

Strategi mitigasi gas metan pada ternak ruminansia. Review

N.W.H. Tuwaidan*, E.H. B. Sondakh, C. L. Kaunang

Fakultas Peternakan Universitas Sam Ratulangi Manado 95115

*Korespondensi (*corresponding author*) Email: tuwaidan.nancywh@gmail.com

ABSTRAK

Artikel review ini bertujuan mengevaluasi pilihan-pilihan yang telah terbukti memitigasi emisi enterik CH₄ ternak ruminansia. Metan (CH₄) merupakan gas rumah kaca (GRK) yang dihasilkan dan dilepaskan melalui erupsi ke atmosfer dalam volume yang besar oleh ternak ruminansia. Enterik CH₄ berkontribusi signifikan terhadap emisi GRK global yang dihasilkan dari peternakan. Emisi metan global dari fermentasi enterik pada tahun 2020 menyumbang 68,3%, dengan kontribusi peternakan sekitar 90% dari total emisi tersebut (Galati *et al.*, 2023). Emisi enterik CH₄ pada ternak ruminansia telah menarik banyak perhatian karena dampaknya terhadap GRK. Mengurangi emisi enterik CH₄ dari produksi ternak ruminansia merupakan salah satu langkah yang strategis untuk membatasi kenaikan suhu global hingga 1,5°C pada tahun 2050. Karena pemanasan global merupakan kekhawatiran utama maka minat terhadap strategi mitigasi gas CH₄ yang berasal dari ternak ruminansia telah meningkat pesat dalam beberapa tahun terakhir. Strategi mitigasi melibatkan intervensi nutrisi, konsumsi bahan kering, profil dan kualitas pakan, interaksi antara mikroba serta ekologi rumen yang mempengaruhi emisi CH₄ berdampak signifikan terhadap produksi CH₄. Kesimpulan: mengembangkan strategi mitigasi gas CH₄ yang efisien dan efektif sekaligus meningkatkan produktivitas ternak ruminansia merupakan hal yang sangat penting untuk dicapai secara berkelanjutan. Emisi gas CH₄ ternak ruminansia memiliki konsekuensi dibandingkan spesies ternak lainnya karena aktivitas fermentasi yang lebih tinggi terutama enterik CH₄.

Kata Kunci: Enterik metan, metabolit sekunder, pakan ternak, perubahan iklim

ABSTRACT

MITIGATION STRATEGY OF METHANE IN RUMINANT. REVIEW. This paper describes the evaluate options that have been proven to mitigate enteric CH₄ emissions from ruminant livestock. Methane (CH₄) is a greenhouse gas (GHG) which is produced and released through eruption into the atmosphere in large volumes by ruminants. Enteric CH₄ contributes significantly to global GHG emissions resulting from livestock. Global methane emissions from enteric fermentation in 2020 accounted for 68.3%, with livestock contributing approximately 90% of the total emissions (Galati *et al.*, 2023). Enteric emissions of CH₄ in ruminants have attracted much attention because of their impact on GHG's. Reducing enteric CH₄ emissions from ruminant livestock production is one of the strategic steps to limit global temperature rise to 1.5°C by 2050. Because global warming is a major concern, interest in mitigation strategies for CH₄ gas originating from ruminant livestock has increased rapidly. in recent years. Mitigation strategies involve nutritional interventions, dry matter consumption, feed profile and quality, interactions between microbes and rumen ecology which influence CH₄ emissions and have a significant impact on CH₄ production. Conclusion: developing an efficient and effective CH₄ gas mitigation strategy while increasing ruminant livestock productivity is very important to achieve in a sustainable manner. Ruminant livestock CH₄ gas emissions have consequences compared to other livestock species due to higher fermentation activity, especially enteric CH₄.

Keywords: Enteric methane, secondary metabolites, animal feed, climate change

PENDAHULUAN

Permasalahan lingkungan yang dihadapi sekarang ini adalah dampak pemanasan global akibat meningkatnya konsentrasi gas rumah kaca (GRK) (Terry *et al.*, 2023) yang terperangkap di atmosfir (Hansen *et al.*, 2007). Karbon dioksida (CO_2), metan (CH_4), dan dinitrogen oksida (N_2O) adalah tiga GRK yang paling signifikan (Islam and Lee, 2019; Martin *et al.*, 2010) dan sektor pertanian menyumbang 26,0% GRK antropogenik global Terry *et al.*, (2023). Gas-gas tersebut menyerap panas matahari dan menghangatkan atmosfer dengan menyerap energi dan memperlambat laju pelepasannya ke luar angkasa (Króliczewska, *et al.*, 2023). Konsekuensi dari peningkatan GRK maka terjadi pemanasan global dan perubahan iklim (IPPC, 2018) yang berdampak bagi kehidupan manusia ternak maupun lingkungan (Moss, *et al.*, 2000; Beauchemin *et al.* 2020).

Perubahan iklim berdampak besar pada ekosistem dan sumber daya alam yang menjadi tumpuan sektor peternakan (Zhao *et al.* 2020; Kuraz, *et al.*, 2021). Perubahan iklim global akan mempengaruhi sektor peternakan secara langsung, melalui peningkatan suhu, perubahan jumlah curah hujan dan pergeseran pola curah hujan. Sedangkan dampak tidak langsung akan dialami melalui modifikasi ekosistem, hasil perubahan, kualitas dan jenis tanaman pakan, kemungkinan peningkatan penyakit hewan, aksesibilitas air, reproduksi dan kesehatan hewan, tekanan panas, keanekaragaman hayati serta peningkatan persaingan sumber daya ((Rojas-Downing *et al.*, 2017; Zhao *et al.* 2020; Kuraz, *et al.*, 2021;). Pada saat yang sama, rantai makanan ternak merupakan kontributor utama emisi GRK (FAO, 2021).

Subsektor peternakan merupakan penyumbang emisi GRK seperti karbon dioksida (CO_2), metan (CH_4), dinitrogen

oksida (N_2O) secara nyata baik secara langsung dari enterik fermentasi atau secara tidak langsung seperti aktivitas produksi pakan dan konversi hutan menjadi pastura (Hristov, *et al.*, 2013; Jayanegara, *et al.*, 2020). Secara global sektor peternakan menyumbang 14,5% dari emisi GRK dari seluruh emisi antropogenik (Veneman *et al.*, 2015; Rojas-Downing *et al.*, 2017; Morkhade *et al.*, 2020; Kebreab *et al.*, 2023), sementara permintaan produk ternak diperkirakan akan meningkat 100% pada pertengahan abad ke-21. Oleh karena itu, tantangannya adalah menjaga keseimbangan antara produktivitas, ketahanan pangan rumah tangga, dan pelestarian lingkungan. Peternakan diasumsikan bertanggung jawab atas porsi terbesar, yaitu hampir 80% dari total emisi GRK pertanian (Broucek, 2014).

CH_4 telah diidentifikasi sebagai kontributor yang signifikan terhadap pemanasan global (Yusuf, *et al.*, 2012), dan dari perspektif iklim Glasson *et al.* (2022) emisi CH_4 merupakan kontributor terbesar kedua gas rumah kaca setelah CO_2 (Soliva and Hess, 2007; Getabalew *et al.*, 2020), serta mampu meretensi panas 25 - 28 kali lebih besar daripada CO_2 (Kumar, 2014; De la Fuente *et al.* 2019; Islam and Lee (2019); Zhao *et al.* 2020; Yu *et al* 2021; Sun *et al.*, 2023; Yi *et al.*, 2023) juga mempengaruhi degradasi lapisan ozon (Broucek, 2014; Getabalew *et al.* 2020). Emisi gas CH_4 hasil fermentasi pakan pada ternak ruminansia sekitar 72 Tg – 81 Tg atau diperkirakan 17–30 % kontribusinya terhadap pencemaran CH_4 di Atmosfir (Soliva and Hess, 2007; Iqbal, *et al.*, 2008). Hook *et al.*, (2010) melaporkan bahwa ternak ruminansia seperti sapi, domba dan kambing memproduksi CH_4 sebesar 86 Tg per tahun, dimana sekitar 18,9 Tg berasal dari sapi perah, 55,9 Tg berasal dari sapi pedaging dan 9,5 Tg berasal dari kambing dan domba. Secara global emisi CH_4 enterik mencapai sekitar 87-97 Tg CH_4 per tahun dan berkontribusi terhadap sumber penting

emisi gas rumah kaca antropogenik global. (Yi *et al.*, 2023).

Pertumbuhan penduduk dan urbanisasi yang cepat serta perubahan pola makan dan meningkatnya standar hidup global telah mengakibatkan meningkatnya permintaan global akan produk ternak, dengan dampak negatif terhadap perubahan iklim. Organisasi Pangan sedunia (FAO, 2021) memperkirakan bahwa pada tahun 2050, sekitar 50 persen akan membutuhkan makanan yang lebih banyak, terutama di negara-negara berkembang. Peningkatan suhu, peningkatan variabilitas iklim, dan kejadian cuaca ekstrim yang lebih sering dan parah, semuanya mengancam sistem produksi ternak. Sementara itu total luas lahan budidaya global tidak berubah sejak tahun 1991, yang mencerminkan peningkatan produktivitas dan upaya intensifikasi Rojas-Downing *et al.* (2017).

Emisi enterik CH₄ yang dihasilkan oleh fermentasi mikroba dalam rumen secara eksklusif oleh archaea metanogenik sebagai produk alami selama fermentasi mikroba di reticulorumen (Pitta *et al.*, 2022), mengakibatkan terjadinya emisi GRK ke atmosfer. Pengurangan emisi GRK dari industri peternakan dapat dicapai dengan meningkatkan efisiensi produksi dan meningkatkan efisiensi pakan, dengan menurunkan intensitas emisi produksi, atau dengan menggabungkan keduanya. (Min *et al.*, 2022). Ulasan ini akan menguraikan secara komprehensif strategi mitigasi emisi enterik CH₄ pada ternak ruminansia.

Metanogenesis Enterik pada Ruminansia

Mikroba rumen sangat kompleks, terdiri dari bakteri (1010–1011 cfu·mL⁻¹, > 200 spesies), protozoa (104–106 cfu·mL⁻¹, 25 genera), jamur (103–105 cfu·mL⁻¹, 6 genera) dan metanogen (106 cfu·mL⁻¹) (Sun *et al.*, 2023). Enterik CH₄ dari ternak ruminansia terutama berasal dari rumen dan dibentuk oleh aksi kelompok mikroba khusus disebut metanogen (Attwood and McSweeney, 2008).

Metanogen dalam rumen termasuk dalam filum Euryarchaeota dari domain

Archaea (Hook *et al.*, 2010). Metanogen kekurangan peptidoglikan di dinding sel digantikan oleh pseudomurein di *Methanobrevibacter* dan *Methanobacterium*, heteropolisakarida di *Methanosarcina*, dan protein dalam *Methanomicrobium*. Semua metanogen memiliki koenzim F420 yang merupakan kofaktor yang diperlukan untuk enzim seperti hidrogenase dan format dehydrogenase (Attwood and McSweeney, 2008; Hook *et al.*, 2010). Metanogen dibagi menjadi lima ordo yaitu *Methanosarcinales*, *Methanomicrobiales*, *Methanobacterales*, *Methanococcales* dan *Methanopyrales*. Di dalam rumen metanogen merupakan kelompok Archaea yang besar dan beragam. Di antara mikrobiota rumen, anggota domain Archaea, khususnya metanogen, diperkirakan mencakup sekitar 0,3 - 3 % biomassa dan memainkan peran penting dalam fermentasi mikroba (Abecia *et al.*, 2014). Studi terbaru mengungkapkan bahwa terdapat 2,8 sampai 4% metanogen rumen milik domain archaea rumen. Lebih dari 90% archaea rumen merupakan anggota genera; *Methanobrevibacter* (lebih dari 60%), *Methanomicrobium* (hingga 15%), dan sisanya dari archaea rumen disebut rumen cluster C sekitar 16% atau *Thermoplasmatales* yang fungsinya dalam rumen belum diketahui (Öztürk and Gür, 2021). Meskipun mikroba rumen ini dalam jumlah kecil, efek archaea metanogen rumen pada fermentasi rumen sangat signifikan karena metanogen adalah produsen CH₄ utama dalam rumen.

Biasanya populasi metanogen berkisar antara 107 hingga 109 g⁻¹ isi rumen pada ruminansia yang diberi makan konsentrat dan kandungan rumennya mencapai 109 hingga 1010 g⁻¹ pada ruminansia yang diberi makan padang rumput. Sampai saat ini metanogen, seperti *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobrevibacter smithii*, *Methanobrecibacter millerae*, *Methanobrevibacter olleyae*, *Methanobacterium formicum*, *Methanobacterium bryantii*,

Methanosarcina barkeri, *Methanosarcina mazai* dan *Methanomicrobium mobile* telah diisolasi melalui kultur (Qiao *et al.*, 2014; Islam and Lee, 2019).

Mayoritas Archaea dalam rumen adalah metanogen, yang memanfaatkan hidrogen (H_2) sebagai sumber energi untuk mereduksi CO_2 menjadi CH_4 dan menyediakan faktor pereduksi teroksidasi (misalnya NAD^+) ke jalur metabolisme mikroba lainnya. Namun, pelepasan CH_4 mengakibatkan hilangnya energi makanan dan setelah dilepaskan ke lingkungan (Hook *et al.*, 2010; Chauvelier-Durand *et al.*, 2010), metan akan bertindak sebagai gas rumah kaca yang kuat, dengan dampak yang jauh lebih besar terhadap perubahan iklim dibandingkan CO_2 (Abecia *et al.*, 2014).

Metanogenesis merupakan jalur biokimia yang penting untuk mempertahankan kelanjutan fermentasi rumen dengan memanfaatkan hidrogen metabolik [H] dan menjaga tekanan parsial H_2 tetap rendah (Wang *et al.*, 2023). Pembentukan CH_4 pada ternak ruminansia melalui proses yang panjang dan melibatkan serangkaian reaksi yang kompleks (Attwood and McSweeney, 2008), melibatkan mikroba yang berperan pada pembentukan gas CH_4 (Attwood and McSweeney, 2008; De la Fuente *et al.*, 2019; Getabalew *et al.*, 2020). Enterik CH_4 merupakan produk akhir alami dari fermentasi mikroba pakan dalam rumen dan usus belakang ternak ruminansia (Johnson dan Johnson, 1995; Guyader *et al.*, 2015; Van Gastelen *et al.*, 2020).

CH_4 diproduksi secara eksklusif oleh metanogenik archaea melalui jalur hidrogenotrofik menggunakan CO_2 sebagai sumber karbon dan H_2 sebagai donor elektron utama, dan kedua melalui pemanfaatan gugus metil (jalur metilotrofik), ketiga jalur yang jarang dari asetat (asetoklastik). Reaksi metanogenesis menggunakan H_2 untuk mereduksi CO_2 menjadi CH_4 : $CO_2 + 4H_2 = CH_4 + 2H_2O$ (Suybeng *et al.*, 2019).

Asam lemak volatil digunakan oleh hewan sebagai sumber utama energi,

sedangkan CO_2 dan H_2 digunakan untuk membentuk CH_4 , yang dikeluarkan ke atmosfer melalui pernafasan. Proses ini memungkinkan ruminansia memperoleh nutrisi dari hijauan dan lainnya bahan selulosa, sehingga menghindari persaingan langsung dengan manusia (Alemu *et al.*, 2021). Polisakarida (terutama selulosa, hemiselulosa, dan pati) yang dikonsumsi oleh ruminansia dihidrolisis dalam lingkungan anaerobik rumen oleh bakteri, didegradasi protozoa, dan jamur yang sebagian besar menghasilkan glukosa, heksosa dan pentosa lainnya, dengan monosakarida selanjutnya dimetabolisme menjadi asam lemak volatil (VFA), CO_2 NH_3 , dan CH_4 dengan hidrogen (H_2) sebagai zat antara (Calsamiglia *et al.*, 2007). VFA dimetabolisme dan diserap sebagai sumber energi utama bagi hewan ruminansia, sedangkan CH_4 dibentuk oleh archaea metanogenik dari CO_2 dan H_2 . Oleh karena itu enterik CH_4 merupakan produk sampingan dari proses fermentasi normal pakan dalam rumen dan usus belakang ternak ruminansia dan merupakan penyerap H_2 utama dalam rumen.

Metanogenesis rumen yang menyumbangkan CH_4 ke atmosfer berhubungan langsung dan berbanding terbalik dengan produktivitas ternak (Choudhury *et al.*, 2022). Kemampuan mengendalikan emisi CH_4 khususnya mengurangi metanogenesis dari pertanian mempunyai dampak lingkungan dan sosial ekonomi yang sangat besar implikasinya, namun hal ini juga memerlukan pemahaman yang mendalam mengenai mikroba dan proses mikroba yang terlibat. Metanogenesis adalah jalur untuk menghasilkan energi untuk metanogenik archaea (Yu, *et al.*, 2021). Archaea berasosiasi dengan protozoa (Janssen and Kirs 2008). Protozoa rumen umumnya terbagi menjadi flagellata dan ciliata, mewakili sekitar 20-50% dari total mikrobioma rumen. Sebaliknya ciliata sangat penting karena dapat menyerap karbohidrat dan mencegah fermentasi rumen yang tidak normal yang dapat

mengubah pH serta membuat lingkungan rumen tidak nyaman bagi mikrobiota. Protozoa mempunyai korelasi positif dengan produksi CH₄ karena terlibat dalam produksi H₂ yang selanjutnya diubah menjadi CH₄ oleh metanogen (Besharati *et al.*, 2022).

Protozoa rumen bersimbiosis dengan metanogen secara (ekto dan endosimbiotik), dan menyumbang hampir setengah dari biomassa dalam rumen (Newbold *et al.*, 2015; Benchaar, 2023). Penekanan protozoa dari rumen dapat meningkatkan pasokan protein mikroba ke inang hingga 30% dan menurunkan produksi CH₄ hingga 11% (Benchaar, 2023). Dengan demikian, penghilangan protozoa ciliata dari rumen dapat membantu mengurangi produksi enterik CH₄ dalam rumen dan mengurangi kehilangan energi yang terkait dengan metanogenesis rumen.

Ciliata rumen adalah protozoa yang paling melimpah, terdiri dari ciliata holotrich dan ciliate Entodiniomorphid. Ciliata Holotrich terutama mencerna karbohidrat larut, sedangkan ciliata Entodiniomorphid mencerna dan memanfaatkan bahan partikulat. Protozoa juga secara metabolik berhubungan dengan bakteri dan jamur, yang mengonsumsi oksigen dan meningkatkan jumlah bakteri anaerob (Newbold *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2023) Sebagai mitra sintrofik metanogenik, protozoa tidak hanya menyediakan H₂ tetapi juga substrat lain seperti NH₃, format, asetat, dan etanol untuk metanogen selama fermentasi rumen. Defaunasi ciliata protozoa meningkatkan pasokan protein mikroba hingga 30% dan mengurangi produksi CH₄ hingga 11% (Newbold *et al.*, 2015).

Di dalam rumen metanogen menghasilkan CH₄ dari substrat dalam jumlah terbatas, yaitu H₂ + CO₂, format, metanol dan asetat H₂ + CO₂, format dan asetat diturunkan dari fermentasi karbohidrat, sedangkan metanol berasal dari fermentasi pektin (Qiao *et al.*, 2014).

Menurut substrat yang berbeda metanogenesis rumen terjadi melalui tiga

jalur utama (Morgavi *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2022; Tenzin *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2023). 1. *Hydrogenotrophic*, menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon dan H₂ sebagai donor elektron utama. Selain itu format juga merupakan donor elektron yang penting digunakan oleh banyak metanogen *hydrogenotrophic* rumen dan dapat mencapai hingga 18% dari CH₄ yang diproduksi di dalam rumen 2. *Acetoclastic*, CH₄ juga dihasilkan dari asetat melalui jalur *acetoclastic* dan 3. *Methylo trophic*, metilamin dan metanol yang dihasilkan dalam rumen juga digunakan oleh metanogen pada jalur ini. Metanogenesis *hydrogenotrophic* adalah yang paling banyak sering terjadi, yang kemungkinan besar terjadi karena energi yang terlibat lebih menguntungkan, mengakibatkan pertumbuhan lebih lambat tingkat dan hasil sel yang lebih rendah untuk mikroorganisme yang terlibat di jalur metanogenesis lainnya (Attwood and McSweeney, 2008; Morgavi *et al.*, 2010; Islam and Lee, 2019; Pereira *et al.*, 2022).

Strategi mitigasi metan

Mitigasi CH₄ dapat dicapai dengan menargetkan metanogen secara langsung atau memodifikasi lingkungan rumen untuk menggeser metabolisme jalur menjauh dari metanogenesis atau mengurangi substrat untuk archaea (Honan *et al.*, 2022). Strategi nutrisi seperti menghambat kadar substrat, mengatur komposisi mikroba rumen, dan memanipulasi jalur metabolisme nutrisi, telah diteliti untuk menurunkan metanogenesis (Sun *et al.*, 2023).

Fomulasi pakan

Jumlah pakan yang dikonsumsi dan komposisi pakan mempunyai pengaruh besar terhadap produksi enterik CH₄ (Van Gastelen *et al.*, 2019). Pemberian pakan berkualitas baik dapat meningkatkan produktivitas ternak dan efisiensi pakan (Knapp *et al.*, 2014). Efisiensi pakan yang lebih tinggi berkorelasi positif dengan penurunan CH₄ (López Paredes *et al.*, 2021). Meningkatkan efisiensi pakan dan

mengurangi dampak lingkungan adalah target utama dalam ilmu ruminansia (Belanche *et al.*, 2020). Strategi nutrisi seperti menghambat kadar substrat, mengatur komposisi mikroba rumen, dan memanipulasi jalur metabolisme nutrisi, telah diteliti untuk menurunkan metanogenesis (Sun *et al.*, 2023). Strategi mitigasi CH₄ yang paling efektif adalah menyesuaikan pola makan hewan untuk melengkapi pakan yang tersedia secara sumber daya lokal sehingga produksi optimal diperoleh dari minimal ternak (Leng, 2014).

Modifikasi pola makan berhubungan langsung dengan perubahan pola fermentasi rumen dan jenis produk akhir (Haque, 2018). Manipulasi pola makan dengan mengubah komposisi pakan merupakan pendekatan yang paling mudah dan murah untuk mengurangi tingkat enterik CH₄ (Tenzin *et al.*, 2022). Strategi ini sendiri dapat mengurangi hingga 70% emisi CH₄ ruminansia dan tergantung pada metode atau sifat intervensi nutrisi. Pendekatan utama yang dilakukan adalah dengan mengubah jenis atau kualitas hijauan atau menyesuaikan rasio konsentrat terhadap hijauan dalam pakan. Produksi CH₄ dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas bahan pakan (Mitsumori and Sun 2008). Tanaman yang lebih muda mengandung lebih banyak karbohidrat yang dapat difерментasi, lebih sedikit serat yang tidak dapat dicerna (NDF), dan rasio C:N yang lebih rendah. Menghasilkan hijauan berkualitas tinggi, memastikan pencernaan dan laju pelepasan yang lebih tinggi, yang dapat mengarahkan fermentasi rumen menuju propionat. Karena propionat juga berfungsi sebagai penyerap H₂ alternatif, peningkatan produksi propionat menyebabkan berkurangnya H₂ yang tersedia untuk metanogenesis (Tenzin *et al.*, 2022). Pemberian pakan alfalfa berkualitas tinggi dan silase jagung dapat menurunkan produksi CH₄ sebesar 10 sampai 20% dalam sistem peternakan sapi perah skala besar (Mitsumori and Sun 2008).

Banyak intervensi pola makan telah digunakan pada ruminansia untuk memanipulasi mikroba rumen guna meningkatkan efisiensi pakan secara keseluruhan sekaligus mengurangi metanogenesis (Hassan *et al.*, 2020). Beberapa metodologi pakan telah dinilai dapat meningkatkan fermentasi rumen, terutama untuk mengurangi emisi CH₄. Strategi-strategi ini difokuskan untuk pertama meningkatkan efisiensi pakan dengan menggunakan pakan berkualitas, kedua mengubah jalur fermentasi rumen menggunakan berbagai macam bahan tambahan pakan, dan ketiga memanipulasi genetik hewan inang melalui pembiakan selektif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mengubah pola fermentasi adalah salah satu cara paling efektif untuk mengurangi CH₄. Perubahan pola makan yang diinginkan memberikan dua manfaat yaitu meningkatkan produksi dan mengurangi emisi GRK (Haque, 2018).

Reformulasi pakan melalui peningkatan proporsi konsentrat dalam pakan meningkatkan kepadatan energi pakan (Beauchemin *et al.*, 2022), meningkatkan asupan pakan dan kinerja pertumbuhan, serta pencernaan nutrisi (Dong *et al.*, 2019) menurunkan proporsi karbohidrat struktural, meningkatkan laju keluar rumen, dan menurunkan pH rumen, menurunkan produksi CH₄ per unit DMI serta pakan fermentasi (Beauchemin *et al.*, 2022). Mengubah proporsi pati dan serat dalam pakan ruminansia dapat mengubah pencernaan rumen dan pasca-rumen, melalui peningkatan proporsi silase jagung dalam pakan sapi perah dapat meningkatkan asupan dan performansi, serta menurunkan produksi CH₄ (Hart *et al.*, 2015). Suplementasi daun chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) dan rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) pada sapi potong pada level 2 dan 4% DMI meningkatkan fermentasi rumen, khususnya dengan meningkatkan konsentrasi C₃, mengurangi rasio C₂ : C₃, mengurangi produksi CH₄, dan meningkatkan konsumsi pakan serta

efisiensi pemanfaatan nitrogen (Ampapon *et al.*, 2022).

Pola makan yang berbasis padang rumput ryegrass dan gandum yang dihancurkan sebanyak 30% menghasilkan penurunan emisi CH₄ secara signifikan (Moate *et al.*, 2020).

Meningkatkan kandungan konsentrat makanan dapat meningkatkan asupan pakan dan laju pertumbuhan, meningkatkan kecernaan nutrisi, serta mengurangi emisi enterik CH₄ (Dong *et al.*, 2019). Emisi enterik CH₄ menurun secara signifikan seiring dengan meningkatnya kandungan konsentrat (Lileikis *et al.*, 2023). Meningkatkan jumlah konsentrat terutama yang mengandung pati dalam makanan, maka jumlah bakteri selulolitik berkurang dan jumlah bakteri amilolitik meningkat karena perubahan rasio substrat. Oleh karena itu bakteri amilolitik menghasilkan propionat bukan asetat serta mengubah rasio asetat : propionat. Karena perubahan rasio VFA, jumlah H₂ yang tersedia untuk archaea metanogenik menurun, dan pH rumen turun, yang pada gilirannya akan menghambat populasi bakteri selulolitik, protozoa, dan metanogen. Janssen (2010) menyatakan bahwa apabila produksi CH₄ menurun maka tekanan parsial dalam rumen meningkat maka akan terjadi pergeseran pola fermentasi yang nyata terhadap proporsi asam lemak propionat. Pembentukan asam propionat di dalam rumen memberikan dampak yang baik pada ternak karena pemanfaatan H₂ untuk sumber energi terpakai oleh ternak bukan dimanfaatkan oleh metanogen (Hristov *et al.*, 2013).

Peningkatan penggunaan oat secara linier menurunkan emisi CH₄ dari 467 menjadi 445 g/hari, dan intensitas CH₄ dari 14,7 menjadi 14,0 g/kg susu yang dikoreksi energi. Selain itu, rasio CH₄ terhadap CO₂ menurun seiring dengan meningkatnya penambahan oat ke dalam makanan (Ramin *et al.*, 2021).

Sistem silvopastoral dengan kacang-kacangan berkualitas tinggi (yaitu lamtoro, desmanthus), intensifikasi rotasi

pengelolaan penggembalaan dan suplementasi dengan mineral blok nutrisi yang mengandung penekan CH₄ (polong *Enterolobium cyclocarpum* atau *Samanea saman* atau biji *Brosimum alicastrum*) merupakan pilihan praktis yang tersedia bagi petani kecil untuk mengurangi emisi enterik CH₄ pada sapi yang dipelihara di daerah tropis (Ku-Vera *et al.*, 2020).

Suplementasi lipid

Asam lemak saat ini ditambahkan dalam pakan untuk meningkatkan kepadatan dan pemanfaatan energi, meningkatkan produksi susu, dan memanipulasi profil asam lemak susu (Fout *et al.*, 2022). Lipid dari makanan menimbulkan efek mitigasi CH₄ melalui beberapa mekanisme, termasuk toksitas terhadap metanogen dan protozoa; biohidrogenasi asam lemak tidak jenuh (UFA) yang berfungsi sebagai penyerap hidrogen metabolismik [H] dan mengalihkan fermentasi rumen untuk meningkatkan produksi propionat (Beauchemin *et al.*, 2022; Fout *et al.*, 2022). Selain itu fermentasi bahan organik dan daya cerna serat menurun ketika lipid menggantikan karbohidrat, mengakibatkan penurunan produksi VFA dan metanogenesis.

Efek penghambatan lipid makanan terhadap emisi CH₄ lebih besar pada pakan berbasis konsentrat dibandingkan dengan pakan berbasis hijauan, kemungkinan karena pH rumen yang lebih rendah terkait dengan pakan berbasis konsentrat, sehingga meningkatkan efek penghambatan asam lemak pada metanogen. Sejumlah penelitian menunjukkan rendahnya kadar lipid suplementasi makanan (<4% dari DMI makanan) dapat menurunkan produksi CH₄ hingga 20%, sekaligus meningkatkan kepadatan energi dalam pola makan dan memberikan manfaat bagi produktivitas ternak dalam beberapa kasus (Beauchemin *et al.*, 2020).

Meta-analisis (Almeida *et al.*, 2021) beberapa strategi pakan yang khusus dikembangkan untuk mengurangi produksi CH₄ enterik, yaitu menambahkan minyak ke

dalam makanan. Minyak (asam lemak tak jenuh ganda dan rantai menengah asam lemak jenuh) sebelumnya telah diketahui dapat menekan produksi CH₄ pada ruminansia. Menambahkan minyak ke dalam makanan ruminansia akan mengurangi produsen H₂ yaitu protozoa serta populasi metanogen dan dapat bertindak sebagai H⁺ akseptor melalui biohidrogenasi asam lemak.

H₂ dan CO₂ atau format adalah substrat utama untuk metanogen (Islam and Lee, 2019), dan beberapa mikroba dalam rumen menggunakan H₂ untuk menghidrogenasi ikatan rangkap tak jenuh asam lemak. Oleh karena itu produksi CH₄ terhambat karena penambahan asam lemak tak jenuh ke dalam makanan. Mekanisme reduksi CH₄ oleh lemak disebabkan oleh penurunan fermentasi bahan organik, kecernaan serat, dan dengan demikian jalur metanogenik serta penghambatan langsung metanogen dalam rumen melalui hidrogenasi asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh bertindak sebagai penyerap H₂ dalam rumen melalui dehidrogenasi dan reduksi terjadi dengan tingkat tertinggi. Hal itu juga dilaporkan bahwa suplementasi lemak seringkali mengurangi fermentasi karbohidrat karena efek toksik lemak pada bakteri selulolitik dan protozoa, sedangkan fermentasi pati tidak terpengaruh.

Suplementasi *virgin coconut oil* 2 - 8% dapat digunakan sebagai substrat pakan ruminansia karena dapat mereduksi gas CH₄ serta tidak mengganggu aktivitas mikroba secara *in vitro* (Sondakh *et al.*, 2015). Produksi CH₄ harian menurun sebesar 9% pada ternak yang diberi makan pakan yang dilengkapi dengan kombinasi minyak biji rami dan nitrat pada sapi jantan muda, dibandingkan yang diberi pakan kontrol (Popova *et al.*, 2017). Biji minyak bunga matahari, rami, kanola menurunkan produksi CH₄ ketika ditambahkan ke pakan ternak sapi perah (Beauchemin *et al.*, 2009).

Minyak jagung kaya akan asam lemak tak jenuh dengan PUFA >50%, yang dapat meningkatkan biohidrogenasi rumen asam lemak tak jenuh, menyebabkan

perubahan metabolisme H₂ rumen dan metanogenesis. Suplementasi minyak jagung (30 g/kg DM) dari pakan yang diberikan pada kambing tidak mengubah kecernaan bahan organik (Zhang *et al.*, 2019). Asam lemak tak jenuh dalam minyak memanfaatkan [H] dalam rumen pada proses biohidrogenasi dan dengan demikian dapat bersaing dengan H₂ metanogenesis. Suplementasi minyak jagung menurunkan ketersediaannya H₂ untuk metanogen melalui peningkatan biohidrogenasi dan asetogenesis reduktif, yang mengarah pada peningkatan produksi asetat dan penurunan emisi CH₄.

Penambahan minyak canola (CO)1,2 g CO/kg berat badan pada sapi yang merumput pakan ternak tropis *Urochloa* sp. dan ditambah dengan konsentrat komersial dalam jumlah tetap meningkatkan total asupan energi dan efisiensi fermentasi rumen sehingga meningkatkan nilai DE (Mcal/kg) diet hingga 12,4% dan mengurangi emisi CH₄ enterik hingga 17,5 (Aviles-Nieto *et al.*, 2023).

Pemberian garam kalsium dari minyak sawit dan biji rami sebesar 500 g/hari (22 g minyak/kg diet DM) pada sapi perah dalam ransum campuran total dengan perbandingan 50 : 50 hijauan : konsentrat (bahan kering (DM)) dengan hijauan 75 silase jagung : 25 silase rumput (DM) dapat menurunkan produksi CH₄ sebesar (1,8 l/kg DMI) (Kliem *et al.*, 2019). Penggunaan ampas kelapa dengan level 5 – 20% sebagai substrat antimetanogenik pada pakan ternak kambing denganimbangan 60% hijauan dan 40% konsentrat dapat mempertahankan kualitas fisik dan kimia daging serta menurunkan kolesterol daging (Sondakh *et al.*, 2022).

Essential oils (Minyak esensial)

Tanaman menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder yang berasal dari metabolisme sekunder (Calsamiglia *et al.*, 2007). Minyak essensial adalah campuran metabolit sekunder yang diperoleh dari fraksi volatil tanaman. Istilah “esensial” berasal dari “esensi”, yang

berarti bau atau rasa, dan berkaitan dengan sifat zat tersebut. Metabolit sekunder ini sulit untuk diklasifikasikan karena jalur sintesis metabolismnya serta sifat dan mekanisme kerjanya sering tumpang tindih, dan perbedaannya sulit dipastikan. Namun, secara umum dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu: minyak esensial, tanin dan saponin.

Skrining *in vitro* terhadap potensi berbagai spesies tanaman sebagai bahan tambahan pakan antimetanogenik untuk ruminansia terhadap 450 tanaman untuk mengetahui pengaruhnya terhadap produksi metan rumen menunjukkan enam spesies (yaitu, *C. pycnocephalus*, *P. tremula*, *Prunus avium*, *Q. robur*, *R. nobile* dan *S. caprea*) yang berpotensi dan, di dalamnya, *R. nobile*, *C. pycnocephalus* dan *P. tremula* sangat menjanjikan. Bahan tanaman dari spesies ini tidak memiliki efek penghambatan terhadap total produksi gas dan asam lemak volatil serta kecernaan bahan kering secara *in vitro* (Bodas *et al.*, 2008). Metabolit sekunder tanaman mempunyai efek penting pada metanogen rumen, baik mempengaruhi metanogen secara langsung atau tidak langsung dengan mempengaruhi protozoa rumen. Modulasi mikrobiota rumen termasuk metanogen dan protozoa dengan ekstrak tanaman seperti saponin, tanin dan minyak esensial mempunyai implikasi dalam perbaikan nutrisi hewan melalui penurunan kehilangan energi dari makanan, dan dalam pembatasan dampak negatif terhadap lingkungan melalui mitigasi produksi CH₄ (Cieslak *et al.*, 2013).

Essential oils (EO) memiliki sifat antimikroba spektrum luas dan umumnya dianggap aman untuk dikonsumsi manusia dan ternak (Tenzin *et al.*, 2022). Kebanyakan minyak esensial mempunyai aktivitas antimikroba dengan berinteraksi pada proses yang berhubungan dengan membran sel bakteri, termasuk transpor elektron, gradien ion, translokasi protein, fosforilasi (Beauchemin *et al.*, 2022). Beberapa menghambat pertumbuhan protozoa secara tidak langsung atau melalui

biohidrogenasi asam lemak tak jenuh sehingga membatasi ketersediaan H₂ untuk metanogen, yang menjadikannya alternatif yang cocok untuk antibiotik. Beberapa efek mungkin disebabkan oleh penurunan jumlah proteolitik bakteri atau metanogenesis yang lebih rendah (Nezhad *et al.*, 2011)

EO yang berasal dari tanaman mungkin merupakan cara yang bermanfaat untuk meningkatkan efisiensi pemanfaatan nutrisi pada ruminansia dan mengurangi dampak produksinya terhadap lingkungan (Benchaar *et al.*, 2008). Sebagian besar penelitian sampai saat ini dilakukan di secara *in vitro* dan bersifat jangka pendek, namun menunjukkan bahwa (EO) dan komponen aktifnya dapat mengubah fermentasi rumen. Pada dosis tinggi, EO dan konstituennya dapat menghambat deaminasi asam amino dan mengurangi produksi CH₄ dalam rumen.

EO dapat berinteraksi dengan membran sel mikroba dan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram positif dan gram negatif (Calsamiglia *et al.*, 2007). Penambahan beberapa ekstrak tanaman ke dalam rumen menghasilkan penghambatan deaminasi dan metanogenesis, menghasilkan amonia, CH₄, dan asetat yang lebih rendah, serta konsentrasi propionat dan butirat yang lebih tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak bawang putih, cinnamaldehyde (komponen aktif utama minyak manis kayu), eugenol (komponen aktif utama kuncup cengkeh), capsaicin (komponen aktif cabai), dan minyak adas manis, antara lain dapat meningkatkan produksi propionat, mengurangi produksi asetat atau CH₄, dan memodifikasi proteolisis, peptidolisis, atau deaminasi di rumennya. Namun, efek dari beberapa EO ini bergantung pada pH dan pola makan.

Meta-analisis EO (Dorantes-Iturbide *et al.*, 2022) dapat digunakan sebagai pemacu pertumbuhan alami pada ruminansia kecil dan pada saat yang sama meningkatkan konsumsi pakan serta efisiensi pakan. Selain itu suplementasi

pakan dengan EO meningkatkan kecernaan nutrisi, kualitas daging, dan umur simpan, serta produksi dan kualitas susu. Suplementasi makanan dengan EO meningkatkan fermentasi dan mengurangi dampak lingkungan dengan meningkatkan konsentrasi propionat rumen dan dengan mengurangi emisi CH_4 , konsentrasi nitrogen amonia rumen, serta jumlah total protozoa dan metanogen.

Penggunaan (EO) oregano (*Origanum vulgare* L.) dan rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) terhadap emisi gas rumen diuji secara *in vitro* dengan substrat pakan terdiri dari jerami alfalfa dan tepung jagung dengan perbandingan 1:1. Kedua EO tersebut memitigasi fermentasi rumen, namun oregano EO memberikan penurunan produksi CH_4 dan amonia yang paling tinggi. Pengurangan produksi CH_4 adalah 55%, 72% dan 71% masing-masing untuk dosis oregano EO 1,0, 1,5 dan 2,0 g/L, sedangkan rosemary EO (2,0 g/L) mengurangi produksi CH_4 sebesar 9%. (Cobellis *et al.*, 2015).

Diindikasikan bahwa EO dapat menekan produksi CH_4 baik dengan menghambat metanogenik archaea, perubahan dalam distribusi filogenetik populasi archeal atau aktivitas gen penghasil CH_4 (Dey *et al.*, 2017). Penggunaan 50 g produk EO thyme yang ditambahkan kedalam ramsum dasar (7,15 g/kg DM) sapi perah dapat menurunkan produksi CH_4 secara signifikan (Laabouri *et al.*, 2017).

Pemberian EO dari jambu mete dan biji jarak pada sapi jantan Holstein dapat meningkatkan kecernaan serat, mengurangi kerugian potensial energi dengan mengalihkan H^+ ke pembentukan propionat dan mengontrol laju ekskresi N serta dapat mengontrol produksi CH_4 (Castañeda Serran *et al.*, 2020).

Penggunaan ekstrak EO dari daun Eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*), daun Poplar (*Populus deltoids*) dan tunas Cengkih (*Syzygium aromaticum*) menurunkan produksi CH_4 secara maksimal

tanpa mempengaruhi kecernaan pakan secara *in vitro* (Kumar *et al.*, 2020).

Efisiensi campuran metabolit sekunder dari ekstrak bawang putih dan jeruk terhadap produksi CH_4 , fermentasi rumen, efisiensi pakan, dan kecernaan dalam berbagai cara pemberian pakan, secara *in vitro* pada level 20%/substrat berpotensi mengurangi produksi CH_4 secara efektif pada semua cara pemberian pakan. Perlakuan ini menunjukkan daya reduksi yang tinggi hingga 69% bila jumlah konsentrasi yang dikomposisikan mencapai 800 g/kg ransum, meningkatkan 20% produksi VFA, dan tidak mengganggu kecernaan serat (Ahmed *et al.*, 2021).

Penggunaan EO bawang putih dan kayu manis 900 mg/L inokulum rumen secara efektif menurunkan emisi CH_4 sebesar 64,7%; namun dapat menekan kecernaan bahan kering secara *in vitro* (Molho-Ortiz *et al.*, 2022). Penambahan EO lengkuas secara *in vitro* dengan dosis 60 $\mu\text{L}/300$ mg dalam (pakan DM) secara efektif dapat menurunkan bakteri *Prevotella* dan metanogen (Daning *et al.*, 2022).

Penggemukan sapi jantan yang diberi pakan tambahan berbahan dasar bawang putih dan jeruk dalam pakan dengan tiga konsentrasi hijauan berbeda terjadi penurunan produksi CH_4 pada pakan silase jagung 15% (Bitsie *et al.*, 2022). Suplementasi EO thyme dan kayu manis pada pakan anak sapi Holstein terjadi peningkatan konsentrasi propionat yang signifikan mungkin sebagian terkait dengan penurunan aktivitas metanogenesis, meskipun CH_4 tidak diukur secara langsung (Vakili *et al.*, 2013). Propionat merupakan produk akhir fermentasi rumen yang membutuhkan H_2 untuk produksinya. Oleh karena itu penghambatan produksi CH_4 biasanya disertai dengan peningkatan produksi propionat, dan terdapat korelasi negatif yang baik antara produksi propionat dan aktivitas metanogenesis.

Tanin

Kelas utama polifenol meliputi flavonoid, non flavonoid, dan tanin (Waqas

et al., 2023). Polifenol terbukti memberikan efek yang sangat positif dampaknya terhadap kesehatan manusia dan ternak. Polifenol yang berasal dari tanaman menunjukkan aktivitas antimikroba untuk memanipulasi mikroba rumen dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri, asam nukleat, protein penting untuk kehidupan bakteri, dan merusak struktur dinding sel yang penting untuk perlindungan sel (Yeh *et al.*, 2013). Mekanisme kerja tersebut mengganggu proses penting sel yang menyebabkan kematian. Oleh karena itu penggunaan metabolit sekunder dalam pakan ruminansia meningkatkan fermentasi rumen dengan mengubah mikrobiota rumen secara positif, sehingga menghasilkan peningkatan dalam efisiensi pakan, rata-rata pertambahan berat badan harian ternak, penurunan produksi CH₄, dan peningkatan produksi VFA.

Tanin adalah polifenol yang memiliki ciri berat molekul berbeda yang dapat disintesis oleh tanaman selama metabolisme sekundernya (Besharati *et al.*, 2022). Tanin dapat mengikat makromolekul (protein, karbohidrat struktural, dan pati) serta dapat menurunkan pencernaan. Tanin dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin secara langsung atau tidak langsung dapat mempengaruhi asupan dan pencernaan serta telah terbukti mengurangi degradasi serat, namun mekanisme kerjanya belum sepenuhnya dipahami. Degradasi serat membutuhkan setidaknya langkah-langkah seperti pengangkutan mikroorganisme ke substrat tanaman, adhesi mikroorganisme nonspesifik untuk menanam dinding sel, daya rekat spesifik dengan substrat, dan perkembangbiakan mikroba pada substrat (Vasta *et al.*, 2019).

Rumput laut di beberapa belahan dunia telah digunakan sebagai bahan tambahan pakan atau pakan ternak karena kandungan polisakarida, mineral, vitamin spesifik, dan metabolit sekunder termasuk polifenol, halokarbon, peptida, dan phlorotannin. (De Bhowmick and Hayes,

2023). Potensi rumput laut untuk menekan gas CH₄ sangatlah signifikan. Penggunaan rumput laut merah pada pakan ternak ruminansia menyebabkan pengurangan gas CH₄ sebesar 60–90% dimana metabolit sekunder yang menyebabkan hal ini adalah bromoform.

Meta-analisis data yang dipublikasikan Jayanegara *et al.*, (2012) terhadap peningkatan kadar tanin dalam pakan pada dasarnya menyebabkan penurunan emisi CH₄ rumen. Hal ini berguna dalam pencarian sumber tanin antimetanogenik dapat lebih menekankan pada kriteria tambahan yang relevan secara ekonomi seperti palatabilitas yang memuaskan dan efek samping yang rendah terhadap kinerja hewan. Namun efek tanin dapat diandalkan dan dapat dibedakan hanya dapat diharapkan pada kadar >20 g/kg DM, suatu ambang batas yang seringkali tidak terlampaui dalam suplementasi pakan komersial dengan tanin. Pengukuran dengan sistem *in vitro* dapat memberikan hasil yang merupakan titik awal yang murah untuk skrining inhibitor tannin yang potensial (hingga <100 g tanin/kg DM), sedangkan masing-masing substrat yang menjanjikan perlu diselidiki secara rinci secara *in vivo* (Jayanegara *et al.*, 2012).

Suplementasi hijauan *R. thypina* dan *S. alba* yang mengandung senyawa tanin pada pakan hijauan kualitas rendah (hay dan jerami) dapat meningkatkan kecernaan bahan organik secara signifikan dan menurunkan produksi CH₄ sebesar 11,2 % dan 4,3% pada hay dan jerami sebesar 15,8% dan 6,1% (Jayanegara *et al.*, 2009). Penambahan tanin terhidrolisis dan terkondensasi murni dari *chestnut*, *sumach*, *mimosa* dan *quebracho* sebanyak 1 mg/ml ke dalam pakan dasar menurunkan emisi CH₄ sebesar 20%-27% dibandingkan kontrol (Jayanegara *et al.*, 2015).

Saponin

Saponin adalah senyawa aktif steroid, atau triterpen glikosida yang ditemukan pada tanaman. Saponin telah

terbukti bertindak sebagai agen permeabilisasi membran, imunostimulan, hipokolesterolemia, dan penghilang rasa sakit dalam rumen, manipulasi fermentasi rumen. Saponin telah dilaporkan mengganggu pencernaan protein di usus untuk berinteraksi dengan kolesterol di membran sel, menyebabkan pecahnya sel dan eliminasi protozoa rumen secara selektif, sehingga meningkatkan efisiensi penggunaan N dan menghasilkan kemungkinan peningkatan kinerja ternak ruminansia (Yeh *et al.*, 2013). Saponin adalah pengubah rumen alami yang efisien untuk memanipulasi populasi mikroba rumen, serta komposisi dan fermentasinya. Saponin menekan protozoa ciliata dan dengan demikian dapat meningkatkan efisiensi sintesis protein mikroba dengan mengurangi pergantian protein mikroba dan aliran protein duodenum. Efek antiprotozoa dari saponin dapat menghambat metanogenesis dengan mengurangi aktivitas metanogen rumen ((Jayanegara *et al.*, 2014; Kholif, 2023).

Meta-analisis (Jayanegara *et al.*, 2014) menunjukkan bahwa, berdasarkan berbagai percobaan, peningkatan kadar sumber kaya saponin menyebabkan penurunan emisi CH₄ rumen secara *in vitro*. Kadar saponin yang lebih tinggi tidak berdampak negatif terhadap kecernaan dan produksi total asam lemak rantai pendek. Penurunan CH₄ seiring dengan peningkatan kadar saponin tampaknya disebabkan oleh rasio asetat terhadap propionat yang lebih rendah dan jumlah protozoa yang lebih rendah. Berbagai penambahan sumber kaya saponin menunjukkan respons berbeda terhadap emisi CH₄ rumen. Penelitian sebelumnya menemukan hasil yang kontras mengenai efek saponin terhadap emisi CH₄ sehingga dapat dijelaskan melalui penelitian ini, setidaknya sebagian, yaitu sifat mitigasi saponin CH₄ dalam rumen bergantung pada tingkat dan sumbernya.

Manipulasi ekosistem mikroba rumen dengan menggunakan saponin telah terbukti menjadi strategi yang bermanfaat untuk meningkatkan efisiensi pemanfaatan

pakan oleh ternak ruminansia. Baik ekstrak maupun tanaman dengan konsentrasi saponin yang tinggi tampaknya memiliki potensi untuk bertindak sebagai agen antiprotozoa alami (Ramos-Morales *et al.*, 2017).

Efek antiprotozoa dari saponin dapat menghambat metanogenesis dengan mengurangi aktivitas metanogen rumen (Jayanegara *et al.*, 2014). Saponin mempengaruhi adsorpsi amonia dan memodulasi saluran pencernaan di rumen, menyebabkan perubahan metabolisme rumen dengan respons fisiologis yang dapat diabaikan dibandingkan dengan efek mikrobiologis. Karena efek menguntungkan saponin pada metabolisme N, penggunaannya untuk mengatasi masalah yang berhubungan dengan retensi dan pemanfaatan N yang tidak efisien/buruk pada ruminansia dapat direkomendasikan . Efek saponin terhadap mikroflora rumen dan fermentasi bergantung pada jenis dan kadar saponin, komposisi makanan, dan populasi mikrobiota serta adaptasi terhadap saponin. Bentuk saponin yang berbeda menghasilkan aktivitas yang berbeda pula. Salah satu faktor yang mempengaruhi manfaat pemberian saponin pada hewan ruminansia adalah teridentifikasinya saponin bioaktif/kuat utama yang secara spesifik dapat menghambat protozoa dan metanogen. Mayoritas saponin dianggap cukup aman dan bermanfaat, namun jenis tertentu mungkin beracun bagi hewan, dan tidak ada alasan yang jelas mengapa beberapa saponin bermanfaat sementara yang lain beracun. Adaptasi mikroba rumen terhadap saponin setelah penggunaan jangka panjang merupakan isu yang memerlukan evaluasi lebih lanjut. Saponin lebih banyak efektif dalam meningkatkan kinerja hewan yang diberi pakan serat tinggi; oleh karena itu, hal ini akan bermanfaat bagi peternak kecil di negara-negara berkembang. (Kholif, 2023).

Yucca Schidigera digunakan sebagai bahan tambahan pakan alami ternak dan sumber saponin steroid. Suplementasi pakan dengan 25 µl ekstrak *Yucca*

Schidigera menurunkan produksi CH₄ secara in vitro, jumlah protozoa dan konsentrasi NH₃-N menunjukkan bahwa *Yucca Schidigera* diduga dapat memodifikasi pola fermentasi rumen (Zeid *et al.*, 2019).

Mitigasi emisi CH₄ dengan manipulasi kimia

Meskipun potensi toksitas nitrat tetap ada, akan tetapi nitrat adalah kandidat feed additif yang layak dan dapat digunakan untuk mengurangi emisi enterik CH₄ pada ternak ruminansia. Potensi toksitas nitrat (nitrit) dapat dikurangi dengan pemberian pada ternak secara bertahap (Lee *et al.*, 2014). Suplementasi pakan dengan 3-Nitrooxypropanol (3-NOP) merupakan strategi yang menjanjikan untuk menurunkan emisi enterik CH₄ pada sapi perah. Suplementasi 3-NOP tidak berpengaruh pada produksi ASI (Van Wesemael *et al.*, 2019).

Meta-analisis data Jayanegara *et al.*, (2018) 3-NOP merupakan bahan tambahan pakan yang efektif untuk mengurangi emisi enterik CH₄ dari ternak ruminansia. Penambahan 3-NOP menurunkan CH₄ dengan disertai peningkatan konsentrasi H₂ dan penurunan asetat secara simultan dengan peningkatan proporsi propionat. Populasi archaea metanogenik berkang dengan 3-NOP tanpa mempengaruhi populasi bakteri dan populasi protozoa. Lebih lanjut, 3-NOP tidak menghambat kecernaan nutrisi dalam saluran pencernaan hewan ruminansia, dan tidak mengganggu asupan pakan, kinerja produktif, dan kualitas produk ruminansia.

Protozoa mempunyai kemampuan yang lebih besar mereduksi nitrat dan nitrit dibandingkan fraksi bakteri, dan penghambatan CH₄ terhadap nitrat paling besar pada fraksi protozoa. Protozoa mempunyai nilai potensial untuk pemanfaatan nitrat sebagai akseptor elektron alternatif untuk mengurangi emisi CH₄ rumen (Lin *et al.*, 2011). Mikroba pereduksi nitrat bersaing dengan metanogen

untuk mendapatkan H₂, dan memiliki keunggulan kompetitif.

Eksperimen saat ini menggambarkan bagaimana berkurangnya energi pakan kotor sebagai CH₄ dapat menghasilkan ketersediaan energi yang lebih besar untuk tujuan produktif, yaitu peningkatan sintesis laktosa dan protein susu, atau pemulihan berat badan turun pada awal laktasi. Dengan asumsi bahwa 24,4 MJ bersih energi laktasi dibutuhkan untuk 1 kg pertambahan berat badan dan energi dalam CH₄ diubah menjadi energi bersih untuk laktasi dengan efisiensi serupa dengan energi yang dapat dicerna makanan, dapat dihitung bahwa pengurangan kehilangan energi sebagai CH₄ dengan perlakuan 3-NOP (rata-rata 3,8 MJ/hari) sudah cukup sebesar 38 (Medium 3-NOP) hingga 71% (High 3-NOP) dari peningkatan tersebut pertambahan bobot badan harian pada sapi 3-NOP (Hristov *et al.*, 2015).

Penggunaan 3-NOP sebanyak 60 mg/kg bahan kering pakan pada sapi Holstein akhir laktasi menurunkan emisi CH₄ sebesar 31% dan peningkatan emisi hidrogen dari tidak terdeteksi menjadi 1,33 g/hari. Emisi CH₄ per kilogram asupan bahan kering dan produksi susu juga menurun 34%, menurunkan proporsi molar asetat dan meningkatkan propionat, butirat, valerat, dan isovalerat (Lopes *et al.*, 2016).

Meta-analisis data 3-NOP (Dijkstra *et al.*, 2018) menunjukkan bahwa dosis 3-NOP yang lebih besar meningkatkan efeknya terhadap emisi CH₄, sedangkan peningkatan kandungan serat pakan menurunkan efek 3-NOP. 3-NOP memiliki efek antimetanogenik yang lebih kuat pada sapi perah dibandingkan pada sapi potong. Hasil penelitian Van Wesemael *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa 3-NOP dapat menurunkan emisi enterik CH₄ sapi perah jika dimasukkan ke dalam pelet konsentrat maupun pencampuran pada pakan dasar (serat). Melgar *et al.*, (2020) menyatakan bahwa 3-NOP adalah aditif pakan yang menjanjikan untuk mengurangi emisi enterik CH₄, menjaga kinerja laktasi pada

sapi perah dan berpotensi meningkatkan produksi lemak susu.

Meta-analisis data (Kim *et al.*, 2020) 3-NOP adalah kandidat yang layak sebagai bahan tambahan pakan karena efek mitigasi CH₄ yang kuat, terlepas dari jenis hewan dan periode percobaan, tanpa efek buruk pada kinerja hewan. Hasil penelitian (Liu *et al.*, 2023) menunjukkan bahwa 3-NOP dikombinasikan dengan vitamin B12 dapat mengurangi emisi hidrogen rumen dan meningkatkan penghambatan emisi CH₄.

Meta-analisis efek suplementasi nitrat (Feng *et al.*, 2020) menunjukkan bahwa suplementasi nitrat mengurangi emisi CH₄ (produksi dalam g/hari serta hasil dalam g/kg DMI) pada sapi perah dan sapi daging dengan cara yang bergantung pada dosis. Efek mitigasi nitrat terhadap produksi dan hasil CH₄ lebih besar pada sapi perah dibandingkan pada sapi potong. Namun pengaruh jenis ternak tampaknya berhubungan dengan penggunaan nitrat pelepasan lambat pada sapi potong. Dosis nitrat yang lebih besar meningkatkan efek mitigasi nitrat pada produksi dan hasil CH₄, sedangkan peningkatan DMI mengurangi efek mitigasi nitrat pada produksi CH₄.

Evaluasi bukti efektivitas dan penerapan bahan tambahan pakan penghambat CH₄ untuk ternak yaitu dua bahan tambahan 3-NOP dan *Asparagopsis* kering (ganggang merah) yang secara rutin memberikan lebih dari 20% mitigasi gas enterik CH₄ pada ternak ruminansia (Hegarty *et al.*, 2021).

Penambahan natrium nitrat menurunkan produksi CH₄, meningkatkan proporsi asetat dan sintesis protein mikroba rumen dan tampaknya terdapat penekanan terhadap fermentasi rumen *in vitro* yang ditunjukkan oleh konsentrasi VFA total yang lebih rendah dan produksi CO₂ yang lebih sedikit (Guo *et al.*, 2009). Penggunaan gabungan nitrat dan asam lemak rantai menengah secara *in vitro* memberikan efek penurunan terhadap CH₄ tanpa memberikan dampak negatif terhadap fermentasi rumen. Inhibitor CH₄ yang paling efektif adalah kombinasi gabungan nitrat dan C10/C12 hal-

ini tergantung pada jenis asam lemak rantai menengah (Vadroňová *et al.*, 2023).

Nitrat berpotensi meningkatkan fermentasi rumen dan populasi mikroba pada sapi perah, seiring dengan berkurangnya emisi CH₄. Mengubah proporsi populasi mikroba rumen tanpa mengubah performa ternak adalah salah satu faktor penting yang harus diperhatikan dalam pengurangan emisi CH₄ (Sharifi *et al.*, 2022). Suplementasi 3-NOP sangat efektif dalam mengurangi emisi CH₄ dengan pola makan protein nabati dan pola makan yang mengandung urea, dengan pola makan lebih tinggi serat dan mungkin lebih bersifat metanogenik (Garcia *et al.*, 2022). Melgar *et al.*, (2020) menyatakan bahwa 3-NOP adalah aditif pakan yang menjanjikan untuk mengurangi emisi enterik CH₄, menjaga kinerja laktasi pada sapi perah dan berpotensi meningkatkan produksi lemak susu.

Biochar merupakan aditif organik yang semakin populer selama dekade terakhir ini dan telah terbukti meningkatkan pertumbuhan, profil darah, efek penghambatan terhadap pertumbuhan patogen rumen, dan mengurangi emisi enterik CH₄ (Tenzin *et al.*, 2022). Rumput laut disebut juga makroalga, antara lain coklat (*Phaeophyta*), merah (*Rhodophyta*), dan rumput laut hijau (*Chlorophyta*), telah menjadi bahan tambahan pakan yang disukai karena sifat anti-metanogeniknya. Beberapa penelitian *in vitro* mengenai suplemen rumput laut menunjukkan korelasi negatif dengan pembentukan CH₄ terutama menggunakan *Asparagopsis taxiformis* dan varitas *Asparagopsis spp.*, yang dapat mengurangi emisi CH₄ *in vivo* dari 50% menjadi lebih dari 80% pada sapi perah.

Rumput laut kaya akan metabolit sekunder termasuk protein, karbohidrat dan pada tingkat lebih rendah lipid, saponin, alkaloid dan peptida. Metabolit sekunder berperan sebagai bahan pakan untuk mereduksi CH₄ enterik (Abbott *et al.*, 2020).

Prebiotik seperti kitosan, inulin, dan produk ragi juga dapat membatasi emisi

enterik CH₄ dengan memodifikasi struktur komunitas bakteri rumen. Produk ragi dan inulin merangsang pertumbuhan bakteri rumen lainnya yang bersaing untuk mendapatkan H₂ melawan metanogen, sementara kitosan mengganggu dinding sel permeabilitas metanogen menyebabkan kematian sel. (Tenzin *et al.*, 2022).

Suplementasi biochar (200 g/hari) dan suplementasi biochar dan urea (biochar 200 g/hari dan urea 90 g/hari) pada sapi perah, suplementasi bahan tambahan pakan tidak mempengaruhi produksi susu dan komposisi susu, kecuali kandungan urea susu yang lebih tinggi pada kelompok biochar dan urea. Konversi pakan, kecernaan pakan, dan produksi CH₄ tidak dipengaruhi oleh strategi pemberian pakan. Kesimpulannya, suplementasi biochar tidak mengurangi emisi CH₄ secara signifikan namun tidak berdampak negatif terhadap performa sapi perah (Terler *et al.*, 2023).

Kitosan adalah suatu poliglukosamin tidak beracun, didistribusikan secara luas di alam dan digunakan sebagai feed additif (Shah *et al.*, 2022), dengan kemampuan antimikroba terhadap protozoa, antiinflamasi, anti-oksidatif, antitumor, hipo-kolesterolemia, serta bakteri Gram positif dan negatif, jamur, ragi (Jiménez-Ocampo *et al.*, 2021; Shah *et al.*, 2022). Kitosan diperoleh dari proses de-asetilasi kitin dan sebagian besar terdapat pada kerangka luar udang, kepiting, dan serangga, serta memiliki sifat antimikroba dan yang merangsang kekebalan tubuh (Shah *et al.*, 2022).

Secara *in vitro* penggunaan kitosan dan naringin pada dosis 1,5 g/kg pada pakan rumput tropis menunjukkan pengurangan CH₄ secara signifikan (Jiménez-Ocampo *et al.*, 2021). Kitosan dan kitin digunakan sebagai bahan tambahan pakan untuk ruminansia termasuk sapi perah, sapi potong, domba, kambing, dan yak memiliki efek biologis yang berguna, termasuk modulasi kekebalan, antimikroba, dan sifat penting lainnya. Sifat kitosan dan kitin ini berbeda dengan bahan tambahan pakan lainnya dan berdampak positif

terhadap kinerja produksi, kecernaan pakan, fermentasi rumen, dan populasi bakteri pada sapi perah, sapi potong, domba, kambing, dan yak (Shah *et al.*, 2022). Penambahan surfaktan pada dosis 0,30 mL/L hingga 2,0 mL/L secara *in vitro* mengubah pola fermentasi rumen dengan meningkatkan konsentrasi propionat dan menurunkan persentase produksi CH₄ maupun total volume CH₄, VFA, menunjukkan pengurangan degradasi substrat (Benchaar *et al.*, 2024).

KESIMPULAN

Mengembangkan strategi mitigasi gas CH₄ yang efisien dan efektif sekaligus meningkatkan produktivitas ternak ruminansia merupakan hal yang sangat penting untuk dicapai secara berkelanjutan. Emisi gas CH₄ ternak ruminansia memiliki konsekuensi dibandingkan spesies ternak lainnya karena aktivitas fermentasi yang lebih tinggi terutama enterik CH₄.

DAFTAR PUSTAKA

- Abecia L., K. E. Waddams, G. Martínez-Fernandez., A. I. Martín-García., E. Ramos-Morales., C. J. Newbold, and D. R. Yáñez-Ruiz. 2014. An Antimethanogenic Nutritional Intervention in Early Life of Ruminants Modifies Ruminal Colonization by Archaea. Hindawi Publishing Corporation Archaea. Volume 2014, Article ID 841463, 12 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/841463>.
- Abbott D. W ., I. M. Aasen, K. A. Beauchemin, F. Grondahl, R. Gruninger, M. Hayes, S. Huws, D. A. Kenny, S. J. Krizsan, S. F. Kirwan, V. Lind, U. Meyer, M. Ramin, K. Theodoridou, D. von Soosten, P. J. Walsh, S. Waters and X. Xing. 2020. Review Seaweed and Seaweed Bioactives for Mitigation of Enteric Methane:

- Challenges and Opportunities. Animals 10(12): 2432; doi:10.3390/ani10122432.
- Ahmed. E., N. Fukuma, M. Hanada and T. Nishida. 2021. The Efficacy of Plant-Based Bioactives Supplementation to Different Proportion of Concentrate Diets on Methane Production and Rumen Fermentation Characteristics In Vitro. Animals, 11(4): 1029. <https://doi.org/10.3390/ani11041029>.
- Almeida A. K., R. S. Hegarty, A. Cowie. 2021. Meta-analysis quantifying the potential of dietary additives and rumen modifiers for methane mitigation in ruminant production systems. Animal Nutrition 7 (4): 1219-1230.
- Ampapon T., T. Haitook, M. Wanapat. 2022. Enhancing rumen fermentation characteristic and methane mitigation using phytonutrient pellet in beef cattle. Fermentation, 8(5): 239. <https://doi.org/10.3390/fermentati on8050239>.
- Avilés-Nieto J. N., C. C. Márquez-Mota, J. H. Hernández-Medrano, J. E. Ramírez-Bribiesca, E. Castillo-Gallegos, A. Plascencia, F. A. Castrejón-Pineda, Luis Corona. 2022. Effect of canola oil supplementation level on total tract digestion, ruminal fermentation and methane emissions of cows grazing brachiaria sp complemented with fixed amount of concentrate. Research Square, 55(2): 77. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1290372/v1>.
- Alemu A. W., L. K. D. Pekrul, A. L. Shreck, C. W. Booker, S. M. McGinn, M. Kindermann and K. A. Beauchemin. 2021. 3-Nitrooxypropanol Decreased enteric methane production from growing beef cattle in a commercial feedlot: implications for sustainable beef cattle production. Front. Anim. Sci. 2(4):641590. doi: 10.3389/fanim.2021.641590.
- Attwood G. and Ch. McSweeney. 2008. Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H₂ utilisation in the rumen. Aust. J. Exp. Agr, 48(2) : 28 – 37.
- Beauchemin K. A., E. M. Ungerfeld, A. L. Abdalla, C. Alvarez, C. Arndt, P. Becquet, C. Benchaar, A. Berndt, R. M. Mauricio, T. A. McAllister, W. Oyhantçabal, S. A. Salami., L. Shalloo, Y. Sun, J. Tricarico, A. Uwizeye, C. De Camillis, M. Bernoux, T. Robinson. and E. Kebreab. 2022. *Invited review:* Current enteric methane mitigation options. J. Dairy Sci. 105:9297–9326. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22091>,
- Beauchemin K. A., E. M. Ungerfeld, R. J. Eckard and M. Wang. 2020. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. Animal, 14(S1), pp s2–s16.
- Beauchemin K. A., S. M. McGinn, C. Benchaar and L. Holtshausen. 2009. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. J. Dairy Sci. 92(5):2118–2127. doi:10.3168/jds.2008-1903.
- Belanche A., C. J. Newbold, D. P. Morgavi, A. Bach, B. Zweifel and D. R. Yáñez-Ruiz. 2020. A Meta-analysis describing the effects of the essential oils blend agolin ruminant on performance, rumen fermentation and methane emissions in dairy cows. Animals,

- 10(4): 620.
doi:10.3390/ani10040620.
- Benchaar C., 2023. The use of plant extracts as dietary supplements in dairy cow nutrition: saponins. Chapter 6. Burleigh Dodds Science Publishing Limited, 2023. <http://dx.doi.org/10.19103/AS.2022.0117.06>. 28 p.
- Benchaar C., F. Hassanat, W. Z. Yang. 2024. Effects of active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), a non-ionic surfactant, or their combination on gas production, rumen microbial fermentation and methane production in vitro. *J. Anim. Feed Sci. and Technol.* 307: 115844.
- Benchaar C., S. Calsamiglia, A. V. Chaves, G. R. Fraser, D. Colombatto, T. A. McAllister K. A. Beauchemin. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. and Technol.* Volume 145, Issues 1–4: 209-228.
- Besharati, M., A. Maggiolino, V. Palangi, A. Kaya, M. Jabbar, H. Eseceli, P. De Palo, J. M. Lorenzo. 2022. Tannin in Ruminant Nutrition: Review. *Molecules*, 27: 8273. <https://doi.org/10.3390/molecules27238273>.
- Bitsie B., A. M. Osorio, D. H. Darren, B. C. Silva, L. A. Godoi, C. Supapong, T. Brand and J. P. Schoonmaker. 2022. Enteric methane emissions, growth, and carcass characteristics of feedlot steers fed a garlic- and citrus-based feed additive in diets with three different forage concentrations. *Journal of Animal Science*, 100(5): 1–11 <https://doi.org/10.1093/jas/skac139>.
- Bodas R., S. L'opez, M. Fernández, R. García-González, A. B. Rodríguez, R. J. Wallace, J. S. González. 2008. *In vitro* screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 145 (1-4): 245–258.
- Broucek J. 2014. Production of Methane Emissions from Ruminant Husbandry: A Review. *Journal of Environmental Protection*, 5, 1482-1493. <http://dx.doi.org/10.4236/jep.2014.515141>.
- Calsamiglia S., M. Busquet, P. W. Cardozo, L. Castillejos and A. Ferret. 2007. *Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation.* *J. Dairy Sci.* 90:2580–2595. doi:10.3168/jds.2006-644.
- Castañeda-Serran R. D., O. T. Barreto-Cruz, S. M. Coneglian, A. F. Branco. 2020. Use of cashew and castor essential oils to improve fibre digestibility in high forage diets: digestibility, ruminal fermentation and microbial protein synthesis. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 41(6): 3429-3440, 2020. DOI: 10.5433/1679-0359.2020v41n6Supl2p3429.
- Chaucheyras-Durand F., S. Masseglia, G. Fonty and E. Forano. 2010. Influence of the Composition of the Cellulolytic Flora on the Development of Hydrogenotrophic Microorganisms, Hydrogen Utilization, and Methane Production in the Rumens of Gnotobiotically Reared Lambs. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(24): 7931–7937.
- Choudhury. P. K., R. Jena, S. K. Tomar and A. K. Puniya. 2022. Reducing enteric methanogenesis through alternate hydrogen sinks in the rumen. *Methane*, 1(4): 320–341. <https://doi.org/10.3390/methane1040024>.
- Cieslak A., M. Szumacher-Strabel, A. Stochmal and W. Oleszek. 2013. Plant components with specific activities against rumen

- Methanogens. Animal, 7(2):253–265.
doi:10.1017/S1751731113000852.
- Cobellis G., A. Petrozzi, C. Forte, G. Acuti, M. Orrù, M. C. Marcotullio, A. Aquino, A. Nicolini, V. Mazza and M. Trabalza-Marinucci. 2015. Evaluation of the Effects of Mitigation on Methane and Ammonia Production by Using *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils on *in Vitro* Rumen Fermentation Systems. Sustainability, 7(9): 12856-12869; doi:10.3390/su70912856.
- Daning D. R. A., C. Hanim, B. P. Widyobroto, and Lies Mira Yusiaty. 2021. Characteristics of Ruminal Fatty Acids Using In Vitro Culture System by Addition of Galangal (*Alpinia galanga*) Essential oil. Advances in Biological Sciences Research, volume 18. 9th International Seminar on Tropical Animal Production (ISTAP 2021).
- De Bhowmick G. and M. Hayes. 2023. Potential of Seaweeds to Mitigate Production of Greenhouse Gases during Production of Ruminant Proteins. Global Challenges, 7, 2200145.
- De la Fuente G., D. R. Yañez-Ruiz, A. R. Seradj, J. Balcells and A. Belanche. 2019. Methanogenesis in animals with foregut and hindgut fermentation: a review. Universitat de Lleida. <https://doi.org/10.1071/AN17701>.
- Dey A., S. S. Misra, S. S. Dahiya, A. K. Balhara, K. Kumar, A. K. Das, R. K. Singh, K. Attri and J. A. Imaz. 2017. Essential Oils as Phytogenic Feed Additive: Potential Benefits on Environment, Livestock Health and Production. *The Third International Conference on Bio-resource and Stress Management*, Pp 136-142.
- Dijkstra J., A. Bannink, J. France, E. Kebreab and S. van Gastelen 2018. *Short communication: Antimethanogenic effects of 3-nitrooxypropanol depend on supplementation dose, dietary fiber content, and cattle type*. J. Dairy Sci. 101(10): 9041–9047. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14456>
- Dong L., B. Li and Q. Diao. 2019. Effects of dietary forage proportion on feed intake, growth performance, nutrient digestibility, and enteric methane emissions of holstein heifers at various growth Stages. Animals, 9(10): 725; doi:10.3390/ani9100725
- Dorantes-Iturbide, G., J. F. Orzuna-Orzuna, A. Lara-Bueno, G. D. Mendoza-Martínez, L. A. Miranda-Romero, H. A. Lee-Rangel. 2022. Essential Oils as a Dietary Meta-Analysis on Performance, Rumen Parameters, Serum Metabolites, and Product Quality. Vet. Sci. 2022, 9, 475. <https://doi.org/10.3390/vetsci9090475>.
- FAO, 2021. Climate-smart livestock production. A practical guide for Asia and the Pacific region, Bangkok.
- Feng X. Y., J. Dijkstra, A. Bannink, S. van Gastelen, J. France and E. Kebreab. 2020. Antimethanogenic effects of nitrate supplementation in cattle: A meta-analysis. J. Dairy Sci. 103(12):11375–11385. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18541>.
- Fouts J. Q., M. C. Honan, B. M. Roque, J. M. Tricarico, and E. Kebreab. 2022. Enteric methane mitigation interventions. translational Animal Science, 6: 1–16. <https://doi.org/10.1093/tas/txac041>.
- Galati R. L., L. C. R. P. Silva, A. S. R. Fonseca, L. d. S. Cabral, M. F. S. Q. Cerom. 2023. Challenges and

- strategies for reducing enteric methane emissions in sustainable animal production. CONCILIUUM, 23(14)14. ISSN: 0010-5236. DOI: 10.53660/CLM-1691-23J63.
- Garcia F., C. Mu~noz., J. Martínez-Ferrer, N. L. Urrutia, E. D. Martínez, M. Saldivia, I. Immig., M. Kindermann., N. Walker., E. M. Ungerfeld. 2022. 3-Nitrooxypropanol substantially decreased enteric methane emissions of dairy cows fed true protein- or urea-containing diets. *Heliyon* 8(6):.
- Getabalew M., T. Alemneh, E. Bzuneh. 2020. Review on Methanogenesis and its Role. *World J Agri & Soil Sci.* 6(2): 2020. WJASS. MS.ID.000632. DOI: 10.33552/WJASS.2020.06.000632.
- Glasson C. R. K., R. D. Kinley, R. de Nys, N. King, S. L. Adams, M. A. Packer, J. Svenson, C. T. Eason, M. Magnusson. 2022. Benefits and risks of including the bromoform containing seaweed *Asparagopsis* in feed for the reduction of methane production from ruminants. *Algal Research*, 64: 102673.
- Guo W. S., D. M. Schaefer, X. X. Guo, L. P. Ren and Q. X. Meng. 2009. Use of Nitrate-nitrogen as a Sole Dietary Nitrogen Source to Inhibit Ruminal Methanogenesis and to Improve Microbial Nitrogen Synthesis *In vitro*. *Asian-Aust. J. Anim.* 22(4) : 542 – 549.
- Guyader. J., M. Eugène, B. Meunier, M. Doreau, D. P. Morgavi, M. Silberberg, Y. Rochette, C. Gerard, C. Loncke and C. Martin. 2015. Additive methane-mitigating effect between linseed oil and nitrate fed to cattle. *J. Anim. Sci.* 93:3564–3577. doi:10.2527/jas2014-8196.
- Hansen, J., M. Sato, P. Kharecha, G Russell, D. W. Lea and M. Siddall . 2007. Climate change and trace gases. *Phil. Trans. R. Soc. A*, 365, 1925–1954. doi:10.1098/rsta.2007.2052.
- Hassan F, M. A. Arshad, H. M. Ebeid, M. S. Rehman, M. S. Khan, S. Shahid and C. Yang. 2020. Phylogenetic Additives Can Modulate Rumen Microbiome to Mediate Fermentation Kinetics and Methanogenesis Through Exploiting Diet-Microbe Interaction. *Front. Vet. Sci.* 7:575801. doi: 10.3389/fvets.2020.575801.
- Haque M. N. 2018. Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, 60:15. <https://doi.org/10.1186/s40781-018-0175-7>.
- Hart K. J., J. A. Huntington, R. G. Wilkinson, C. G. Bartram and L. A. Sinclair. 2015. The influence of grass silage-to-maize silage ratio and concentrate composition on methane emissions, performance and milk composition of dairy cows. *Animal*, 9(6): 983–991. doi:10.1017/S1751731115000208.
- Hegarty R. S. , P. R. A. Cortez, K. M. Dittmer, Y. Wang, S. Shelton, J. Emmet-Booth, E. Wollenberg., T. McAllister., S. Leahy., K. Beauchemin., N. Gurwick. 2021. An evaluation of emerging feed additives to reduce methane emissions from livestock. Edition 1. A report coordinated by Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS) and the New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre (NZAGRC) initiative of the Global Research Alliance (GRA).
- Honan. M., X. Feng, J. M. Tricarico and E. Kebreab. 2022. Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: modes of action, effectiveness and safety. *Animal Production Science*, 62:

- 1303–1317.
<https://doi.org/10.1071/AN20295>.
- Hook, S. E., A. G. Wright, and B. W. McBride. 2010. Methanogens: Methane Producers of the Rumen and Mitigation Strategies. Review Article. *Archaea*, Vol. 2010 (2010), Article ID 945785, 11 pages.
- Hristov, A. N., J. Oh, J. Firkins, J. Dijkstra, E. Kebreab, G. Waghorn, A. Adesogan, W. Yang, J. Tricarico, C. Lee, P. J. Gerber, B. Henderson and H. P. S. Makar. 2013. Mitigation of Methane and Nitrous Oxide Emissions from Animal Operations: I. A Review of Enteric Methane Mitigation Options. *J. Anim. Sci.* 91: 5045 – 5069.
- Hristov A. N., J. Oha, F. Giallongoa, T. W. Fredericka, M. T. Harpera, H. L. Weeks, F. Branco, P. J. Moatec, M. H. Deightonc, S. R. O. Williams, M. Kindermannd, and S. Duvale. 2015. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *PNAS*, 112(34): 10663–10668. .
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1504124112.
- IPCC, 2018. Laporan Khusus IPCC tentang Pemanasan Global 1,5°C,
https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/sites/2/2019/06/SR15_Full_Report_High_Res.pdf. diakses 17 Desember 2024.
- Islam M. and S. S. Lee. 2019. Advanced estimation and mitigation strategies a cumulative approach to enteric methane abatement from ruminants. *J. Anim. Sci. Technol.* 2019;61(3):122-137.
<https://doi.org/10.5187/jast.2019.61.3.122>.
- Iqbal M. F., Y. F. Cheng, W. Y. Zhu and B. Zeshan. 2008. Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. *Word J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 2747 – 2755.
- Janssen P. H. 2010. Review Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160: 1– 22.
- Janssen P. H. and M. Kirs. 2008. Minireview Structure of the Archaeal Community of the Rumen. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 3619–3625.
- Jayanegara A., A. Sofyan, H. P. S. Makkar & K. Becker. 2009. Kinetika Produksi Gas, Kecernaan Bahan Organik dan Produksi Gas Metana *in Vitro* pada Hay dan Jerami yang Disuplementasi Hijauan Mengandung Tanin. *Media Peternakan*, 32(2): 120-129.
- Jayanegara A., F. Leiber and M. Kreuzer. 2012. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96 (2012) 365–375
- Jayanegara A., E. Wina and J. Takahashi. 2014. Meta-analysis on Methane Mitigating Properties of Saponin-rich Sources in the Rumen: Influence of Addition Levels and Plant Sources. *Asian Australas. J. Anim.* 27(10) : 1426-1435.
- Jayanegara A., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2015. Addition of Purified Tannin Sources and Polyethylene Glycol Treatment on Methane Emission and Rumen Fermentation *in Vitro*. *Media Peternakan*, 38(1):57-63. DOI: 10.5398/medpet.2015.38.1.57.
- Jayanegara A., K. A. Sarwono, M. Kondo, H. Matsui, M. Ridla, E. B. Laconi, dan Nahrowi. 2018. Use of 3-nitrooxypropanol as feed additive for mitigating enteric methane emissions from ruminants: a meta-

- analysis, Italian Journal of Animal Science, 17:3, 650-656, DOI: 10.1080/1828051X.2017.1404945.
- Jayanegara A., Y. Yogianto, E. Wina, A Sudarman, M. Kondo, T. Obitsu and M. Kreuzer. 2020. Combination Effects of Plant Extracts Rich in Tannins and Saponin as Feed Additives for Mitigating in Vitro Ruminal Methane and Ammonia Formation. *J. Animals.* 10(9):
- Jiménez-Ocampo, R., M. D. Montoya-Flores, E. Herrera-Torres, G. Pámanes-Carrasco, J. I. Arceo-Castillo, S. S. Valencia-Salazar, J. Arango, C. F. Aguilar-Pérez, L. Ramírez-Avilés, F. J. Solorio-Sánchez, Á. T. Piñeiro-Vázquez and J. C. Ku-Veraet. Effect of Chitosan and Naringin on Enteric Methane Emissions in Crossbred Heifers Fed Tropical Grass. *Animals* 2021, 11, 1599. <https://doi.org/10.3390/ani1106159>
- Johnson, K. A and D. E. Johnson. 1995. Methane Emissions from Cattle. *J. Anim. Sci.* 73: 2483 – 2492.
- Kebreab E., A. Bannink, E. M. Pressman, N. Walker, A. Karagiannis, S. van Gastelen and J. Dijkstra. 2023. A meta-analysis of effects of 3-nitrooxypropanol on methane production, yield, and intensity in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 106:927–936. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22211>.
- Kholif A. E. 2023. A Review of Effect of Saponins on Ruminal Fermentation, Health and Performance of Ruminants. *Vet. Sci.* 10: 450. <https://doi.org/10.3390/vetsci10070450>.
- Kim. H., H. G. Lee, Y.C. Baek, S. Lee and J. Seo. 2020. effects of dietary supplementation with 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions, rumen fermentation, and production performance in ruminants: a meta-analysis. *J. Anim. Sci. Technol.*, 62(1):31-42. <https://doi.org/10.5187/jast.2020.62.1.31>.
- Kliem K. E., D. J. Humphries, P. Kirton, D. I. Givens and C. K. Reynolds. 2019. Differential effects of oilseed supplements on methane production and milk fatty acid concentrations in dairy cows. *Animal* (2019), 13:2, pp 309–317. doi:10.1017/S1751731118001398.
- Knapp J. R., G.L. Laur, P.A. Vadas, W. P. Weiss and J. M. Tricarico. 2014. *Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions.* *J. Dairy Sci.* 97 :3231–3261. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7234>.
- Ku-Vera J. C., O. A. Castelán-Orteg, F. A. Galindo-Maldonado, J. Arango, N. Chirinda, R. Jiménez-Ocampo, S. S. Valencia-Salazar, E. J. Flores-Santiago, M. D. Montoya-Flores, I. C. Molina-Botero, A. T. Pin~eiro-Vázquez, J. I. Arceo-Castill, C. F. Aguilar-Pérez, L. Ramírez-Avilés and F. J. Solorio-Sánchez. 2020. Review: Strategies for enteric methane mitigation in cattle fed tropical forages. *Animal*, 14(S3): 453–463. doi:10.1017/S1751731120001780.
- Kumar K., A. Dey, and M.K. Rose. 2020. Effects of essential oils rich plant extracts and their blends on in vitro Methanogenesis and fermentation characteristics of oat hay based Substrate. *Haryana Vet.* 59(2), 239-244.
- Kumar S., P. K. Choudhury, M. D. Carro, G. W. Griffith, S. S. Dagar, M. Puniya, S. Calabro, S. R. Ravella, T. Dhewa, R. C. Upadhyay, S. K. Sirohi, S. S. Kundu, M. Wanapat, A. K. Puniya. 2014. New aspects and strategies for methane mitigation

- from ruminants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98: 31.
- Kuraz B., M. Tesfaye, and S. Mekonenn. 2021. Climate change impacts on animal production and contribution of animal production sector to global climate change: A Review. *Agricultural Science Digest.* 41(4): 523-530. DOI: 10.18805/ag.D-344.
- Króliczewska B., E. Pecka-Kiełb and J. Bujok. 2023. Strategies used to reduce methane emissions from ruminants: controversies and issues. *Agriculture,* 13(3): 602. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030602>.
- Laabouri F. Z., A. Guerouali, S. Alali, A. Remmal, M. Ajbilou. 2017. Effect of a natural food additive rich in thyme essential oil on methane emissions in dairy cows. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét,* 5 (3) 287-292.
- Lee C., A. Karen A. Beauchemin. 2014. A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. *Can. J. Anim. Sci.* 94: 557_570. doi:10.4141/CJAS-2014-069.
- Leng R. A. 2014. Interactions between microbial consortia in biofilms: a paradigm shift in rumen microbial ecology and enteric methane mitigation. *Animal Production Science,* 54: 519–543.
- Lileikis T., R. Nainien'e R, S. Bliznikas and V. Uchockis. 2023. Dietary Ruminant Enteric Methane Mitigation Strategies: Current Findings, Potential Risks and Applicability. *Animals,* 13: 2586. <https://doi.org/10.3390/ani1316258> 6.
- Lin M., D. M. Schaefer, W. S. Guo, L. P. Ren and Q. X. Meng. 2011. Comparisons of *in vitro* nitrate reduction, methanogenesis, and fermentation acid profile among rumen bacterial, protozoal and fungal fractions. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(4):471-478.
- Liu Z., K. Wang, X. Nan, L. Yang, Y. Wang, F. Zhang, M. Cai, Y. Zhao, and B. Xiong. 2023. Effects of combined addition of 3-nitrooxypropanol and vitamin B12 on methane and propionate production in dairy cows by *in vitro*-simulated fermentation. *J. Dairy Sci.* 106:219–232. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22207>.
- Liu Z., K. Wang, X. Nan, M. Cai, L. Yang, B. Xiong, Y. Zhaoa. 2022. Synergistic Effects of 3-Nitrooxypropanol with Fumarate in the Regulation of Propionate Formation and Methanogenesis in Dairy Cows *In Vitro*. *Applied and Environmental Microbiology,* 88(6): 08-21.
- Lopes J. C., L. F. de Matos, M. T. Harper, F. Giallongo, J. Oh, D. Gruen, S. Ono, M. Kindermann, S. Duval and A. N. Hristov. 2016. Effect of 3-nitrooxypropanol on methane and hydrogen emissions, methane isotopic signature, and ruminal fermentation in dairy cows *Dairy Sci.* 99:5335–5344. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10832>
- López-Paredes J., A. Saborío-Montero, N. Charfeddine, J. A Jiménez-Montero1 and O. González-Recio . 2021. Dry matter intake, methane emissions and microbiome profiles as new traits for feed efficiency. *INTERBULL BULLETIN NO. 56.* Leeuwarden, The Netherlands, April 26 – 30, 2021.
- Martin C., D. P. Morgavi and M. Doreau. 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal,* 4(3): 351–365. doi:10.1017/S1751731109990620.
- Melgar A., K. C. Welter, K. Nedelkov, C. M. M. R. Martins, M. T. Harper, J. Oh, S. E. Räisänen., X. Chen., S. F.

- Cueva., S. Duval and A. N. Hristov. 2020. Dose-response effect of 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 103:6145–6156. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17840>.
- Min B.-R.. S. Lee, H. Jung, D. N. Miller and R. Chen. 2022. Enteric methane emissions and animal performance in dairy and beef cattle production: strategies, opportunities, and impact of reducing emissions. *Animals*, 12: 948. <https://doi.org/10.3390/ani1208094>
- 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) : 144 – 154.
- Moate P. J., M. H. Deighton, J. Jacobs, B. E. Ribaux, G. L. Morris, M. C. Hannah, D. Mapleson, M. S. Islam, W. J. Wales, and S. R. O. Williams. 2020. Influence of proportion of wheat in a pasture-based diet on milk yield, methane emissions, methane yield, and ruminal protozoa of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 103:2373–2386. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17514>.
- Molho-Ortiz A. A., A. Romero-Pérez, E. Ramírez-Bribiesca, C. C. Márquez-Mota, F. A. Castrejón-Pineda, L. Corona. 2022. Effect of essential oils and aqueous extracts of plants on *in vitro* rumen fermentation and methane production. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 10:2210. <https://doi.org/10.31893/jabb.22010>.
- Morgavi. D. P., E. Forano., C. Martin and C. J. Newbold. 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7): 1024–1036. doi:10.1017/S1751731110000546.
- Morkhade S. J., A. P. Bansod, A. G. Kolaskar and S. O. Thakare. 2020. A complete review on: Methanogens methane producers of rumen and abatement strategies- biotechnology and microbiological strategies review. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, 5(4): 11-17.
- Moss A. R., J.-P Jouany and J. Newbold. 2000 Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49: 231–253.
- Newbold C. J., G. de la Fuente, A. Belanche, E. Ramos-Morales and N. R. McEwan. 2015. The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Front. Microbiol.* 6:1313. doi: 10.3389/fmicb.2015.01313.
- Nezhad M. T., D. Alipour, M. T. Goudarzi, P. Zamani, and G. Khodakaramian. 2011. Dose Response to Carvone Rich Essential Oils of Spearmint (*Mentha spicata* L.): *in Vitro* Ruminal Fermentation Kinetics and Digestibility. *J. Agr. Sci. Tech*, 13: 1013-1020.
- Öztürk H. and G. Gür. 2021. Rumen physiology: microorganisms, fermentation and manipulation. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 68: 423-434, 2021. DOI: 10.33988/auvfd.960447.
- Pereira A. M, M. L. N. E. Dapkevicius and A.E. S. Borba. 2022. Alternative pathways for hydrogen sink originated from the ruminal fermentation of carbohydrates: Which microorganisms are involved in lowering methane emission?. *Animal Microbiome*, 4(1):5. <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00153-w>.
- Pitta D., N. Indugu, K. Narayan, and M. Hennessy. 2022. Understanding the role of the rumen microbiome in enteric methane mitigation and

- productivity in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 105(10): 8569–8585.
- Popova M., J. Guyader, M. Silberberg, A. R. Seradj, C. Saro, A. Bernard, C. Gérard, C. Martin, D. P. Morgavi. 2019. Changes in the rumen microbiota of cows in response to dietary supplementation with nitrate, linseed, and saponin alone or in combination. *Appl. Environ. Microbiol.* 85:e02657-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.02657-18>.
- Qiao J, Z. Tan, Min Wang. 2014. *Review* Potential and existing mechanisms of enteric methane production in ruminants. *Sci. Agric.* v.71, n.5, p.345-355, September/October 2014.
- Ramin M., P. Fant and P. Huhtanen. 2021. The effects of gradual replacement of barley with oats on enteric methane emissions, rumen fermentation, milk production, and energy utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 104:5617–5630. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19644>.
- Ramos-Morales E., G. de la Fuente, S. Duval, C. Wehrli, M. Bouillon, M. Lahmann, D. Preskett, R. Braganca and C. J. Newbold. 2017. antiprotozoal effect of saponins in the rumen can be enhanced by chemical modifications in their structure. *Front. Microbiol.* 8:399. doi: 10.3389/fmicb.2017.00399.
- Rojas-Downing M. M., A. P. Nejadhashemi, T. Harrigan, S. A. Woznicki. 2017. Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and Mitigation. *Climate Risk Management* 16:145–163.
- Shah A. M., I. H. Qazi, M. Matra, M. Wanapat. 2022. Role of Chitin and Chitosan in Ruminant Diets and Their Impact on Digestibility, Microbiota and Performance of Ruminants. *Fermentation.* 8, 549. <https://doi.org/10.3390/fermentation8030549>.
- Sharifi M., A. Taghizadeh, A. Hosseinkhani, V. Palangi, M. Macit, A. Z. M. Salem, M. M. M. Y. Elghndour, S. Abachi. 2022. Influence of nitrate supplementation on *in vitro* methane emission, milk production, ruminal fermentation, and microbial methanotrophs in dairy cows fed at two forage levels. *Ann. Anim. Sci.*, 22(3): 1015–1026. DOI: 10.2478/aoas-2021-0087.
- Soliva. C. R and H. D. Hess. 2007. Measuring Methane Emission of Ruminants by *In Vitro* and *In Vivo* Techniques. In: Makkar. H. P. S. and P. E Vercoe (Eds.) *Measuring Methane Production from Ruminants.* IAEA.FAO.Springer. Netherlands. p. 15 – 30.
- Sondakh E. H. B., J. A. D. Kalele, F. S. Ratulangi, C. Palar and S. Rimbing. 2022. Utilization of coconut pulp as methane inhibitor feed on meat quality of goat. *Animal Production.* 24 (1): 17-22,
- Sondakh E. H. B., J. A. Rorong, J. A. D. Kalele. 2015. Methane gas reduction using *virgin coconut oil* supplementation in rumen fermentation through *in Vitro*. *Animal Production.* 17(3):144-148
- Sondakh E. H. B., J.A.D. Kalele, dan F. Ratulangi. 2017. The use of coconut pulp as a feed substrate to methanogenesis inhibitor in *in vitro* rumen fluid fermentation. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42(3): 202-209
- Sun J., G. Zhao, M. M. Li. 2023. Using nutritional strategies to mitigate ruminal methane emissions from ruminants. *Front. Agr. Sci. Eng.* <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2023504>.
- Suybeng B., E. Charmley, C. P. Gardiner, B. S. Malau-Aduli and A. E. O. Malau-Aduli. 2019. review methane emissions and the use of desmanthus

- in beef cattle production in northern australia. *Animals*, 9: 542; doi:10.3390/ani9080542.
- Tenzin Tseten T., R. A. Sanjorjo, M. Kwon and S.W. Kim. 2022. Strategies to Mitigate Enteric Methane Emissions from Ruminant Animals. *J. Microbiol. Biotechnol.* 32(3): 269–277. <https://doi.org/10.4014/jmb.2202.02019>.
- Terler G., M. Winter, M. Mand, J. Sweeney, A. Steinwidder. 2023. Effect of biochar or biochar and urea supplementation on feed intake, milk yield, feed conversion and methane production of dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.*, 68: 245–254.
- Terry S.A., A. M. Krüger, P. M. T Lima, R. J. Gruninger, D. W. Abbott, K. A. Beauchemin. 2023. Evaluation of Rumen Fermentation and Microbial Adaptation to Three Red Seaweeds Using the Rumen Simulation Technique. *Animals* 2023, 13, 1643. <https://doi.org/10.3390/ani1310164>
- Vadroňová M., A. Šťovíček, K. Jochová, A. Výborná, Y. Tyrolová, D. Tichá., P. Homolka, M. Joch. 2023. Combined effects of nitrate and medium-chain fatty acids on methane production, rumen fermentation, and rumen bacterial populations in vitro. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3119733/v1>.
- Vakili A. R., B. Khorrami, M. D. Mesgaran, and E. Parand. 2013. The Effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in holstein calves consuming high concentrate diet. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26(7): 935-944.
- Van Gastelen S., J. Dijkstra and A. Bannink. 2019. Are dietary strategies to mitigate enteric methane emission equally effective across dairy cattle, beef cattle, and sheep?. *J. Dairy Sci.* 102:6109–6130.
- <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15785>.
- Van Gastelen S., J. Dijkstra, G. Binnendijk, S. M. Duval, J. M. L. Heck, M. Kindermann, T. Zandstra, and A. Bannink. 2020. 3-Nitrooxypropanol decreases methane emissions and increases hydrogen emissions of early lactation dairy cows, with associated changes in nutrient digestibility and energy metabolism. *J. Dairy Sci.* 103:8074–8093. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17936>.
- Van Wesemael D., L. Vandaele, B. Ampe, H. Cattrysse, S. Duval, M. Kindermann, V. Fievez, S. De Campeneere and N. Peiren. 2019. Reducing enteric methane emissions from dairy cattle: Two ways to supplement 3-nitrooxypropanol. *J. Dairy Sci.* 102:1780–1787. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14534>.
- Vasta V., M. Daghio, A. Cappucci, A. Buccioni, A. Serra, C. Viti and M. Mele. 2019. *Invited review*: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *J. Dairy Sci.* 102:3781–3804. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>.
- Veneman J. B., S. Muetzel, K. J. Hart, C. L. Faulkner, J. M. Moorby, H. B. Perdok and C. J. Newbold. 2015. Does dietary mitigation of enteric methane production affect rumen function and animal productivity in dairy cows? *PLoS ONE* 10(10): e0140282. doi:10.1371/journal.pone.0140282.
- Wang W., P. Lund, M. Larsen and M. R. Weisbjerg. 2023. Effect of nitrate supplementation, dietary protein supply, and genetic yield index on performance, methane emission, and

- nitrogen efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 106:5433–5451. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22906>.
- Waqas M., M. Salman and M. S. Sahrif. 2023 .Application of polyphenolic compounds in animal nutrition and their promising effects. *J. Anim. and Feed Sci.* 32, 3, 2023, 233–256 <https://doi.org/10.22358/jafs/159718/2023>.
- Yeh H., C. Chuang, H. Chen, C. Wan, T. Chen, L. Lin. 2013. Bioactive Components Analysis of Two Various Gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and Antioxidant Effect of Ginger Extracts. *LWT-Food Sci. and Technol.* in press, 2013, 1 – 6.
- Yi S., X. Zhan, X. Chen, J. Zhou, C. Gao, Z. Ma, R. Wang, Z. Tan and M. Wang. 2023. Fermentation of increasing ratios of grain starch and straw fiber: effects on hydrogen allocation and methanogenesis through in vitro ruminal batch culture. PeerJ, DOI 10.7717/peerj.15050.
- Yu G., K. A. Beauchemin, R. Dong. 2021. A Review of 3- Nitrooxypropanol for enteric methane mitigation from ruminant livestock. *Animals*, 11(12): 3540. <https://doi.org/10.3390/ani11123540>.
- Yusuf R. O., Z. Z. Noor, A. H. Abba, M. A. A. Hassan and M. F. M. Din. 2012. Greenhouse Gas Emissions: Quantifying Methane Emissions from Livestock. *Am. J. Engg. & Applied Sci.*, 5 (1): 1-8, 2012.
- Zeid S. R., M. S. Moharam, A. A. Nour, H. M. El-Zaiat and S. M. A. Sallam. 2019. *In vitro* responses of *yucca schidigera* extract on ruminal methane production, fermentation characteristics and degradability. *Egyptian J. Nutrition and Feeds*, 22 (2): 321-328.
- Zhang X. M., R F. Medrano, M. Wang, K. A. Beauchemin, Z. Y. Ma, R. Wang, J. N. Wen, B. A. Lukuyu, Z. L. Tan and J. H. He. 2019. Corn oil supplementation enhances hydrogen use for biohydrogenation, inhibits methanogenesis, and alters fermentation pathways and the microbial community in the rumen of goats. *J. of Anim. Sci.*, 2019, Vol. 97, No. 12.
- Zhao Y., X. Nan, L. Yang, S. Zheng, L. Jiang and B. Xiong. 2020. A Review of Enteric Methane Emission Measurement Techniques in Ruminants. *Animals* 2020, 10, 1004; doi:10.3390/ani10061004.