

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian suplementasi kolin klorida pada pakan terhadap urea darah, *true protein* dan urea susu sapi perah Friesian Holstein laktasi telah dilaksanakan pada bulan Januari - Maret 2016 di Koperasi Serba Usaha (KSU) Sapi Perah Wahyu Agung, Kecamatan Getasan, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Analisis urea darah dilakukan di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Analisis urea susu dan *true protein* susu dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

#### **3.1. Materi**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 8 ekor sapi perah betina Friesian Holstein (FH) laktasi pada bulan laktasi ke- 3 dan 4 dengan periode laktasi ke II. Peralatan yang digunakan antara lain : pita ukur untuk mengukur bobot badan ternak, timbangan digital kapasitas 150 kg dengan ketelitian 0,01 kg , botol kaca 75 ml, takaran susu kapasitas 2 liter, spuit untuk mengambil darah, tabung *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA), lemari pendingin dan *spectrofotometer microlab*.

Pakan yang digunakan terdiri atas hijauan yaitu rumput gajah yang di ambil di daerah sekitar Getasan, Salatiga. Konsentrat yang digunakan yaitu konsentrat komersial merk WA Feed yang di produksi oleh KSU Wahyu Agung. *Feed supplement* yang digunakan yaitu produk kolin klorida 60% *corncob* (60%

kolin klorida dan 40% tepung jagung). Ransum yang diberikan pada ternak dengan perbandingan konsentrat dan hijauan sebesar 60% dan 40%. Hasil analisis proksimat bahan pakan dan komposisi ransum penelitian tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi dan Komposisi Ransum Penelitian

Keterangan	Bahan Pakan	Rasio (%BK)	BK <sup>a</sup>	LK <sup>a</sup>	SK <sup>a</sup>	PK <sup>b</sup>	BETN <sup>c</sup>	TDN <sup>c</sup>
			----- (%)-----					
Bahan Pakan	1. Rumput Gajah	-	15,32	2,72	33,06	8,01	37,24	57,33
	2. Konsentrat Komersial	-	88,39	4,55	19,92	16,70	52,24	74,74
Komposisi Ransum	1. Rumput Gajah	40	6,13	1,09	13,23	3,20	7,57	22,93
	2. Konsentrat Komersial	60	53,03	2,73	11,95	10,02	3,95	44,84
Jumlah			59,16	3,82	25,18	13,22	11,52	67,78

Keterangan :

- Hasil analisis Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2015)
- Hasil analisis Laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2015)
- Perhitungan menurut Sutardi (1981) dalam Widodo dkk. (2012) rumus TDN dengan kandungan SK > 18% dan PK < 20% yaitu,  $TDN = 70,6 + 0,259 PK + 1,01 LK - 0,76 SK + 0,0991 BETN$ .
- BK : bahan kering, PK : protein kasar, LK : lemak kasar, SK : serat kasar, dan TDN : *total digestible nutrients*.

### 3.2. Metode

Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan menggunakan rancangan percobaan *cross-over design* sesuai petunjuk Neter dkk. (1990) dengan 2 perlakuan yaitu T<sub>0</sub> (pakan tanpa penambahan kolin klorida) dan T<sub>1</sub> (pakan dengan penambahan 30 g/hari kolin klorida) dan 4 kali ulangan dalam 2 periode. Prosedur penelitian terdiri dari tiga tahap yaitu tahap persiapan dan adaptasi, tahap perlakuan dan pengambilan data serta tahap analisis data.

### **3.2.1. Tahap persiapan dan adaptasi**

Tahap persiapan meliputi survei lokasi penelitian dan pemilihan materi. Materi penelitian yang dimaksud adalah ternak sapi perah yang sesuai dengan kriteria yaitu bulan laktasi ke 3 dan 4 serta periode laktasi ke-II. Sapi yang terpilih dilakukan pengukuran estimasi bobot badan dengan cara mengukur lingkar dada sapi menggunakan pita ukur dan melakukan perhitungan dengan rumus Scrool (Lampiran 1). Persiapan juga dilakukan dengan cara menentukan dan menghitung ransum pakan penelitian berdasarkan bobot badan ternak serta melakukan pencatatan produksi susu. Pada tahap ini juga sapi yang masuk kriteria mulai diberlakukan adaptasi seperti pemberian ransum penelitian secara bertahap dengan tujuan agar sapi dapat terbiasa mengkonsumsi ransum yang digunakan selama penelitian. Tahap adaptasi ini dilakukan selama 2 minggu dan dilakukan ketika awal periode.

### **3.2.2. Tahap perlakuan dan pengambilan data**

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan tahapan dua periode. Tahap penelitian periode I dilakukan selama 3 minggu. Sapi kelompok I diberikan perlakuan  $T_0$  (pakan tanpa penambahan kolin klorida) dan sapi kelompok II diberikan perlakuan  $T_1$  (pakan dengan penambahan 30 g/hari kolin klorida). Berikut ini denah percobaan tersaji pada Tabel 2 untuk mempermudah pengamatan.

Tabel 2. Denah Percobaan

Periode Penelitian	T <sub>0</sub> (Tanpa Kolin)				T <sub>1</sub> (Suplementasi kolin 30 g/ekor/hari)			
	I	B1	B2	B3	B4	A1	A2	A3
Istirahat selama 2 minggu								
II	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4

Keterangan :

Periode I : T<sub>0</sub> = sapi dengan pemberian pakan tanpa penambahan kolin klorida (B1, B2, B3, B4)

T<sub>1</sub> = sapi dengan penambahan 30 g/hari kolin klorida pada pakan (A1, A2, A3, A4)

Periode II : T<sub>0</sub> = sapi dengan pemberian pakan tanpa penambahan 30 g/hari kolin klorida (A1, A2, A3, A4)

T<sub>1</sub> = sapi dengan penambahan 30 g/hari kolin klorida pada pakan (B1, B2, B3, B4)

Masa istirahat dilakukan selama 2 minggu pada akhir periode I. Masa istirahat tersebut mempunyai tujuan untuk menghilangkan metabolisme kolin klorida yang terjadi dalam tubuh sapi perlakuan T<sub>1</sub>. Tahap perlakuan periode II berlangsung selama 3 minggu. Sapi yang pada periode I diberi perlakuan T<sub>0</sub> kemudian diberi perlakuan T<sub>1</sub> dan sapi yang pada periode I diberi perlakuan T<sub>1</sub> selanjutnya diberi perlakuan T<sub>0</sub>. Pengambilan data dilakukan pada setiap akhir periode untuk selanjutnya dianalisis di laboratorium.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini antara lain adalah urea darah, *true protein* dan urea susu.

**3.2.2.1. Urea darah.** Pengambilan sampel dilakukan pada setiap akhir periode. Pengambilan darah ini dilakukan tiga jam setelah pemberian pakan. Darah diambil menggunakan spuit sebanyak 10 ml. Pengambilan darah dari vena jugularis, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA untuk mencegah darah menggumpal. Selanjutnya kadar urea darah dianalisis di

Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

**3.2.2.2. *True protein.*** Pengambilan sampel susu dilakukan pada setiap akhir periode. Sampel susu pemerahan pagi dan pemerahan sore dihomogenisasikan dan diproporsi berdasarkan produksi susu (Lampiran 9). Sampel susu diambil sebanyak 0,5 ml, masukkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet hisap. Tambahkan TCA 0,5 ml. Aduk menggunakan vortex selama 1 menit. Masuk ke tahap sentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm/10 menit. Supernatan (cairan bening) dibuang kemudian endapan di tambah buffer acetat 2 ml. Aduk dengan sentrifuse. Tambahkan aquades sebanyak 0,3 ml. Campur sampel dengan menggunakan vortex selama 1 menit. Menambahkan larutan R1 sebanyak 5 ml lalu aduk menggunakan vortex selama 1 menit. Menginkubasi sampel selama 10 menit. Kemudian menambahkan larutan folin 0,5 ml. Aduk dengan menggunakan vortex hingga warna sampel berubah menjadi biru. Inkubasi sampel selama 30 menit. Selanjutnya melakukan pembacaan di spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm.

**3.2.2.3. *Urea susu.*** Sampel susu pemerahan pagi dan pemerahan sore dihomogenisasikan dan diproporsi berdasarkan produksi susu (Lampiran 9), kemudian dimasukkan kedalam botol. Sampel susu dimasukkan ke dalam *ice box* untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dianalisis. Sampel susu yang sudah proporsi diambil sebanyak 1 ml, masukkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet hisap. Tambahkan TCA 0,5 ml. Gojog menggunakan vortex selama 1 menit. Masuk ke tahap sentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm/10

menit. Mengambil 10 mikron sampel susu yang sudah disentrifuse (cairan bening) dengan menggunakan pipet hisap masukkan ke dalam tabung reaksi yang baru. Tambahkan R1 sebanyak 1 ml. Aduk sampel dengan menggunakan vortex selama 1 menit. Inkubasi dalam inkubator selama 5 menit. Menambahkan larutan R3, aduk dengan menggunakan vortex. Selanjutnya melakukan pembacaan di spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm.

### 3.2.3. Analisa data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam (uji F) berdasarkan rancangan percobaan *cross-over design* (Neter dkk., 1990) pada taraf kesalahan 5%. Model matematika rancangan *cross-over design* sesuai petunjuk Neter dkk. (1990) adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij(k)} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_{(k)} + \varepsilon_{ij(k)}$$

Penjelasan :

$Y_{ij(k)}$  = nilai pengamatan pada perlakuan ke-i (perlakuan suplementasi kolin klorida dan tidak) dan periode percobaan ke-j (periode I dan II) serta ternak sapi perah FH ke-k.

$\mu$  = nilai rata-rata umum.

$\alpha_i$  = pengaruh perlakuan ke-i (suplementasi kolin klorida atau tidak).

$\beta_j$  = pengaruh periode percobaan ke-j (periode I dan II).

$\tau_{(k)}$  = pengaruh individu ternak ternak sapi perah FH ke-k.

$\varepsilon_{ij(k)}$  = pengaruh galat percobaan perlakuan suplementasi kolin klorida atau tidak (i), periode percobaan (j) dan individu ternak sapi perah FH (k).

Hipotesis statistik yang diajukan yaitu,

$H_0 : \tau_0 = \tau_1 = 0$ ; tidak ada perbedaan kadar urea darah, urea susu dan *true protein* susu antara sapi FH yang mendapatkan dan tidak mendapatkan penambahan kolin klorida.

$H_1 : \tau_0 \neq \tau_1 \neq 0$ ; ada perbedaan kadar urea darah, urea susu dan *true protein* susu antara sapi FH yang mendapatkan dan tidak mendapatkan penambahan kolin klorida.

Kaidah penarikan kesimpulan :

Bila  $F_{hitung} < F_{tabel} (5\%)$ , maka  $H_0$  diterima

Bila  $F_{hitung} > F_{tabel} (5\%)$ , maka  $H_0$  ditolak atau  $H_1$  diterima