

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada usaha penangkaran rusa Timor yang terletak di Desa Margorejo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Penelitian dimulai pada bulan 10 Maret - 31 Mei 2016.

3.1. Materi

Materi percobaan yang digunakan adalah Rusa Timor (*Rusa timorensis*) yang memiliki *body condition score* (BCS) 2–3,25 dan umur *poel* 2 sebanyak 10 ekor. Kondisi rusa sudah pernah melahirkan dan sehat fisik. Lendir serviks sebagai objek yang diamati.

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan mineral blok adalah pres mineral untuk mencetak bahan, ember sebagai tempat untuk mencampur bahan pakan, kuas untuk mengoleskan minyak pada permukaan alat pres, gelas untuk menyampur air, garam, vitamin dan mineral, tongkat penekan berfungsi sebagai alat untuk menekan bahan pakan yang dimasukkan ke dalam alat press, gelas ukur volume 1 liter sebagai tempat molases, timbangan *analitik* untuk menimbang bahan pakan dengan jumlah sedikit, timbangan kapasitas 5 kg untuk menimbang bahan dalam jumlah banyak, oven sebagai alat untuk mengeringkan mineral yang sudah tercetak, blender untuk menghaluskan garam, *plastic wrap* untuk membungkus mineral blok yang sudah kering, sendok untuk mengaduk. Bahan yang digunakan adalah bekatul, onggok kering, bungkil kedelai, premix, garam, molases, vitamin ADEK, mineral Magnesium (Mg), seng (Zn) dan Selenium (Se)

sebagai bahan pakan untuk membuat mineral blok, minyak sayur sebagai pelicin, kertas minyak sebagai alas mineral blok yang akan dicetak, sabun cair untuk membersihkan alat dan air sebagai pencekungan molases.

Alat yang digunakan untuk membuat *sprit* modifikasi meliputi *sprit* 3 cc, benang wol untuk membuat rumbai-rumbai penyeimbang *sprit*, jarum 18 G, kikir untuk melubangi jarum, lem perekat untuk menutup lubang asli jarum, potongan karet ban kecil untuk menutup lubang buatan pada jarum supaya kondisi *sprit* modifikasi dalam keadaan vakum, pinset untuk meratakan lem perekat, gas korek api sebagai pemberi tekanan pada *sprit* tulup. Alat yang digunakan saat proses pelaksanaan penulupan adalah tulup atau pipa PVC ukuran 1/2, *sprit* modifikasi sebagai tempat obat ACP, alkohol 70% untuk mensterilkan jarum, bahan yang digunakan adalah *acepromazine maleate* (ACP) sebanyak 0,4 – 0,5 ml/ekor sebagai obat penenang.

Alat yang digunakan saat pelaksanaan sinkronisasi adalah pencetak spons untuk mencetak spons, spons vagina, jarum untuk memasang benang pada spons, benang sebagai pengikat spons supaya spons tidak hilang saat dipasang pada rusa, *sprit* 10 cc untuk mengambil etanol dan *medroxy progesterone acetat* (MPA), mangkok sebagai tempat untuk meletakkan campuran metanol dan MPA yang akan di balutkan ke spons vagina, ember untuk tempat mencuci spons yang akan di beri MPA, box pengering untuk mengeringkan spons yang sudah dicuci dan juga spons yang sudah di beri MPA, sarung tangan, aplikator sinkronisasi untuk memasukan spons pada vagina rusa. Bahan yang digunakan adalah MPA sebagai hormon yang digunakan untuk memicu berahi rusa Timor, metanol sebagai pengencer MPA, sabun cair untuk mencuci spons, aquabidest, tissue untuk

membersihkan peralatan, alkohol 70% untuk mensterilkan, betadin salep sebagai antiseptik dan KY Jell sebagai pelicin aplikator sinkronisasi.

Alat yang digunakan untuk pengambilan lendir serviks adalah spekulum untuk membuka vulva supaya terlihat bagian serviksnya, senter sebagai penerangan, kateter (selang eritrosit, *sputum* 3 cc, *plastic sheath*) untuk menyedot lendir serviks, KY Jell sebagai pelicin spekulum, beker glass untuk menampung lendir serviks, tissue untuk membersihkan alat, pH indikator untuk mengukur pH lendir serviks dan kamera untuk dokumentasi objek penelitian.

3.2. Metode

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap yaitu metode persiapan dan metode pelaksanaan serta pengambilan data penelitian.

3.2.1. Metode persiapan

Tahap persiapan peneliti dimulai dengan memilih rusa Timor betina dengan kriteria kondisi alat reproduksi normal yang ditandai sudah pernah melahirkan, *body condition score* (BCS) 2–3,25 (Audigeet *al.*, 1998), umur *poel* 2 sebanyak 10 ekor, persiapan kandang dan tempat pengamatan, pembuatan pakan mineral blok, pembuatan *sputum* modifikasi dan pembuatan spons vagina. Persiapan pemilihan penempatan kandang dengan jarak yang ditentukan saat pengamatan dan kandang dibatasi pagar besi dan MMT sebagai pemisah antara kandang perlakuan T0 dan T1.

Tahap pembuatan mineral blok dengan semua bahan pakan ditimbang dengan komposisi sebagai berikut:

Tabel 1. Persentase Bahan-bahan Penyusun Mineral Blok

No	Bahan	Jumlah
		----- (%) -----
1.	Bekatul	40
2.	Molases	35
3.	Bungkil Kedelai	10
4.	Onggok	6,9
5.	Garam	6
6.	Vitamin ADEK	0.04699
7.	Mineral	
	Premix	2
	Mg	0,05
	Zn	0,003
	Se	0,0001
Total		100

Bahan-bahan semuanya dicampur sampai homogen ditambahkan air sebanyak 70 ml. Alat pres bagian dalam diolesi minyak sayur agar tidak lengket, kemudian campuran bahan pakan dimasukkan kedalam alat pres. Mineral dicetak berbentuk tabungselama \pm 15 menit, dioven dengan suhu 59°C selama 48 jam, sampai mineral blok mengeras.

Pembuatan sponsvagina diawali dengan mencetak spons menggunakan cetakan berbentuk silinder dengan tinggi 4 cm dan diameter 3 cm. Spons diikat dengan benang nilonsepanjang 60 cm menggunakan jarum. Spons dicuci dengan sabun cair kemudian dibilas dengan air. Spons dikeringkan dalam kotak pengering selama 48 jam. Bagian permukaan spons dicelupkan dalam larutan *medroxy progesterone acetate* (MPA) yang telah diencerkan dengan methanol sebanyak 20 mg/ml. Spons dikeringkan kedalam box pengering selama 48 jam sampai spons benar-benar kering.

Pembuatan *sprit* modifikasi dengan menyiapkan *sprit* 3 ml, jarum 18G, lem kaca, potongan kecil ban bekas dan kikir. Bantalan pendorong disusun pada *sprit*

sebanyak 3 buah secara sejajar. Bantalan paling luar dikunci menggunakan jarum 24G. Rumbai-rumbai dibuat dari benang wool sebagai penyeimbang gerakan *sput*, kemudian dipasang dibantalan paling luar. Jarum 18G bagian tengah dikikir hingga terbentuk lubang kecil, kemudian bagian ujung jarum 18G dilem menggunakan lem kaca dan menutup lubang yang sudah dikikir dengan potongan ban bekas. Uji kebocoran dilakukan pada jarum 18G sebelum digunakan. Setelah uji kebocoran selesai, jarum 18G dipasangkan dengan *sput* modifikasi.

3.2.2. Metode pelaksanaan penelitian

Tahap pelaksanaan penelitian meliputi adaptasi, perlakuan, pemberian obat penenang, sinkronisasi estrus dan pengambilan data lendir serviks.

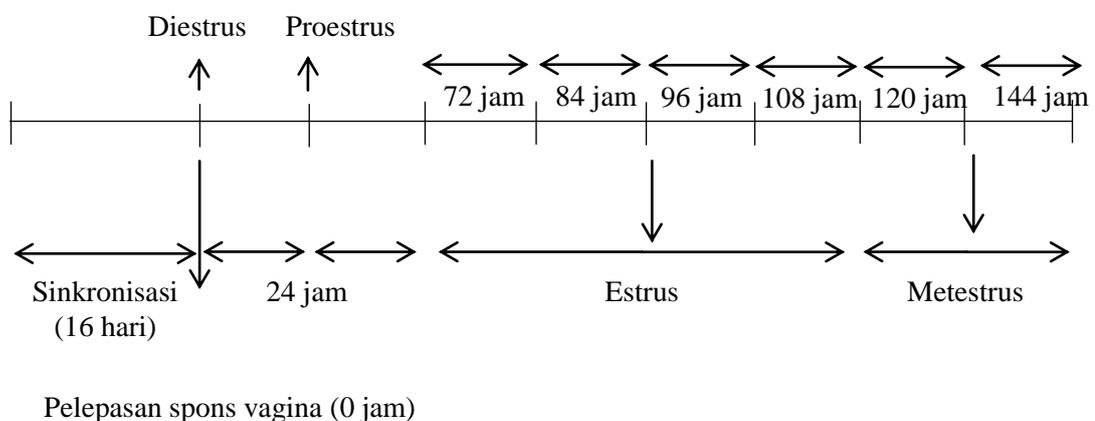
Perlakuan adaptasi sebanyak 10 ekor rusa ditempatkan di kandang individu seluas 8 x 5 m selama 1 bulan dilengkapi dengan tempat pakan dan tempat minum. 10 ekor rusa Timor yang dijadikan penelitian diberi pakan hijauan rumput lapang, rumput raja dan singkong. Perlakuan yang diberikan yaitu T0 = 5 ekor rusa yang tidak diberi suplemen mineral blok (kontrol) dan perlakuan T1 = 5 ekor rusa yang diberi suplementasi mineral magnesium (Mg), Seng (Zn) dan selenium (Se) yang berbentuk mineral blok selama 6 minggu.

Pemberian obat penenang dengan *acepromazine maleate* (ACP) sebanyak 0,5 ml ke dalam *sput* tulup. *Sput* tulup ditulupkan ke rusa Timor sasaran pada bagian paha atau leher. Menunggu reaksi obat ACP selama 30 menit. Rusa Timor yang terkena obat ACP dipancing dan ditangkap yang telah keluar dari kandang. Handling dilakukan dengan cara menutup mata menggunakan kain hitam, memegang keempat kaki rusa Timor pada bagian paha, badan dan kepala.

Pengambilan sampel lendir serviks dilakukan pada 8 titik waktu sebelum dan setelah pelepasan implan spons vagina yaitu :setelah pelepasan implan spons MPA (diasumsikandi estrus) jam 0, 24 jam setelah pelepasan implan spon MPA (diasumsikan proestrus), 72 jam, 84 jam, 96 jam, 108 jam setelah pelepasan implan spons MPA (diasumsikan estrus), 120 jam dan 144 jam (hari ke-6) setelah pelepasan implan spons MPA (diasumsikan metestrus)

Pelaksanaan sinkronisasi berahi diawali dengan langkah sterilisasi alat aplikator dengan alkohol 70% yang dilanjutkan dengan pengolesan KY gel pada aplikator sinkronisasi. Bagian di vulva disterilkan dengan cara membersihkannya dengan tissue yang diberi alkohol 70%. Memberikan obatbetadin oles pada spons secukupnya untuk menghindari terjadinya infeksi pada vagina. Implan spons vagina dengan *medroxy progesteronacetate* (MPA) dimasukkan kedalam vagina, dilakukan secara aseptis, kemudian membiarkannya Implan spons vagina selama 16 hari.

Berikut adalah alur *timeline* pengambilan data penelitian pada jam ke- (0, 24, 72, 84, 96, 108, 120 dan 144) selama siklus estrus :



Ilustrasi 1. Alur Waktu Sinkronisasi dan Pengambilan Data

Pengambilan lender serviks dilakukan di dalam serviks dengan menggunakan kateter (selang eritrosit, *sprit* 3 cc, *plastic sheat*). Kateter dimasukkan ke dalam serviks, ditarik secara perlahan supaya lendir dapat tertarik. Kateter dikeluarkan dari serviks dan lendir yang diperoleh diletakkan ke dalam gelas beker dan diukur pHnya dengan pH indikator. Lendir serviks yang diperoleh diukur kadar NaCl sebanyak 0,2-0,5 ml dan ditambah aquades sampai 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* yang sudah diberi label. Lendir serviks dimasukkan ke tabung *ependorf* ke dalam plastik klip. Lendir disimpan di *cooling box* yang sudah berisi *ice pack* untuk sementara dan kemudian dimasukkan ke *freezer* dengan suhu -20°C sampai proses analisis titrasi dilakukan.

Analisis kadar NaCl dilakukan dengan menggunakan metode titrasi Mohr. Sampel terlebih dahulu diencerkan dengan menggunakan tambahan larutan aquades sampai 1 ml. Mengambil 0,2 ml sampel kemudian ditambahkan indikator larutan K_2CrO_4 5% sebanyak 0,2 ml dan dititrasi dengan menggunakan larutan AgNO_3 0,01 N sampai terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah bata atau merah kecoklatan. Mencatat volume AgNO_3 0,01 N yang digunakan untuk menitrasi setiap sampel. Analisis kadar NaCl dari setiap sampel dihitung dengan menggunakan rumus (Rinto *et al.*, 2009) sebagai berikut :

$$\frac{(V_1 \cdot N) \times B \times P \times 100\%}{V_2 \times 1.000}$$

Keterangan = V_1 : Volume AgNO_3

N : Normalitas AgNO_3

B : MrNaCl (58,46)

P : Faktor pengenceran

V_2 : Volume sampel

Pengukuran pH lender serviks dilakukan menggunakan pH indikator atau kertas lakmus, dengan cara lender serviks yang didapat ditampung pada cawan petri, kemudian pH indicator dicelupkan kedalam lender serviks kemudian diamati perubahan pH, dicocokkan pada standar indikator dan dicatat hasil pH tersebut.

3.3. Analisis Data

Analisis data dengan hasil data yang dicatat meliputi kadar NaCl dan pH lendir serviks. Analisis kadar NaCl dilakukan dengan menggunakan metode titrasi Mohr, kemudian hasil kadar NaCl dan pH lender serviks yang diperoleh di uji menggunakan statistik SPSS *t-test* (Widiarso, 2013) dengan rumus berikut :

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

Dengan hipotesis penelitian ini:

- H_0 : Jika $U_{hitung} \geq U_{tabel}$; (tidak ada pengaruh pemberian suplementasi mineral (Mg, Se dan Zn) terhadap kadar NaCl dan pH lendir serviks selama siklus estrus rusa Timor).
- H_1 : Jika $U_{hitung} \leq U_{tabel}$; (minimal ada satu pengaruh pemberian suplementasi mineral (Mg, Se dan Zn) terhadap kadar NaCl dan pH lendir serviks selama siklus estrus rusa Timor).

Oleh karena itu dari hipotesis penelitian ini dapat diperoleh hasil tanda-tanda berahi yang tepat dan telah teramati untuk melatar belakangi gambaran tanda-tanda berahi yang jelas dari objek penelitian.