

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 14 September - 9 November 2016 di Kelompok Tani Ternak Susu Makmur Dusun Banyudono Desa Gedong Kecamatan Banyubiru, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Analisis *Serum Glutamat Piruvat Transminase* (SGPT) dan *Serum Glutamat Oksaloasetat Transminasi* (SGOT) dilaksanakan di Laboratorium Rumah Sakit Hewan Prof Soeparwi UGM.

3.2. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 12 ekor sapi perah Friesian Holstein laktasi yang memiliki bobot badan rata-rata 389,17 kg dengan CV 6,94% dan produksi susu rata-rata 13,76 liter/hari dengan CV 10,61% pada periode I bulan laktasi 5 - 6. Pakan yang digunakan terdiri atas rumput gajah, konsentrat dan pellet komersil serta suplementasi baking soda (NaHCO_3). Alat yang digunakan adalah gelas ukur untuk mengukur produksi susu, *lactoscan* untuk mengetahui kadar protein dan BJ susu, pita ukur untuk mengukur lingkaran dada sapi, timbangan gantung untuk menimbang pakan, timbangan analitis untuk menimbang baking soda, spuit 10 ml untuk mengambil darah, alkohol 75% yang digunakan untuk sterilisasi jarum spuit dan luka, tabung *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) untuk tempat sampel darah, *coolbox*

untuk tempat sampel saat dibawa ke laboratorium, es batu untuk mendinginkan sampel di dalam *coolbox*, *sentrifuge* untuk memisahkan serum dengan padatan pada darah, *Caretium NB-201 Semi-Auto Chemistry Analyzer* alat untuk menguji SGPT dan SGOT, mikropipet untuk mengambil reagen maupun sample dan tabung *appendoff* digunakan sebagai tempat sampel saat dilakukan pengujian.

3.3. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) sesuai petunjuk Mas (2009). Perlakuan yang diujikan yaitu:

T0 = Tanpa suplementasi baking soda

T1 = Suplementasi baking soda 0,8 % BK

T2 = Suplementasi baking soda 1,0 % BK

Pelaksanaan penelitian ini melalui empat tahap, yaitu tahap persiapan, tahap adaptasi, tahap perlakuan dan pengambilan data serta tahap analisis data.

3.3.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan dilakukan selama 30 hari. Serangkaian persiapan yang dilakukan meliputi persiapan ternak, persiapan ransum serta persiapan suplemen baking soda. Persiapan ternak dilakukan dengan cara memilih ternak dengan kriteria yang telah ditentukan kemudian melakukan pengacakan sesuai perlakuan dengan menggunakan metode pengundian. Kemudian melakukan pendugaan bobot badan dengan cara mengukur lingkaran dada ternak kemudian dihitung

menggunakan rumus schrool sebagaimana tertera pada Rumus 1. Rumus pendugaan bobot badan ternak menggunakan lingkaran dada antara lain Schrool, Winter, dan Denmark. Menurut Badriyah (2014) penentuan bobot badan ternak menggunakan rumus schrool memiliki akurasi yang paling baik dibandingkan rumus Winter dan Denmark. Bobot badan tiap individu ternak disajikan pada Lampiran 1. Setelah itu mengukur produksi susu pagi dan sore, berat jenis (BJ) susu serta kadar lemak susu. Produksi, BJ dan kadar lemak susu disajikan pada Lampiran 4. Data yang didapat dari pengukuran tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kebutuhan nutrisi tiap ternak perlakuan (Lampiran 5).

Bobot Badan (kg)	=	$\frac{(LD \text{ (cm)} + 22)^2}{100}$ (1)

Tabel 1. Analisis Proksimat Bahan Pakan

Bahan Pakan	BK*	Abu*	PK*	LK*	SK*	BETN**	TDN***
	----- % -----						
Rumput Gajah	25,3	19,7	9,13	2,86	23,3	44,9	50,1
Konsentrat							
<i>Mash</i>	83,7	19,6	12,2	4,14	17,1	46,9	56,6
<i>Pellet</i>	86,4	13,6	15,8	4,22	16,1	50,3	64,1

Keterangan :

*) Hasil Analisis Laboratorium

**) BETN dihitung dengan rumus:

$$\text{BETN (\%)} = 100 - (\text{Abu} + \text{PK} + \text{LK} + \text{SK})$$

***) Menurut Rumus Hartadi *dkk.* (1986) yaitu:

$$\begin{aligned} \text{TDN (\%)} = & 92.464 - 3.338 (\text{SK}) - 6.945 (\text{LK}) - 0.762 (\text{BETN}) + 1.115 (\text{PK}) + 0.031 \\ & (\text{SK}^2) - 0.133 (\text{LK}^2) + 0.036 (\text{SK}) (\text{BETN}) + 0.207 (\text{LK}) (\text{BETN}) + 0.100 \\ & (\text{LK}) (\text{PK}) - 0.022 (\text{LK}^2) (\text{PK}) \dots\dots\dots (2) \end{aligned}$$

Tabel 2. Komposisi Pakan

Bahan Pakan	Komposisi	BK	PK	LK	SK	BETN	TDN
	---- %BK ---	-----Gram -----					
Rumput Gajah	58	14,7	5,3	1,7	13,5	26,1	30,7
Konsentrat							
<i>Mash</i>	25	20,9	3,0	1,0	4,3	11,7	16,2
<i>Pellet</i>	17	14,69	2,7	0,7	2,7	8,6	13,9
Total	100	50,3	11,0	3,4	20,5	46,4	60,8

Persiapan pakan dilakukan dengan cara menganalisis bahan pakan yang digunakan dengan metode analisis proksimat, hasil analisis proksimat tertera pada Tabel 1. Langkah selanjutnya yaitu menyusun pakan sesuai dengan kebutuhan nutrisi berdasarkan tampilan produksi ternak (bobot badan, produksi susu, BJ susu dan kadar lemak susu).

3.3.2. Tahap adaptasi

Tahap adaptasi dilakukan dengan cara memberikan suplemen baking soda yang dicampur dalam konsentrat sesuai perlakuan selama 7 hari. Contoh perhitungan suplementasi baking soda dihitung berdasarkan kebutuhan bahan kering tiap ternak, selengkapnya disajikan pada Lampiran 5. Kegiatan yang dilakukan antara lain adalah pemberian dan mencatat konsumsi pakan, mengukur bobot badan, menghitung produksi, BJ dan lemak susu. Sisa pakan ditimbang kemudian menghitung konsumsi pakan sebagai evaluasi kecukupan nutrisi berdasarkan produksi susu yang dihasilkan.

3.3.3 Tahap pengambilan data

Penelitian ini menggunakan parameter berupa sampel darah. Selama 21 hari ternak diberikan pakan dengan suplementasi baking soda yang telah dicampur dalam konsentrat dan telah diadaptasikan sebelumnya sesuai perlakuan. Kegiatan yang dilakukan antara lain menghitung konsumsi pakan dan pengambilan sampel darah untuk analisis konsentrasi SGPT dan SGOT. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke 21, diambil 3 jam sesudah pemberian pakan pagi hari melalui *vena jugularis*. Darah yang diambil setiap ternak sebanyak 10 ml dengan menggunakan spuit. Pengambilan dilakukan 3 jam setelah makan dikarenakan pakan yang dikonsumsi sudah mengalami proses metabolisme di dalam tubuh ternak, sehingga pengaruh dari pemberian baking soda akan terlihat. Jumlah darah yang diambil yaitu 6 ml/ekor, kemudian sampel darah dimasukkan ke dalam tabung *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) dan disimpan ke dalam *cool box*. Sampel darah selanjutnya dianalisis di Laboratorium Rumah Sakit Hewan Prof Soeparwi UGM.

Prosedur pengujian SGPT diawali memisahkan serum dengan padatan menggunakan *sentrifuge* yang memiliki kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Membuat reagen *buffer* (R1) yang terdiri dari *L-Aspartate* 500 mmol/L, *lactate dehydrogenase* (LDH) 1200 U/L dan *tris buffer* pH 7,5 100 mmol/L. Membuat reagen enzim (R2) yang terdiri dari *2-Oxoglutarate* 15 mmol/L dan *disodium salt* 0,18 mmol/L. Mencampur reagen R1 dan R2 dengan menggunakan komposisi perbandingan 5:1. Menghidupkan alat *Caretium NB-201 Semi-Auto Chemistry*

Analyzer, pada home pilih menu *measure* dan pilih tes ALT. Sebelum memulai pengujian melakukan kalibrasi tes menggunakan aquades. Campuran reagen sebanyak 1 mL di inkubasi dalam suhu 37°C selama 3 menit menggunakan tabung *appendoff*. Setelah itu menambahkan sampel darah sebanyak 100µL pada tabung *appendoff* dan melakukan homogenisasi. Mencelupkan *sample probe* yang ada dialat dengan sampel yang telah homogen. Menunggu alat membaca sampel darah yang dianalisis. Membersihkan alat dengan menekan tombol *Rinse*, kemudian memasukkan aquades ke dalam selang aspirasi. Mengulangi pembersihan sebanyak tiga kali. Menekan tombol *power* untuk mematikan alat.

Prosedur pengujian SGOT diawali memisahkan serum dengan padatan menggunakan *sentrifuge* yang memiliki kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Membuat reagen *buffer* (R1) yang terdiri dari *L-Aspartate* 240 mmol/L, *lactate dehydrogenase* (LDH) 600 U/L, *malate dehydrogenase* (MDH) 600 U/L dan *tris buffer* pH 7,5 80 mmol/L. Membuat reagen enzim (R2) yang terdiri dari 2-*Oxoglutarate* 12 mmol/L dan *disodium salt* 0,18 mmol/L. Mencampur reagen R1 dan R2 dengan menggunakan komposisi perbandingan 5:1. Menghidupkan alat *Caretium NB-201 Semi-Auto Chemistry Analyzer*, pada home pilih menu *measure* dan pilih tes AST. Sebelum memulai pengujian melakukan kalibrasi tes menggunakan aquades. Campuran reagen sebanyak 1 mL di inkubasi dalam suhu 37°C selama 3 menit menggunakan tabung *appendoff*. Setelah itu menambahkan sampel darah sebanyak 100µL pada tabung *appendoff* dan melakukan homogenisasi. Mencelupkan *sample probe* yang ada dialat dengan sampel yang telah homogen. Menunggu alat membaca sampel darah yang dianalisis.

Membersihkan alat dengan menekan tombol *Rinse*, kemudian memasukkan aquades ke dalam selang aspirasi. Mengulangi pembersihan sebanyak tiga kali. Menekan tombol power untuk mematikan alat.

3.4. Analisis Data

Berdasarkan hasil pengamatan kondisi sampel darah, pada sampel darah perlakuan T₁U₄ dan T₂U₄ mengalami lisis dan tidak dapat dilakukan analisis konsentrasi SGPT dan SGOT. Agar dapat dilakukan perhitungan *anova*, maka data perlakuan yang hilang tersebut (T₁U₄ dan T₂U₄) terlebih dahulu dilakukan perhitungan pendugaan data hilang. Perhitungan pendugaan data hilang menggunakan rumus sesuai petunjuk Mas (2009). Hasil pendugaan data hilang SGPT disajikan pada Lampiran 6 dan SGOT disajikan pada Lampiran 8. Selanjutnya data yang telah diperoleh ditransformasikan menggunakan kaedah logaritma. Transformasi data dilakukan untuk menyeragamkan data (menurunkan nilai keragaman) agar dapat dilakukan analisis statistik lanjutan untuk memberikan kesimpulan yang benar terhadap hipotesis penelitian. Data hasil transformasi dianalisis menggunakan *analysis of varians (anova)* sesuai petunjuk Trijono (2015). Model linier yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

Y_{ij} = Konsentrasi SGPT atau SGOT darah sapi perah laktasi yang memperoleh perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan ke-i pada ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata umum

τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat yang memperoleh perlakuan suplementasi baking soda dalam pakan ke-i pada ulangan ke-j

I = Perlakuan (T_0, T_1, T_2)

J = Ulangan (U1, U2, U3, U4)

Hipotesis

$H_0 : \tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = 0$; tidak terdapat perbedaan konsentrasi SGPT atau SGOT darah sapi perah laktasi akibat perbedaan jumlah suplementasi baking soda dalam pakan

$H_1 : \tau_i \neq 0$; minimal ada satu perlakuan yang tidak sama pengaruhnya terhadap konsentrasi SGPT atau SGOT darah sapi perah laktasi akibat perbedaan jumlah suplementasi baking soda dalam pakan

Kriteria Pengujian

- a. Bila F hitung $>$ F tabel ($p < 0,05$), maka H_1 diterima, tolak H_0 yaitu pengaruh perlakuan dikatakan nyata pada taraf kesalahan 5%.
- b. Bila F hitung $<$ F tabel ($p > 0,05$), maka H_0 diterima, tolak H_1 yaitu pengaruh perlakuan dikatakan tidak nyata pada taraf kesalahan 5%.