

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Materi

Penelitian dengan judul pengaruh penggunaan tepung ampas kecap dalam ransum terhadap kadar Kolesterol, *Low Density Lipoprotein* dan *High Density Lipoprotein* darah pada ayam petelur tua dilaksanakan pada tanggal 29 Oktober–23 Desember 2016 di PT. Balebat Sukorejo, Kabupaten Kendal dan Laboratorium Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.

Materi penelitian yang digunakan meliputi 200 ekor ayam petelur strain *Lohman Brown* umur 80 minggu dengan berat badan $1932,75 \pm 189,50$ gram (CV=9,80%) dan ransum ayam petelur. Bahan yang digunakan untuk menyusun ransum terdiri atas jagung kuning, bekatul, bungkil kedelai, tepung ikan, *meat bone meal*, *poultry meat meal*, lysin, metionin, kapur, premix dan tepung ampas kecap. Kandungan nutrisi bahan penyusun ransum tersaji pada Tabel 2, sedangkan susunan dan kandungan nutrisi ransum percobaan tersaji pada Tabel 3.

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan kandang baterai dengan setiap cage nya berisi 1 ekor ayam, tempat pakan, tempat minum, *thermohygrometer*, dan mesin grinder. Sedangkan peralatan yang digunakan untuk pengambilan darah yaitu sputit 3 ml, *vacuum tube* anti koagulan *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA), kapas, alkohol, *ice pack*, *cooling box*, dan *eppendorf* untuk menampung plasma.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Bahan Penyusun Ransum

Bahan Pakan	EM ²⁾	PK ¹⁾	SK ¹⁾	LK ¹⁾	Ca ¹⁾	P ¹⁾	Lisin ³⁾	Metionin ³⁾
(kkal/kg)	-----(%-----							
Jagung	3862,00	9,59	2,74	3,42	0,03	0,00	0,26	0,18
Bekatul	3357,00	13,88	18,54	15,92	0,00	1,69	0,50	0,19
Bungkil	2577,00	51,35	7,53	0,75	0,05	0,69	2,90	0,65
Kedelai								
Tepung Ikan	2933,69	29,79	2,53	6,42	6,42	6,24	5,00	1,80
MBM	2236,00	52,34	5,40	9,08	2,37	1,89	5,96	0,60
PMM	1619,00	45,43	8,25	14,44	1,01	2,24	0,00	0,00
Tepung Ampas	3786,47	34,27	12,03	18,13	0,20	0,57	1,03	1,67
Kecap								
Lisin	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	90,00	0,00
Metionin	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	90,00
Kapur	0,00	0,00	0,00	0,00	80,00	0,00	0,00	0,00
Premix	0,00	0,00	0,00	0,00	2,79	0,51	0,00	0,00

Sumber : 1) : Analisis Proksimat Bahan Pakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, UNDIP (2016)
 2) : Hartadi (2005)
 3) : Wahju (2004)

3.2. Metode

3.2.1. Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan penelitian dibagi menjadi 4 tahap yaitu: tahap persiapan, pelaksanaan, pengambilan data dan analisis. Tahap persiapan meliputi pemilihan rancangan percobaan, pembuatan proposal usulan penelitian, estimasi anggaran yang dibutuhkan, penentuan hipotesis penelitian, seminar internal laboratorium produksi unggas, persiapan bahan pakan, persiapan kandang dan peralatan yang akan digunakan.

Analisis proksimat, Ca, dan P bahan pakan dan tepung ampas kecap dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Tabel 3. Susunan dan Kandungan Nutrisi Ransum

Bahan Pakan	T0	T1	T2	T3
-----(%-----)				
Jagung Kuning	55,00	55,00	55,00	55,00
Bekatul	15,00	11,30	10,30	9,30
Bungkil Kedelai	15,50	12,00	10,50	9,00
Tepung Ikan	4,00	2,00	2,00	2,00
MBM	2,00	2,00	2,00	2,00
PMM	2,80	2,00	2,00	2,00
Ampas Kecap	0,00	10,00	12,50	15,00
Lysin	0,10	0,10	0,10	0,10
Methionin	0,10	0,10	0,10	0,10
Kapur	4,50	4,50	4,50	4,50
Premix	1,00	1,00	1,00	1,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Kandungan Nutrisi *				
EM (kkal/kg)	2.814,20	2.872,86	2.886,79	2.900,71
PK (%)	18,83	18,98	18,93	18,88
SK (%)	5,90	6,03	6,03	6,04
LK (%)	5,23	6,18	6,46	6,75
Ca (%)	3,99	3,87	3,87	3,88
P (%)	0,72	0,54	0,53	0,98
Lisin (%)	1,08	0,96	0,94	0,91
Metionin (%)	0,40	0,50	0,53	0,56
Harga (Rp)	5.648,00	5.110,00	4.993,00	4.877,00

* Dihitung berdasarkan kandungan nutrisi masing-masing bahan pakan hasil analisis proksimat Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang (2016).

Terdapat Perbedaan yang nyata antara kadar garam sebelum tepung ampas kecap sebelum direndam dan setelah direndam dengan asam cuka dimana terdapat penurunan kadar garam sebanyak 20%, dapat dilihat pada Tabel 4.

Persiapan selanjutnya adalah persiapan kandang untuk pemeliharaan; pengadaan bahan pakan yang akan digunakan; formulasi ransum terdapat di tabel 4; dan pengadaan ayam petelur. Penggunaan tepung ampas kecap sebanyak 10%, 12,5% dan 15% dari jumlah pakan yang diberikan didasarkan atas penelitian sebelumnya oleh Malik dkk (2015) yang menyebutkan bahwa 13,5% akan berpengaruh baik pada kadar kolesterol, LDL, dan HDL darah ayam petelur.

Tabel 4. Kadar Garam Tepung Ampas Kecap Sebelum dan Setelah Perendaman dengan Asam Cuka

Tepung Ampas Kecap	Kadar Garam (%)
Sebelum Direndam dengan Asam Cuka	21,55
Setelah Direndam dengan Asam Cuka	1,02

Sumber: Analisis Proksimat Bahan Pakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, UNDIP (2016)

Tahap Pelaksanaan meliputi ayam ditimbang untuk memperoleh keseragaman bobot ayam, tempat ayam diundi sesuai dengan perlakuan dan dipetak menjadi 20 unit percobaan (4 perlakuan dengan 5 kali ulangan) dimana setiap unit berisikan 10 ekor, pemberian pakan sebanyak 110 gram/ekor/hari yang diberikan sebanyak 2 kali yaitu pada pagi hari pukul 07.00 WIB sebanyak 60% dan pada sore hari pukul 14.00 WIB sebanyak 40% serta pemberian air minum secara *ad libitum*. Perhitungan jumlah produksi telur dilakukan setiap hari untuk mengetahui grafik produksi telur yang dihasilkan.

Adaptasi dilakukan selama 16 hari dimana 4 hari pertama ayam diberi pakan komersial 75% dan pakan perlakuan 25%, 4 hari berikutnya dengan pakan komersial 50% dan pakan perlakuan 50%, serta 4 hari dengan pakan komersial 25% dan pakan perlakuan 75%, 4 hari selanjutnya dengan pakan perlakuan 100% dan pengambilan data terhitung 2 bulan setelahnya. Tahap pengambilan sampel darah dilakukan pada minggu terakhir perlakuan sebanyak 3 ml darah diambil melalui vena brachialis (sayap) menggunakan sputit pada tiap ekor ternak per unit percobaan, sebelumnya ayam dipuaskan terlebih dahulu 8 jam. Darah selanjutnya segera dimasukkan pada *Vacuum tube* EDTA dan dihomogenkan dengan cara digojok membentuk angka 8 untuk menghindari penggumpalan. Darah kemudian

disentrifuge pada kecepatan 1500 rpm selama 10 menit agar plasma darah terpisah. Plasma kemudian dimasukkan ke *eppendorf* dan disimpan dalam *freezer* (dibekukan untuk dianalisis), prosedur analisis kadar kolesterol, ldl, dan hdl darah terlampir pada Lampiran 8.

3.2.2. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan sehingga ada 20 unit percobaan, dan setiap unit terdiri dari 10 ekor ayam petelur yang ditempatkan ke dalam kandang *battery* secara acak. Ayam petelur tua berumur 80 minggu sebanyak 200 ekor digunakan pada percobaan ini. Perlakuan yang digunakan mengikuti prosedur Malik dkk (2015) dimana penggunaan tepung ampas kecap 13,5% dapat mempertahankan kolesterol darah ayam petelur tua. Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian ini yaitu:

- T0 : Ransum tanpa tepung ampas kecap 0%
- T1 : Ransum dengan tepung ampas kecap 10%
- T2 : Ransum dengan tepung ampas kecap 12,5%
- T3 : Ransum dengan tepung ampas kecap 15%

3.2.3. Parameter

Parameter yang diamati yaitu kadar kolesterol, LDL, HDL dalam darah dilakukan dengan metode Kit (Diagnostic System International, 2005).

3.3. Analisis Data

Analisis data yang digunakan yaitu model matematika rancangan acak lengkap (RAL) menurut Mas (2009) sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

- i = Perlakuan tepung ampas kecap (0,1,2,3)
- j = Ulangan ke 1,2,3,4 dan 5
- Y_{ij} = Nilai pengamatan dari perlakuan ke -i (0,1,2,3), pengaruh ulangan ke-j (1,2,3,4 dan 5)
- μ = Nilai rerata harapan (mean/nilai rataan populasi)
- T_i = Pengaruh faktor perlakuan ampas kecap ke-i (T0,T1,T2,T3)
- ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dengan perlakuan tepung ampas kecap ke-i (0,1,2,3) dengan ulangan ke-j (1,2,3,4 dan 5)

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dengan analisis ragam/ANOVA dengan uji F, pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan. Apabila pada analisis ragam terdapat pengaruh perlakuan ($P<0,05$), maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Mas, 2009), dalam penyusunan skripsi kali ini perhitungan menggunakan program statistika IBM SPSS versi 23 untuk mengolah data hasil penelitian.

Hipotesis Statistik :

- $H_0 : \tau = 0$ (tidak terdapat pengaruh pemberian tepung ampas kecap terhadap kadar kolesterol, HDL, dan LDL dalam darah ayam petelur).
- $H_1 : \tau \neq 0$ (minimal ada satu perlakuan pemberian tepung ampas kecap yang mempengaruhi kadar kolesterol, HDL, dan LDL dalam darah ayam petelur).

Kriteria pengujian hipotesis adalah sebagai berikut :

$F_{hitung} < F_{tabel\ 5\%}$: Perlakuan tidak berpengaruh nyata, sehingga H_0 diterima dan H_1 ditolak

$F_{hitung} \geq F_{tabel\ 5\%}$: Perlakuan berpengaruh nyata, sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima