

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2013 sampai Januari 2014. Lokasi penelitian di kandang ruminansia kecil Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 kambing Kacang jantan yang terdiri atas 8 ekor kambing muda (6-7 bulan) bobot awal rata-rata $12,75 \pm 2,68$ kg (CV 21,52%) dan 8 ekor kambing dewasa (9-12 bulan) dengan bobot awal rata-rata $17,34 \pm 3,32$ kg (CV 19,63%). Ransum yang digunakan adalah *complete feed* bentuk pellet dengan komposisi tangkai gandum (25%), bekatul (39%), bungkil kedelai (32%), molases (3%) dan mineral (1%). *Complete feed* tersebut memiliki kandungan BK 78,82%, PK 18,80%, lemak kasar (LK) 3,10%, serat kasar (SK) 9,63%, abu 7,77%, bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 60,70%, energi sebesar 4,19 KKal/g dan *total digestible nutrients* (TDN) 76,29%.

Peralatan untuk pengambilan sampel adalah kandang metabolis, jerigen, pH meter, *disposable syringe* 10 ml dan 20 ml, kateter, tabung reaksi, *sentrifuge*, mikropipet, termos es, botol sampel kecil, *waterbath*, dan *spektrofotometer*. Timbangan berkapasitas 150 g dengan ketelitian 0,001 g, spuit 10 dan 50 ml, *catheter*, dan *beaker glass*. Bahan yang digunakan untuk pengambilan data dan

analisis parameter berupa sampel feses, urin, darah dan cairan rumen, aquades, aquabides, *ethylene diamine tertraacetic acid* (EDTA), alkohol, kapas, reagen urea kit dan *creatinine* kit.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola tersarang (*nested design*) 2 x 2 dengan 4 ulangan. Faktor ke-1 adalah 2 kelompok umur (muda dan dewasa), dan faktor ke-2 adalah perlakuan *level feeding* (LF) yaitu LF rendah dan LF tinggi. Pengamatan perlakuan yang diberikan meliputi:

MR : Ternak muda dengan LF rendah (2,24% BB).

MT : Ternak muda dengan LF tinggi (4,48% BB).

DR : Ternak dewasa dengan LF rendah (1,87% BB).

DT : Ternak dewasa dengan LF tinggi (3,74% BB).

3. 2. 2. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap, yaitu tahap persiapan (3 minggu), tahap adaptasi (46 hari), tahap pendahuluan (1 minggu) dan tahap perlakuan (12 minggu). Tahap persiapan dilakukan untuk mempersiapkan kandang, pakan, pemilihan ternak dan analisis bahan pakan.

Tahap adaptasi meliputi penyesuaian kambing terhadap kandang dan pakan serta menghitung kemampuan konsumsi pakan ternak dan penambahan bobot badan harian (PBBH). Pakan yang diberikan pada tahap ini adalah pakan komplit

yang diberikan secara bertahap dengan pemberian sebanyak 3%BB. Selama tahap ini diperoleh data konsumsi dan PBBH dan dihitung persamaan regresinya untuk mengetahui konsumsi pakan yang mendekati kebutuhan 1 kali hidup pokok yang dijadikan acuan untuk LF rendah dan LF tinggi merupakan 2 kali dari LF rendah. Hasil perhitungan didapatkan untuk kambing Kacang muda LF rendah sebesar 2,24% BB dan 4,48% BB untuk LF tinggi, sedangkan kambing Kacang dewasa diperoleh 1,87% BB untuk LF rendah dan 3,74% untuk LF tinggi.

Tahap pendahuluan dilakukan pengacakan ternak terhadap perlakuan pemberian pakan. Akhir tahap ini dilakukan penimbangan ternak yang digunakan sebagai bobot badan awal penelitian.

Tahap perlakuan merupakan tahap pengambilan data. Pakan diberikan 3 kali sehari, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*. Penimbangan sisa pakan dilakukan pada pagi harinya, sebelum pemberian pakan. Penimbangan kambing setiap 1 minggu sekali untuk menyesuaikan jumlah pemberian pakan.

Total koleksi feses dan urin pada minggu ke-5 di kandang metabolisme (Schneider dan Flaar, 1975). Penimbangan feses dan urin dilakukan setiap hari. Hasil total koleksi feses dan urin selama 7 hari kemudian diaduk hingga homogen, untuk feses juga dijemur dan ditumbuk kemudian feses dan urin tersebut diambil sampel untuk dianalisis kandungan BK (baik yang segar maupun kering) dan PK, sedangkan sampel urin dianalisis kandungan BK, PK, derivat purin dan kadar kreatininnya.

Pengambilan sampel cairan rumen dan darah pada minggu ke 9 periode perlakuan. Pengambilan cairan rumen dan darah dilakukan sesaat sebelum

pemberian pakan (jam ke-0), kemudian jam ke-3 dan jam ke-6 setelah pemberian pakan. Pertama dilakukan pengambilan sampel darah dan kemudian pengambilan cairan rumen. Pengambilan cairan rumen dengan menggunakan pompa vacum. Sampel cairan rumen yang diperoleh kemudian diukur pHnya, setelah itu ditambahkan H₂SO₄ 20% sampai pH ≤ 3, kemudian dimasukkan ke botol sampel. Sampel darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*), kemudian disentrifuge untuk memperoleh plasma darah. Sampel darah dan sampel cairan rumen kemudian disimpan di dalam *freezer* sebelum dilakukan analisis urea darah dan amonia rumen.

Pengambilan data komposisi tubuh dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu pada awal, tengah dan akhir perlakuan dengan metode *urea space*. Pengukuran *urea space* dilakukan dengan mengambil sampel darah pada *vena jugularis*, kemudian memasukkan larutan urea (20%) ke dalam tubuh kambing sesuai dosis ($W^{0,75} \times 0,65$ ml) melalui *catheter*, setelah itu disuntikan juga larutan NaCl fisiologis. Setelah 12 menit pasca injeksi larutan urea, dilakukan pengambilan sampel darah kedua. Masing-masing sampel darah diletakkan pada tabung yang berbeda yang sebelumnya sudah diberikan EDTA agar sampel darah tidak menggumpal. Sampel darah kemudian dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm agar diperoleh plasma darahnya kemudian dilakukan analisis untuk mengetahui kandungan protein, lemak dan air tubuh.

3. 2. 3. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah konsumsi BK, konsumsi bahan organik (BO), konsumsi PK, pencernaan BK, pencernaan BO, pencernaan protein, konsumsi BO tercerna, konsumsi protein tercerna, deposisi protein, protein terdeposisi, pertambahan bobot badan harian (PBBH), konversi protein terkonsumsi, konversi protein tercerna, dan konversi protein terdeposisi, produksi dan efisiensi produksi protein mikroba, konsentrasi NH_3 cairan rumen, konsentrasi urea darah, dan komposisi tubuh yang diukur dari kandungan air, protein dan lemak tubuh serta keluaran kreatinin urin. Rumus untuk parameter tersebut adalah sebagai berikut:

$$\text{Konsumsi BK pakan (g/hari)} = \text{konsumsi bahan segar pakan} \times \% \text{ BK pakan} \dots(1)$$

$$\text{Konsumsi BO pakan (g/hari)} = \text{konsumsi BK pakan} \times \% \text{ BO Pakan} \dots(2)$$

$$\text{Konsumsi PK pakan (g/hari)} = \text{konsumsi BK pakan} \times \% \text{ PK pakan} \dots(3)$$

$$\text{Kecernaan BK (\%)} = \frac{\text{konsumsi BK pakan} - \text{BK feses}}{\text{konsumsi BKpakan}} \times 100 \text{ (Pond } et \text{ al.,1995)} \dots(4)$$

$$\text{Kecernaan BO (\%)} = \frac{\text{konsumsi BO pakan} - \text{BO feses}}{\text{konsumsi BO pakan}} \times 100 \dots(5)$$

$$\text{Kecernaan PK (\%)} = \frac{\text{konsumsi PK pakan} - \text{PK feses}}{\text{konsumsi PK pakan}} \times 100 \dots(6)$$

$$\text{Konsumsi BK dapat dicerna (g/hari)} = \text{konsumsi BK total} \times \text{kecernaan BK} \dots(7)$$

$$\text{Konsumsi BO dapat dicerna (g/hari)} = \text{konsumsi BO total} \times \text{kecernaan BO} \dots(8)$$

$$\text{Konsumsi PK dapat dicerna (g/hari)} = \text{konsumsi PK total} \times \text{kecernaan PK} \dots(9)$$

$$\text{Deposisi PK (\%)} = \frac{\text{konsumsi PK total} - (\text{PK feses} + \text{PK urin})}{\text{konsumsi PK total}} \times 100 \dots\dots\dots(10)$$

$$\text{Konsumsi PK terdeposisi (g/hari)} = \text{Konsumsi PK total} \times \text{Deposisi PK (Parakkasi, 1999)} \dots\dots\dots(11)$$

$$\text{PBBH (g/hari)} = \frac{\text{Bobot badan akhir (kg)} - \text{Bobot badan awal (kg)}}{\text{Lama pemeliharaan (hari)}} \dots\dots\dots(12)$$

(Tillman *et al.*, 1998).....

$$\text{Konversi PK terkonsumsi} = \frac{\sum \text{konsumsi protein terkonsumsi (g/hari)}}{\text{PBBH (g/hari)}} \dots\dots\dots(13)$$

$$\text{Konversi PK tercerna} = \frac{\sum \text{konsumsi protein tercerna (g/hari)}}{\text{PBBH (g/hari)}} \dots\dots\dots(14)$$

$$\text{Konversi PK terdeposisi} = \frac{\sum \text{konsumsi protein terdeposisi (g/hari)}}{\text{PBBH (g/hari)}} \dots\dots\dots(15)$$

Kadar urea darah diukur dengan metode Barthelot. Pengukuran dimulai dengan membuat larutan RIA yang merupakan campuran antara R1 dan R2. larutan RIA kemudian diencerkan dengan aquabides dengan perbandingan 1:1. Setelah itu siapkan 3 tabung reaksi untuk larutan standar, tabung I untuk standar 0 diisi dengan 10 µl aquades, tabung II untuk standar 25 diisi dengan 10 µl (reagen urea + aquades dengan perbandingan 1:1), tabung III untuk standar 50 diisi reagen urea 10 µl. Tabung-tabung tersebut ditambah reagen RIA encer sebanyak 1.000 µl, dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C, kemudian ditambah 100 µl R3 (reagen phenol + hipoklorit) kemudian diinkubasi lagi selama 5 menit pada suhu 37° C. Pengukuran kadar urea darah prinsipnya sama seperti cara di atas hanya ditambah dengan sampel plasma sebanyak 10 µl. Absorban (A) tabung-tabung

tersebut diukur dengan menggunakan sinar Hg dengan panjang gelombang 546 nm pada spektrofotometer.

$$\text{Kadar urea darah (Barthelot)} = 100 \text{ mg/dl} \times (\Delta A \text{ sample} : \Delta A \text{ standar}) \dots\dots\dots (16)$$

Perhitungan produksi N mikroba dan besarnya pasokan N mikroba pada ruminansia kecil mengikuti rumus estimasi Chen dan Gomes (1992), sebagai berikut:

$$Y = 0,84X + (0,150 \text{ BW}^{0,75} e^{-0,25X}) \dots\dots\dots (17)$$

$$\text{Produksi N Mikroba (g N/hari)} = \frac{X \times 70}{0,116 \times 0,83 \times 1000} = 0,727 X \dots\dots\dots (18)$$

$$\text{Efisiensi produksi N mikroba (g N/kg KBOT)} = \frac{\text{produksi N mikroba}}{\text{KBOT}} \dots\dots\dots (19)$$

Keterangan :

X (mmol/hari) : Jumlah purin mikroba yang telah diserap

Y (mmol/hari) : Jumlah derivat purin mikroba yang dikeluarkan lewat urin

BW^{0,75} : Bobot badan metabolis

e : 2, 71828

0,83 : Koefisien pencernaan untuk purin mikroba,

70 : Jumlah N dalam purin (mg/mmol), dan

0,116 : Rasio antara N purin dan total N dalam campuran mikroba,

KBOT : Konsumsi Bahan Organik tercerna

Komposisi tubuh diduga dengan metode *Urea Space* mengikuti petunjuk perhitungan dari Astuti dan Sastradipraja (1999), yaitu :

$$\text{US} = \{V \text{ (ml)} \times C \text{ (mg/dl)}\} / \{\Delta \text{ BUN (mg/100ml)} \times 10 \times \text{LW}\}$$

$$\text{Air Tubuh (\%)} = 59,1 + 0,22 \times \text{US (\%)} - 0,04 \text{ LW}$$

$$\text{Air Tubuh (kg)} = \{\text{Air Tubuh (\%)} \times \text{BKs (kg)}\} / 100\%$$

$$\text{Protein Tubuh (kg)} = 0,265 \times \text{Air Tubuh (kg)} - 0,47$$

$$\text{Protein Tubuh (\%)} = 100 \times (\text{Protein Tubuh (kg)} / \text{Bks})$$

$$\text{Lemak Tubuh (\%)} = 98,0 - 1,32 \times \text{Air Tubuh (\%)}$$

$$\text{Lemak Tubuh (kg)} = \{\text{Lemak Tubuh (\%)} \times \text{BKs (kg)}\} / 100\%$$

Keterangan:

V = volume larutan urea yang disuntikkan

C = konsentrasi larutan urea

ΔBUN = *Blood Urea - N* (perubahan konsentrasi urea darah menit ke 0 dan 12)

US = *urea space*

LW = *Live Weight* (bobot hidup)

BKs = bobot badan kosong

3.3. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi dengan taraf signifikansi 5% dan 1%. Model matematis analisis ragam pola tersarang dua tahap (*Two-Stage Nested Design*) menurut Sastrosupadi (2000) adalah:

$$Y(ijk) = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Respon dari faktor umur (α) ke-i dan faktor level pemberian pakan (β) ke-j yang bersarang pada faktor umur dan ulangan ke-k.

M = Nilai tengah umum

α_i = Pengaruh faktor umur ke-i ($i = 1, 2$)

$\beta_{j(i)}$ = Pengaruh level pakan ke-j yang bersarang pada umur ke-i ($j=1, 2$)

ϵ_{ijk} = Galat percobaan oleh umur (α) ke-i, level pakan (β) ke-j yang bersarang pada umur, dan ulangan ke- k

i = Banyaknya faktor umur

j = Banyaknya faktor level pemberian pakan

k = Banyaknya ulangan