggi dibandingkan yang sudah matang (Francis *et al.*, 2002).



Gambar 3. Struktur Kimia Saponin :a)Triterpenoid, b) Steroid (Francis *et al.*, 2002)

Saponin terdiri atas gula yang biasanya mengandung glukosa, galaktosa, asam glukuronat, xyloza, rhamnosa atau methylpentosa yang berikatan dengan hydrophobic aglycone (sapogenin) yaitu triterpenoid atau steroid membentuk glikosida (Francis *et al.*, 2002) (Gambar 3). Saponin berasal dari kata latin *sapo* yang berarti sabun. Saponin memiliki diversifikasi struktur yang luas dan senyawa-senyawa saponin tertentu dengan sifat surfaktan yang dapat menyebabkan lisis pada dinding sel protozoa, sehingga dapat digunakan sebagai defaunasi protozoa (Cheeke, 2000).

Efek Saponin terhadap Metan Banyak penelitian yang sudah dilakukan dengan memanfaatkan saponin yang berasal dari ekstraknya atau langsung dari tanamannya (tanpa diekstrak) serta secara *in vitro* atau *in vivo*. Penelitian tersebut melihat pengaruh penambahan

saponin pada pakan terhadap emisi metan, populasi metanogen, populasi protozoa dan karakteristik VFA nya (asetat, propionat, butirrat dan valerat), produksi gas pertambahan bobot badan, pencernaan bahan kering dan organik, konsumsi bahan pakan.

Pen *et al.* (2006) melaporkan bahwa penggunaan dosis saponin yang berbeda menghasilkan respon yang berbeda terhadap produksi metan dan populasi protozoa (secara *in vitro*). Penambahan ekstrak *Yucca schidigera* (80-100 g/kg saponin) dengan level 2, 4 dan 6 ml/l cairan rumen sangat nyata ($P < 0,001$) menurunkan produksi metan dari 32-42%, menurunkan populasi protozoa sampai 56%, meningkatkan konsentrasi propionat sebesar 54%. Penambahan ekstrak *Quillaja saponaria* (50–70 g/kg saponin) tidak berpengaruh terhadap penurunan produksi metan, namun sudah mampu menurunkan populasi protozoa secara signifikan ($P < 0,001$) sebesar 41% dan meningkatkan konsenrasi propionat sebesar 19%. Penelitian ini menunjukkan penggunaan dosis saponin yang lebih tinggi namun masih dalam batasan yang menguntungkan ternak lebih mampu menurunkan produksi metan, populasi protozoa dan meningkatkan konsentrasi propionat.

Hasil penelitian secara *in vitro* menggunakan saponin juga dilaporkan oleh Hu *et al.* (2005) bahwa penambahan ekstrak saponin dari biji teh (60% saponin) dengan level 0,2 dan 0,4 mg/ml cairan rumen sangat signifikan ($P < 0,01$) menurunkan populasi protozoa, produksi metan, namun belum memberikan

pengaruh dalam peningkatan VFA total dan parsialnya. Populasi protozoa sebesar $0,53-0,11 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ dengan penambahan ekstrak saponin, sementara kontrol populasinya $0,61 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$. Produksi metan menurun sebesar 12,7 dan 14,0% dibandingkan dengan kontrol.

Hasil penelitian Suharti *et al.* (2011) melaporkan bahwa penambahan ekstrak Lerak (*Sapidus rarak*) yang mengandung 81,5% saponin pada level 0,6 dan 0,8 mg/ml cairan rumen secara signifikan ($P < 0,05$) menurunkan populasi protozoa. Pada level 0,8 mg/ml secara signifikan meningkatkan ($P < 0,05$) populasi *P. ruminicola* (bakteri amilolitik) dan proporsi propionat serta menurunkan rasio asetat dan propionat. Respon yang berbeda dilaporkan oleh Hu *et al.* (2005) bahwa penambahan ekstrak saponin dari biji teh dengan level 0,4 mg/ml tidak nyata mempengaruhi VFA total dan parsialnya. Perbedaan ini disebabkan kandungan saponin dan level saponin yang diberikan lebih rendah dibandingkan dengan *Sapidus rarak*.

Menurut Hart *et al.*, (2008) banyak penelitian yang melaporkan terjadinya peningkatan propionat ketika pakan banyak mengandung bijian dan berbeda ketika pakan banyak serat ataupun campuran ketika ditambahkan dengan saponin. Saponin mampu membunuh atau melisis protozoa dengan membentuk ikatan yang kompleks dengan sterol yang terdapat pada permukaan membran protozoa sehingga mengganggu perkembangan protozoa yang menyebabkan membran pecah, sel lisis dan

protozoa mati. Protozoa lebih rentan terhadap saponin dibandingkan bakteri karena dinding membran sel protozoa mengandung kolesterol sedangkan bakteri berupa ikatan peptida dengan gliserol (peptidoglikan). Bakteri tidak mempunyai sterol yang dapat berikatan dengan saponin. Selain itu bakteri mempunyai kemampuan untuk memetabolisme faktor antiprotozoa tersebut dengan menghilangkan rantai karbohidrat dari saponin (Cheeke, 2000).

Menurut Patra dan Saxena (2010) keefektifan saponin dapat berkurang karena saponin mampu didegradasi oleh mikroba rumen sehingga perlu adanya protektif terhadap saponin dari degradasi mikroba rumen agar saponin tetap efektif.

KESIMPULAN

Penggunaan senyawa bioaktif tanin dan saponin dapat dimanfaatkan dalam rangka menurunkan emisi metan, meningkatkan efisiensi pakan serta aman bagi ternak dan lingkungan. Penambahan tanin dan saponin secara *in vitro* dan *in vivo* memberikan respon yang berbeda-beda terhadap produksi metan. Hal ini terkait dengan kandungan, level serta bentuk tanin dan saponin yang diberikan. Penambahan tanin dan saponin pada dosis yang optimal mampu menurunkan produksi metan, populasi metanogan dan populasi protozoa, serta meningkatkan produksi VFA total dan parsial (terutama propionat), populasi bakteri rumen dan tidak mengganggu pencernaan bahan pakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bauchemin, K. A., S. M. McGinn, T. F. Martinez & T. A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Animal Sci.* 85: 1990-1996
- Beauchemin, K. A., M. Kreuzer, F. O'Mara and T. A. McAlister. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 48: 2127.
- Cheeke, P. R. 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 77: 1-10
- Fahey, G. C., & L. L. Berger. 1988. Carbohydrate nutrition of ruminants. In : D.C Chruch (Ed.). *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. The Ruminant Animal.* Prentice Hall Eglewood Cliifs, New Jersey
- Francis, G., Z. Kerem, H. P. S. Makkar, K. Becker. 2002. The biological action of saponins in animal system: a review. *Br. J. Nurt.* 88 :587-605.
- Hart K. J., D. R. Ya nez-Ruiz, S. M. Duval, N. R. McEwan, C. J. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *J. Anim. Feed Sci. and Tech.* 147: 8–35
- Hess, H. D., M. Kreuzer, T. E. Diaz, C. E. Lascano, J. E. Carulla & C. R. Soliva. 2003. Saponin rich tropical methanogenesis in faunated and

- fruits affect fermentation and defaunated fluid. *J. Anim Feed Sci Technol* 109:79–94.
- Hu, Wei-lian, W. Yue-ming, L. Jian-xin, G. Yanqiu and Y. Jun-an. 2005. Tea saponins affect in vitro fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *J. Zhejiang Univ. Sci* 6 (8): 787-792
- Jayanegara, A. 2008. Reducing methane emissions from livestock: nutritional approaches. Proceedings of Indonesian Students Scientific Meeting (ISSM), Institute for Science and Technology Studies (ISTECS) European Chapter, 13-15 May 2008, Delft, the Netherlands: 18-21.
- Jayanegara, A. and A. Sofyan. 2008. Penentuan aktivitas biologis tanin beberapa hijauan secara in vitro menggunakan 'hohenheim gas test' dengan polietilen glikol sebagai determinan. *Media Peternakan* 31(1): 44-52
- Jayanegara A, H. P. S. Makkar and K. Becker. 2009. Emisi metana dan fermentasi rumen in vitro ransum hay yang mengandung tanin murni pada konsentrasi rendah. *Media Peternakan* 32 (3): 184-194
- Jouany, J. P. 1991. Defaunation of The Rumen. In: J. P. Jouany (Ed). *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. Institute Nationale De La recherche Agronomique, INRA
- Martin, C., M. Doreau, D. P. Morgavi. 2008. Methan mitigation in ruminants: from rumen microbes to the animal. *Livestock & Global Climate Change Conference*, Hammamet, Tunisia
- McSweeney, C., S. B Palmer., D. M. Mc Neill. and D. O Krause. 2001. Microbial interactions with tanins: nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed Sci* 81: 83-93
- Mueller, H. I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* 86: 2010-2037
- Patra, A. K. and J. Saxena. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *J. Phytochemistry.* 71: 1198– 1222
- Pen B., C. Sar, B. Mwenya, K. Kuwaki, R. Morikawa, and J. Takahashi. 2006. Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on in vitro ruminal fermentation and methane emission. *J. Anim. Feed Sci. and Tech.* 129: 175–186
- Puchala, R., B. R. Min, A. L. Goetsch & T. Sahl. 2005. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J., Anim Sci.* 83: 182-186.
- Suharti S., D. A. Astuti, & E. Wina, T. Toharmat. 2011. Rumen microbial in the in vitro fermentation of different rations of forage and concentrate in the presence of whole lerak (*Sapida rerak*) fruit

- extract. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(8):1086-1091
- Takahashi, J. 2006. Greenhouse gases emission and sustainable development of animal agriculture. <http://ir.obihiro.ac.jp/dspace/bitstream.pdf> [16 Oktober 2012]
- Tan H. Y., C. C. Sieo, N. Abdullah, J. B. Liang, X. D. Huang, & Y. W. Ho. 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. *J. Anim. Feed Sci. and Tech.* 169: 185–193
- Tavendale, M. H., L. P. Meagher, D. Pacheco, N. Walker, G. T. Attwood and S. Sivakumaran. 2005. Methane production from in vitro rumen incubation with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 403-419.
- Thalib A. 2008. Buah lerak mengurangi emisi gas metan pada hewan ruminansia. balai penelitian ternak. Ciawi, Bogor.
- Wiryanawan, K. G., E. Wina & R. Ernawati. 1999. Pemanfaatan tanin kaliandra sebagai agen pelindung beberapa sumber protein pakan (in vitro). *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayati* hal: 278-289