

Efek Ekstrak Daun Murbei Terfermentasi sebagai Komponen Pakan terhadap Performa Mencit

The effect of fermented mulberry leave extract supplementation on performance of mice

Syahriani Syahrir¹, Komang Gede Wiryawan², Aminuddin Parakkasi², Winugroho³, Christina Lini²

¹Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, UNHAS, Kampus UNHAS Tamalanrea Jl. P Kemerdekaan KM 10 Makassar, e mail : nanisyahrir@yahoo.co.id

²Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB

³Balai Penelitian Ternak, Ciawi

ABSTRACT

Mulberry leaves has a great potential as animal feeds because of its high nutrient content. It also has deoxynojirimycin (DNJ) compound, that is potential to increase fermentability of fibrous feed in ruminal systems. The aim of experiment was to study the effect of fermented mulberry leaves extract (MLE) utilization in mice feed as animal model for the post ruminal system. The experiment was carried out using a completely randomized design with 6 treatments and 4 replications. The treatments were: P0 (semi purified diet) as a control, P1(P0+fermented rumen liquid without MLE), P2 (P1+MLE 0.06% DNJ), P3 (P1+ fermented MLE 0.06% DNJ), P4 (P1+MLE 0.12% DNJ), P5 (P1+ fermented MLE 0.12% DNJ). The results showed that MLE significant ($P<0.05$) reduced daily body weight, consumption, feed digestibility and blood glucose. It is concluded that DNJ are not fully degraded in the rumen, so it still has negatives effect to the post ruminal system.

Key words: mulberry leaves extract, 1-deoxynojirimycin, undegraded in vitro, mice.

ABSTRAK

Kandungan nutien dan produksi daun murbei cukup tinggi sehingga berpotensi menjadi sumber pakan ternak. Namun, daun murbei mengandung senyawa aktif 1-deoxynojirimycin (DNJ), yang dapat menghambat hidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Penghambatan tersebut dapat meningkatkan fermentabilitas pakan berserat dalam system rumen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji dampak senyawa DNJ yang terkandung dalam ekstrak daun murbei (EDM) dalam sistem pasca rumen. Penelitian menggunakan mencit sebagai hewan model pencernaan pasca rumen. Penelitian terdiri atas 6 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan terdiri atas: P0 = Ransum *semi purified* (kontrol), P1 = P0 + padatan residu fermentasi *in vitro*, P2 = P1 + EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,03%, P3 = P1 + padatan residu fermentasi *in vitro* yang diberi substrat EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,03%, P4 = P1 + EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06%, dan P5 = P1 + padatan residu fermentasi *in vitro* yang diberi substrat EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06%. Hasil penelitian menginformasikan bahwa penambahan ekstrak daun murbei dalam pakan mengakibatkan penurunan bobot badan, konsumsi dan kecernaan pakan serta kadar glukosa darah mencit. EDM tidak terdegradasi sempurna dalam sistem rumen, sehingga masih berdampak negatif pada sistem pasca rumen. Namun, fermentasi EDM dapat mengurangi dampak negatif senyawa DNJ dalam sistem pasca rumen.

Kata kunci: Ekstrak daun murbei, 1-deoxynojirimycin, residu fermentasi in vitro, mencit.

PENDAHULUAN

Daun murbei berpotensi baik sebagai sumber pakan alternatif karena kandungan proteinnya cukup tinggi yaitu sebesar 20,4% (Machii *et al.*, 2002). Pemberian tepung daun murbei pada ayam petelur hingga 9 persen dalam ransum meningkatkan bobot telur maupun kualitas kuning telur, namun pada level pemberian sampai 15% dalam ransum menurunkan bobot telur dan rasio produksi (Suda, 1999). Berdasarkan hasil tersebut dapat diduga adanya kandungan senyawa yang membatasi penggunaan daun murbei sebagai pakan. Oku *et al.* (2006) melaporkan adanya senyawa 1- *deoxynojirimycin* (DNJ) dalam ekstrak daun murbei (EDM). Senyawa ini memiliki potensi menghambat proses hidrolisis berbagai jenis karbohidrat dan bekerja secara spesifik (Kimura *et al.*, 2004)

Bagi ternak ruminansia, kemampuan senyawa DNJ menghambat hidrolisis karbohidrat non struktural dalam sistem rumen akan meningkatkan biofermentasi pakan khususnya fraksi serat pakan, sehingga dapat menyediakan sumber energi bagi mikroba rumen secara berkesinambungan. Akibatnya, kondisi pH rumen akan tetap stabil, sehingga perkembangan mikroba penghasil enzim pencernaan serat tetap optimal. Permasalahan mungkin terjadi adalah apabila senyawa DNJ tidak terhidrolisis dalam rumen dan masuk ke sistem pasca rumen, atau bahkan terserap ke sistem sirkulasi darah. Kondisi tersebut berpotensi berpengaruh negatif, yakni menghambat hidrolisis karbohidrat pasca rumen. Senyawa DNJ menghambat aktivitas α -glukosidase dalam usus kecil dan juga menghambat hidrolisis disakarida (Yatsunami *et al.*, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati dampak senyawa DNJ dalam

sistem Pasca rumen setelah EDM yang mengandung senyawa DNJ difermentasi dalam sistem rumen.

MATERI DAN METODE

Penyiapan Residu Hasil Fermentasi *In Vitro*

Ekstrak daun murbei (EDM) diperoleh dengan melakukan ekstraksi daun murbei (*Morus alba*) mengikuti metode Oku *et al.* (2006) menggunakan ethanol 50%, sedangkan padatan hasil fermentasi *in vitro* diperoleh dengan mengikuti metode Tilley and Terry (1963) yang dimodifikasi, sebagai berikut: larutan buffer disiapkan, bahan-bahan terdiri atas 5 g trypticase, 1000 ml aquades dan 0,25 ml larutan mikro mineral dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer kapasitas 2.500 ml, diaduk sampai seluruh bahan larut. Ke dalam media tersebut ditambahkan 500 ml larutan penyangga rumen, 500 ml larutan mineral makro, 2,5 ml rezasurin 0,1% dan 100 ml larutan pereduksi. Media ditempatkan ke dalam *waterbath* pada suhu 39°C sambil dialiri gas CO₂. Kondisi medium diamati sampai tereduksi, dengan indikator perubahan warna media dari biru ke pink sampai menjadi bening, larutan buffer siap digunakan. Selanjutnya media buffer-cairan rumen disiapkan dengan menambahkan 500 ml cairan rumen yang telah dikoleksi dari rumen 2 ekor sapi pedaging ke dalam larutan buffer yang dialiri gas CO₂. Sebanyak 5 buah labu erlenmeyer kapasitas 500 ml yang telah terisi masing-masing 1 g maltosa dan EDM sesuai dengan perlakuan, ditambahkan 500 ml buffer-cairan rumen. Selanjutnya labu erlenmeyer ditutup dengan sumbat karet berventilasi, ditempatkan ke dalam *shaker waterbath* dan diinkubasi selama 6 jam. Setelah proses inkubasi selesai, isi labu

erlenmeyer dituang ke wadah penampungan masing-masing perlakuan yang telah disiapkan, lalu ditempatkan ke dalam oven dengan suhu 80°C sampai seluruh airnya menguap. Hasil fermentasi yang telah kering dicampur dengan ransum *semi purified* sesuai perlakuan.

Prosedur Penelitian *In vivo*

Percobaan dilakukan terhadap 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan dengan bobot badan 28,7±3,4 gram sebagai hewan model. Ransum mencit berupa ransum *semi purified*, terdiri atas 66 % karbohidrat, 22% casein, 12% minyak jagung, mineral dan vitamin (Jordan *et al.* 2003), ekstrak daun murbei serta padatan hasil fermentasi *in vitro*.

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 kali ulangan. Masing-masing unit percobaan terdiri atas 1 ekor mencit. Perlakuan terdiri dari:

- P0 = Ransum *semi purified* (kontrol)
- P1 = P0 + padatan residu fermentasi *in vitro*
- P2 = P1 + EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,03%
- P3 = P1 + padatan residu fermentasi *in vitro* yang diberi substrat EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,03%
- P4 = P1 + EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06%
- P5 = P1 + padatan residu fermentasi *in vitro* yang diberi substrat EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06%.

Pemeliharaan hewan percobaan dilakukan selama 24 hari (3 hari masa adaptasi dan 21 hari masa koleksi data). Peubah yang diukur adalah konsumsi dan pencernaan pakan, pertambahan bobot hidup harian (PBHH) dan kadar glukosa darah. Pengambilan sampel darah dilakukan pada akhir penelitian dengan memotong mencit dan mengambil darah dari bagian jantung dan ditetaskan pada

strip glukosa. Selanjutnya, strip glukosa dimasukkan ke dalam *glucose test* (Smith dan Mangkoewijoyo, 1988). Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan alat *Accu-check Active* produksi Roche Jerman.

Data yang diperoleh dianalisis berdasarkan sidik ragam menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (Steel and Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data produktivitas mencit perlakuan disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis ragam menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap peubah-peubah yang diamati akibat perbedaan perlakuan. Penambahan padatan kering hasil fermentasi cairan rumen *in vitro* ke dalam ransum kontrol (P0) sangat nyata mengurangi konsumsi bahan kering ransum ($P < 0,01$).

Tingkat konsumsi bahan kering harian mencit memperlihatkan nilai yang nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) pada perlakuan P0 dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penurunan tingkat konsumsi akibat penambahan padatan residu fermentasi cairan rumen *in vitro*, mungkin lebih dipengaruhi oleh palatabilitas ransum, dengan adanya bau khas pada ransum yang ditambah padatan residu fermentasi cairan rumen *in vitro*. Parakkasi (1999) menyatakan bahwa tingkat konsumsi atau *voluntary feed intake* (VFI) menggambarkan palatabilitas ransum.

Penurunan konsumsi bahan kering ransum oleh mencit akibat penambahan padatan hasil fermentasi cairan rumen *in vitro* tidak mengganggu kecukupan kebutuhan nutrisi mencit. Hal ini diindikasikan dengan masih adanya pertambahan bobot hidup pada mencit

Tabel 1 Rataan konsumsi, pencernaan, PBHH dan kadar glukosa darah mencit yang mendapat ransum dengan berbagai perlakuan ekstrak daun murbei

Peubah	Perlakuan					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
Konsumsi BK (g/e/h)	3,38 ^a ±0,33	2,18 ^b ±0,23	1,58 ^c ±0,07	2,13 ^b ±0,32	2,94 ^a ±0,23	2,12 ^b ±0,27
Kecernaan BK (%)	85,22 ^a ±2,26	79,74 ^{ab} ±2,15	76,71 ^b ±4,06	77,30 ^b ±2,35	77,33 ^b ±2,28	78,79 ^b ±3,27
PBHH (g/e/h)	0,50 ^a ±0,07	0,27 ^b ±0,05	-0,16 ^d ±0,03	0,10 ^c ±0,23	-0,14 ^d ±0,11	0,01 ^{cd} ±0,04
Glukosa Darah (mg/dl)	198,0 ^a ±40,8	167,5 ^{ab} ±7,9	142,8 ^{bc} ±5,4	145,5 ^{bc} ±7,8	125,0 ^c ±21,5	147,3 ^{bc} ±30,8

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)
P0 = Ransum *semi purified* (kontrol); P1 = P0 + padatan residu fermentasi *in vitro*; P2 = P1 + EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,03%; P3 = P1 + padatan residu fermentasi *in vitro* yang diberi substrat EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,03%; P4 = P1 + EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06%; P5 = P1 + padatan residu fermentasi *in vitro* yang diberi substrat EDM dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06%.

yang diberi padatan hasil fermentasi cairan rumen *in vitro* dalam ransum (P1, P3 dan P5).

Berbeda dengan tingkat konsumsi bahan kering ransum, tingkat pencernaan ransum berkurang akibat penambahan EDM dalam ransum. Kecernaan ransum kontrol (P0) tidak berbeda nyata dengan ransum yang hanya ditambah padatan hasil fermentasi cairan rumen *in vitro* (P1), tetapi nyata lebih tinggi dibandingkan dengan ransum yang ditambahkan EDM (P2 sampai P5). Penurunan tingkat pencernaan ransum akibat penambahan EDM mengindikasikan adanya penghambatan hidrolisis nutrien, khususnya karbohidrat oleh senyawa DNJ yang terkandung dalam ekstrak daun murbei. Arai *et al.* (1998) menyatakan bahwa senyawa DNJ dapat menghambat hidrolisis disakarida.

Dampak negatif kehadiran senyawa DNJ dalam ransum lebih tampak pada respon perubahan bobot hidup harian mencit. Pertambahan bobot hidup harian mencit yang diberi ransum kontrol (P0) nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan mencit yang diberi

perlakuan lainnya. Demikian pula dengan mencit yang mendapat perlakuan P1. Secara keseluruhan, perlakuan penambahan ekstrak daun murbei berdampak mengurangi pertambahan bobot hidup harian mencit.

Tingkat perubahan bobot harian mencit pada Tabel 1 memperlihatkan hasil yang berbeda antara mencit yang mendapat EDM fermentasi dibandingkan dengan mencit yang mendapat EDM tanpa fermentasi. Mencit yang mendapat EDM fermentasi masih memperlihatkan pertambahan hidup badan, baik yang diberi DNJ sebanyak 0,03% (P3) maupun yang diberi DNJ sebanyak 0,06% dalam ransum (P5). Namun, pada mencit yang mendapat EDM tanpa fermentasi menunjukkan penurunan bobot hidup harian (P2 dan P4). Hasil pengamatan ini mengindikasikan adanya pengurangan aktivitas senyawa DNJ pada sistem pasca rumen akibat proses fermentasi dalam rumen. Hal ini sejalan dengan salah satu fungsi rumen yakni mengurangi bahkan menghilangkan senyawa-senyawa toksik yang mungkin masuk lewat pakan, dengan memecah senyawa-senyawa

tersebut sehingga menjadi tidak toksik, bahkan dapat bermanfaat sebagai sumber nutrisi. Senyawa yang dapat dimodifikasi dalam rumen menjadi senyawa yang tidak toksik antara lain oxalate, tannin, gossypol, mimosin dan glycoalkaloid (Dawson *et al.*, 1997). Senyawa DNJ adalah salah satu senyawa alkaloid yang ditemukan terdapat pada tanaman murbei. Oleh karena itu dampak negatif senyawa DNJ pada pasca rumen dapat berkurang akibat perubahan senyawa tersebut setelah melewati proses fermentasi rumen. Di dalam rumen, senyawa alkaloid yang toksik dapat di reduksi menjadi senyawa yang tidak toksik (Lanigan and Smith, 1970).

Penggunaan karbohidrat sampai 60% dalam ransum mengakibatkan kadar glukosa darah mencit cukup tinggi, antara 125 – 198 mg/dl (Tabel 1), atau diatas normal yaitu 62-175 mg/dl (Harkness and Wagner, 1989). Kadar glukosa darah mencit yang mendapat EDM nyata lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan mencit yang mendapat ransum kontrol (P0). Namun demikian, kadar glukosa darah yang paling rendah adalah pada mencit yang diberi EDM tanpa fermentasi dengan kadar DNJ ransum sebesar 0,06% (P4). Romaniouk *at al.* (2004) dan Oku *et al.* (2006) menyatakan bahwa senyawa 1-deoxynojirimycin memiliki kemampuan menghambat hidrolisis yang berbeda pada setiap jenis karbohidrat. Pengaruh senyawa 1-deoxynojirimycin sebanyak 0,06 % dalam pakan menghambat aktivitas α -1,4-glukosidase, sehingga kehadiran senyawa tersebut mengurangi glukosa yang terserap ke sel darah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Arai *et al.* (1998) bahwa senyawa DNJ dapat menghambat hidrolisis karbohidrat menjadi monosakarida dalam usus kecil.

Respon kadar glukosa darah mencit yang berbeda akibat perbedaan perlakuan mengindikasikan tingkat

efektivitas senyawa DNJ yang juga berbeda akibat perbedaan dosis dan perlakuan fermentasi. Dosis yang tinggi akan berdampak negatif yang lebih tinggi pula dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah. Hal ini dimungkinkan karena senyawa DNJ menghambat hidrolisis disakarida dengan mengganggu sisi aktif α -1,4-glukosidase, sehingga penghambatannya akan semakin tinggi bila dosisnya semakin tinggi pula.

SIMPULAN

Proses fermentasi pada sistem rumen *in vitro* terhadap EDM dapat mengurangi aktivitas senyawa DNJ pada sistem pencernaan dan metabolisme mencit. Hal ini sejalan dengan respon penambahan bobot hidup harian yang diperoleh dan ditampilkan dengan penambahan bobot hidup mencit yang mendapat EDM fermentasi. Karena itu fermentasi ekstrak daun murbei dapat mengurangi dampak negatif senyawa 1-deoxynojirimycin dalam sistem pasca rumen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Kerja Sama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi dengan kontrak nomor: 712/LB/620/I.1/3/2008 tanggal 4 Maret 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Arai, M. S. Minatoguchi, G. Takemura, Y. Uno, T. Kariya, H. Takatsu, T. Fujiwara, M. Higashioka, Y. Yoshikuni and H. Fujiwara. 1998. N-Methyl-1-deoxynojirimycin

- (MOR-14), an α -glucosidase inhibitor, markedly reduced infarct size in rabbit hearts. *A Heart Assoc.* 97:1290-1297.
- Dawson, K. A., M. A. Rasmussen and M. J. Allison. 1997. Digestive disorders and nutritional toxicity. Di dalam: Hobson PN, Stewart CS, editor. *The Rumen Microbial Ecosystem*. Ed ke-2. Blackie Academic & Professional, London: 633-660.
- Jordan, J. E., S. A. Simandle, C. D. Tulbert, D. W. Busija and A. W. Miller. 2003. Fructose-fed rats are protected against ischemia/reperfusion injury. *J. of Pharmac. and Exp. Therapeutics* 307:1007-1011.
- Harkness, J. E., and J. E. Wagner. 1989. *The Biology and Medicine of Rabbit and Rodents*. 2nd Edition. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Kimura, T. K., K. Nakagawa, Y. Saito, K. Yamagishi, M. Suzuki, K. Yamaki, H. Shinmoto and T. Miyasawa. 2004. Determination of 1-deoxyojirimycin in mulberry leaves using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection. *J. Agric. Food Chem.* 52 (6):1415-1418.
- Lanigan, G. W., and L.W. Smith. 1970. Metabolisms of pyrrolizidine alkaloids in the rumen. 1. Formation of 7 α -hydroxy-1 α -methyl-8 α -pyrrolizidine from heliotrine and lasiacarpine. *Aus. J. Agric. Res.* 21: 493-500.
- Machii, H., A. Koyama, and H. Yamanouchi. 2002. Mulberry Breeding, Cultivation and Utilization in Japan. Sanchez, M.D., editor. *Mulberry for Animal Production*. Proceedings of an electronic conference carried out, May and August 2000. Roma: FAO Animal Production and Health Paper 147: 63-72
- Oku, T., M. Yamada, M. Nakamura, N. Sadamori and S. Nakamura. 2006. Inhibitory effects of extractives from leaves of *Morus alba* on human and rat small intestinal disaccharidase activity. *J. of Nutr.* 95: 933-938.
- Parakkasi, A. 1999. *Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminansia*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Romaniouk, A.V., A. Silva, J. Feng, and I. K. Vijay. 2004. Synthesis of a novel photoaffinity derivative of 1-deoxyojirimycin for active site-directed labeling of glucosidase I. *Glycobiology* 14 (4): 301-310
- Smith, J. B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Suda, T. 1999. Inhibitory effect of mulberry leaves on ammonium emission from poultry excrement. Abstract of Gunma Agriculture-related experiment stations meeting.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Metode Pendekatan Biometrik*. Edisi Kedua. Terjemahan: B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. Two stage technique for in vitro digestion of forage crops. Di dalam: Close WH, Menke KH. Editor. 1986. *Manual Selected Topics in Animal Nutrition*. Germany: University of Hohenheim, The Institute of Animal Nutrition, Stuttgart.
- Yatsunami, K. Y. Saito, E. Fukuda., S. Onodera, and K. Oshigane. 2003. α -Glucosidase inhibitory activity in leaves of some mulberry varieties. *J. of Food Sci. Technol.* 9 (4):392-39.