

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian pengaruh suplementasi baking soda dalam pakan sapi perah laktasi pada kadar trigliserida, kolesterol, HDL dan LDL darah dilaksanakan pada tanggal 14 September - 09 November 2016 di Kelompok Tani Ternak (KTT) Susu Makmur, Dusun Banyudono, Desa Gedong, Kecamatan Banyubiru, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Analisis Trigliserida, Kolesterol, HDL dan LDL darah dilaksanakan di Rumah Sakit Hewan (RSH) Prof. Soeparwi, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta.

#### **3.2. Materi Penelitian**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 12 ekor sapi perah Peranakan *Friesian Holstein* (FH) laktasi pada bulan laktasi ke-5 dan ke-6 dengan periode laktasi I. Bobot badan rata-rata  $389,17 \pm 27$  kg (CV 6,94%), dengan produksi susu rata-rata  $13,76 \pm 1,46$  kg/hari (CV 10,61 %). Data ternak dapat dilihat pada Lampiran 1.

##### **3.2.1. Bahan**

Pakan yang digunakan terdiri atas hijauan yaitu rumput gajah (*Pennisetum purpureum*), konsentrat dan pellet (PT. Cargill Indonesia) serta suplemen Baking Soda ( $\text{NaHCO}_3$ ). Reagen yang digunakan untuk analisis trigliserida yaitu *Stanbio*

*Trygliceride Liquicolor* (Magnesium Salt 5,0 mM, 4-Aminoantipyrine 0,7 mM, m-hidroxybenzoic acid 5,0 mM, glycerylphosphate oxidase >7000 U/l, sodium azide 0,01 %, lipase >200.000 U/l, glycerol kinase >1000 U/l, peroxidase >2000 U/l, buffer 50 mM, activator dan stabilizer) dan larutan trigliserida standar (200 mg/dl), Reagen yang digunakan untuk analisis kolesterol darah yaitu *Stanbio Cholesterol Liquicolor* (4-aminophenazone 0,25 mmol/l, phenol mmol/l, peroxidase >5,0 U/ml, kolesterol esterase >0,15 U/ml, kolesterol oxidase >0,1 U/ml, buffer dan stabilizer) dan larutan kolesterol standar (200 mg/dl). Reagen yang digunakan untuk analisis HDL darah yaitu *Stanbio HDL Liquicolor* (magnesium sulfate 1185 mmol/l, dextran sulfate 1,1 % dan stabilizer) dan larutan HDL standar (50 mg/dl).

### **3.2.2. Alat**

Alat yang digunakan adalah volumetri kapasitas 2 liter dengan ketelitian 100 ml untuk mengukur produksi susu, *lactodensimeter* untuk mengukur BJ susu, *lactoscan* untuk mengetahui kadar lemak susu, pita ukur untuk mengukur lingkardada sapi guna mengestimasi bobot badan sapi, timbangan digital kapasitas 150 kg dengan ketelitian 100 gram untuk menimbang hijauan pakan, timbangan digital kapasitas 6 kg dengan ketelitian 1 gram untuk menimbang baking soda, konsentrat dan pellet, spuit 10 ml untuk mengambil sampel darah, tabung non EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acid*) sebagai wadah sampel darah, *ice box* sebagai tempat penyimpanan sampel darah sementara selama perjalanan ke laboratorium tempat analisis. Alat yang digunakan dalam analisis darah adalah Ceretium NB-

201 Semi-Auto Chemistry Analyzer, mikropipet (0,1-1 ml) untuk mengambil reagen dan mikropipet (0,01-0,1 ml) untuk mengambil sampel darah serta mikrotip untuk tempat reagen dan sampel.

### **3.3. Metode Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) berdasarkan petunjuk Gomez dan Gomez (1983). Perlakuan yang diujikan sebanyak tiga macam perlakuan dengan 4 kali ulangan. Perlakuan yang diujikan yaitu :

T0 = Tanpa suplementasi baking soda

T1 = Suplementasi baking soda 0,8 % BK

T2 = Suplementasi baking soda 1,0 % BK

Penelitian dilakukan melalui lima tahap, yaitu tahap persiapan penelitian, tahap adaptasi pakan, tahap perlakuan dan pengambilan data. Dokumentasi selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 8.

#### **3.3.1. Tahap persiapan**

Tahap persiapan dilakukan selama 30 hari, meliputi persiapan ternak, persiapan ransum serta persiapan suplemen baking soda. Persiapan ternak dilakukan dengan cara memilih ternak dengan periode dan bulan laktasi yang seragam sesuai dengan materi kemudian dilakukan pengacakan ternak, mengukur produksi susu, BJ susu serta kadar lemak susu, melakukan pendugaan bobot badan dengan cara mengukur lingkar dada ternak kemudian dihitung

menggunakan rumus school (Rianto dan Purbowati, 2009) sebagaimana tertera pada rumus 1. Data yang telah didapat dari hasil pengukuran tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kebutuhan nutrisi ternak.

$$BB = \frac{(LD + 22)^2}{100} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

BB = Bobot badan (kg)

LD = Lingkar dada (cm)

Tabel 1. Hasil Analisis Proksimat dan Komposisi Ransum

Bahan Pakan	Komposisi	BK <sup>1</sup>	PK <sup>1</sup>	LK <sup>1</sup>	SK <sup>1</sup>	BETN <sup>1</sup>	TDN <sup>2</sup>
	-----% BK-----						
Analisis Proksimat							
Rumput Gajah		25,39	9,13	2,86	23,33	44,99	50,12
Konsentrat		83,68	12,21	4,14	17,12	46,94	56,63
Pellet		86,44	15,84	4,22	16,06	50,30	64,12
Komposisi Ransum							
Rumput Gajah	58	14,73	5,30	1,66	13,53	26,09	29,07
Konsentrat	25	20,92	3,05	1,04	4,28	11,74	14,16
Pellet	17	14,69	2,69	0,72	2,73	8,55	10,90
Total	100	50,34	11,04	3,41	20,54	46,38	54,13

<sup>1</sup>) Hasil Analisis Laboratorium

<sup>2</sup>) Dihitung dengan rumus Hartadi *et al.* (1990)

Persiapan ransum dilakukan dengan cara menganalisis bahan pakan yang digunakan dengan metode analisis proksimat, kemudian menyusun ransum pakan sesuai perlakuan berdasarkan kebutuhan nutrisi sesuai tampilan produksi ternak (bobot badan, produksi susu, BJ susu dan kadar lemak susu), hasil analisis proksimat dan komposisi ransum tertera pada Tabel 1. Persiapan bahan suplemen (baking soda) dilakukan dengan cara menghitung pemberian baking soda sesuai dengan perlakuan.

### **3.3.2. Tahap adaptasi**

Tahap adaptasi dilakukan dengan cara memberikan suplemen baking soda yang dicampur dalam konsentrat sesuai perlakuan selama 7 hari hingga konsumsi pakan stabil. Pemberian pakan dilakukan setiap pagi dan sore setelah pemerahan sesuai dengan ransum yang telah disusun. Sisa pakan ditimbang kemudian menghitung konsumsi pakan sebagai evaluasi kecukupan nutrisi tiap individu ternak.

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

Tahap perlakuan dilakukan selama 21 hari, dengan cara memberikan suplemen baking soda yang telah dicampur dalam konsentrat yang telah diadaptasi sebelumnya. Pengambilan data meliputi pengambilan sampel darah, dengan parameter kadar trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL darah.

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-21 penelitian, 3 jam setelah diberi pakan pada pagi hari (Sharma dan Erdman, 1991) dengan menggunakan spuit 10 cc, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung EDTA. Sampel darah disimpan dalam *ice box* dan langsung dibawa ke RSH dr. Soeparwi UGM untuk di analisis. Hasil analisis darah tertera pada Lampiran 7. Prosedur analisis kadar trigliserida, kolesterol LDL dan HDL darah dijelaskan pada uraian selanjutnya.

**3.3.3.1. Analisis kadar trigliserida darah,** dilakukan dengan cara membuat tiga larutan uji, yaitu larutan blanko di dalam tabung appendoff, larutan standar dan

larutan sampel. Larutan blanko berisi reagen trigliserida sebanyak 1000  $\mu\text{L}$ . Larutan standar berisi reagen trigliserida sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  ditambah larutan standar trigliserida sebanyak 10  $\mu\text{L}$ . Larutan sampel berisi reagen trigliserida sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  dan sampel serum darah 10  $\mu\text{L}$ . Ketiga larutan tersebut kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Tahap selanjutnya adalah melakukan kalibrasi alat Ceretium NB-201 Semi-Auto Chemistry Analyzer dengan cara memasukkan larutan standar kedalam alat dan membaca hasilnya, apabila hasil yang tertera berada pada kisaran standar maka dapat dilanjutkan untuk pemeriksaan sampel. Pemeriksaan sampel dilakukan dengan cara memasukkan larutan sampel ke dalam alat satu per satu dan membaca hasilnya.

**3.3.3.2. Analisis kadar total kolesterol darah**, dilakukan dengan cara membuat tiga larutan uji, yaitu larutan blanko di dalam tabung appendoff, larutan standar dan larutan sampel. Larutan blanko berisi reagen kolesterol sebanyak 1000  $\mu\text{L}$ . Larutan standar berisi reagen kolesterol sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  ditambah larutan standar kolesterol sebanyak 10  $\mu\text{L}$ . Larutan sampel berisi reagen kolesterol sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  dan sampel serum darah 10  $\mu\text{L}$ . Ketiga larutan tersebut kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Tahap selanjutnya adalah melakukan kalibrasi alat Ceretium NB-201 Semi-Auto Chemistry Analyzer dengan cara memasukkan larutan standar kedalam alat dan membaca hasilnya, apabila hasil yang tertera berada pada kisaran standar maka dapat dilanjutkan untuk pemeriksaan sampel. Pemeriksaan sampel dilakukan dengan cara memasukkan larutan sampel ke dalam alat satu per satu dan membaca hasilnya.

**3.3.3.3. Analisis kadar HDL darah**, dilakukan dengan mengambil serum darah sebanyak 500  $\mu\text{L}$  dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian menambahkan reagen precipitation HDL sebanyak 1000  $\mu\text{L}$ . Larutan disentrifuge (4000 rpm) selama 10 menit. Supernatan HDL diambil kemudian dilanjutkan dengan uji kolesterol. Uji kolesterol dilakukan dengan metode yang sama seperti pada analisis kolesterol total, tetapi sampel yang digunakan adalah supernatan HDL.

**3.3.3.4. Analisis kadar LDL darah**, ditentukan secara tidak langsung dengan menggunakan rumus 4. dengan diketahui kadar total kolesterol, trigliserida, dan HDL darah. Perhitungan rumus kadar LDL darah sebagai berikut:

$$\text{LDL Kolesterol} = \text{Total Kolesterol} - \left( \text{HDL} + \frac{\text{Trigliserida}}{5} \right) \dots\dots(2)$$

#### 3.4. Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji F berdasarkan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sesuai dengan petunjuk Gomez dan Gomez (1983). Model linier aditif menurut Gomez dan Gomez (1983) adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = Kadar HDL, LDL dan kolesterol darah yang memperoleh perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan ke-i pada ulangan ke-j

$\mu$  = Nilai rata-rata umum

$\tau_i$  = Pengaruh aditif dari perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = Pengaruh galat akibat perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan ke-i pada ulangan ke-j

### 3.4.1. Hipotesis statistik,

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

$H_0$  :  $\tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = 0$  ; tidak ada pengaruh suplementasi baking soda dalam pakan terhadap kadar HDL, LDL dan kolesterol darah

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$  ; minimal ada satu perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan yang mempengaruhi kadar HDL, LDL dan kolesterol darah.

### 3.4.2. Kriteria pengujian

$H_0$  diterima apabila nilai F lebih kecil dari F tabel ( $F_{hitung} < F_{tabel}$ ) dengan taraf 5%.

$H_1$  diterima apabila nilai F sama atau lebih besar dari F tabel ( $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ ) dengan taraf 5%.