

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Penambahan Tepung Limbah Kecambah Kacang Hijau terhadap Populasi Bakteri Asam Laktat dan pH Digesta Usus Halus pada Itik Magelang Jantan ” dilaksanakan pada bulan 29 Maret 2016 – 30 April 2016 di Kandang Digesti Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Sampel yang diamati berupa digesta dan dianalisis di laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman, Universitas Diponegoro.

3.1. Materi

Materi yang digunakan yaitu 120 ekor Itik Magelang Jantan Umur 6 minggu dengan bobot badan $930 \pm 139,29$ g ransum EM dan PK yang terdiri dari bahan pakan jagung kuning, dedak halus, bungkil kedelai, tepung ikan, mineral mix dan tepung limbah kecambah kacang hijau. Pembuatan tepung limbah kecambah seperti tertera pada Lampiran 9. Komposisi dan kandungan nutrisi ransum penelitian tertera pada Tabel 3, berdasarkan hasil analisis setiap bahan penyusun (Lampiran 1). Selain itu, materi yang digunakan adalah media pertumbuhan bakteri asam laktat (MRS agar), aquades, alkohol 70%, Fe_2O_3 dan larutan *buffer*.

Perlengkapan dan peralatan yang digunakan meliputi kandang flock dengan 20 petak, kandang *battery*, tempat pakan dan air minum, nampan untuk menampung ekskreta, timbangan digital, mikropipet, oven, autoklaf, 20 cawan

petri, pipet hisap, erlenmeyer, stirrer, tabung ukur, timbangan alatitik, Bunsen, pipet volumetrik.

Tabel 3. Komposisi dan Kandungan Nutrien Ransum Penelitian

Bahan Pakan	Ransum Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
	-----%-----			
Jagung	40	40	41	40
Dedak	27	22	15	12
Bungkil Kedelai	22	22	23	22
Tepung Ikan	10	10	10	10
Top Mix	1	1	1	1
Limbah Kecambah	0	5	10	15
Total	100	100	100	100
Kandungan Nutrien	-----%-----			
Energi Metabolis (kkal/kg)	2916,21	2915,99	2915,28	2915,55
Serat Kasar	7,54	8,30	8,66	9,82
Lemak Kasar	4,98	4,36	3,52	3,16
Protein Kasar	19,24	19,33	19,83	19,52
Ca	0,89	0,90	0,921	0,94
P	0,41	0,40	0,38	0,37

Keterangan: Dihitung berdasarkan kandungan nutrien bahan pakan pada Lampiran 1.

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan Percobaan dan Perlakuan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan dan 5 kelompok berdasarkan bobot badan sebagai berikut kelompok 1 bobot badan 601-700 g, kelompok 2 bobot badan 701-800 g, kelompok 3 bobot badan 801-900 g, kelompok 4 bobot badan 901-1000 g dan

kelompok 5 bobot badan 1001-1100 g, setiap kelompok terdiri dari 6 ekor itik.

Perlakuan yang diberikan adalah:

T0 = ransum tanpa tepung limbah kecambah kacang hijau

T1 = ransum 5% tepung limbah kecambah kacang hijau

T2 = ransum 10% tepung limbah kecambah kacang hijau

T3 = ransum 15% tepung limbah kecambah kacang hijau

3.2.2. Tahap persiapan

Penelitian diawali dengan persiapan kandang meliputi kegiatan pembersihan dan desinfeksi kandang dengan menggunakan bantuan bahan kimia berupa *formaldehid* dan *kalium permanganat* (KMnO_4). Persiapan pakan limbah kecambah kacang hijau dilakukan dengan cara pengeringan dengan bantuan sinar matahari, penggilingan dan pemberian limbah kecambah kacang hijau dalam ransum.

3.2.3. Tahap Pelaksanaan

Tahap pelaksanaan berikutnya adalah menimbang bobot badan itik pada saat itik datang, untuk mengetahui bobot awal pemeliharaan, memberikan ransum itik dengan komposisi berbeda setiap minggu untuk adaptasi itik terhadap ransum yang diberikan. Ransum perlakuan mulai diberikan pada umur 6 minggu sampai umur 10 minggu. Sampel untuk pengukuran parameter diambil dari 2 ekor itik setiap kelompok secara acak dan dipindah ke kandang *battery* (individu) untuk

total koleksi selanjutnya dipotong untuk mengukur bakteri asam laktat, laju digesta dan pH digesta usus halus.

3.2.4. Parameter Penelitian

Parameter penelitian meliputi populasi BAL, laju digesta dan pH digesta usus halus. Pengambilan data ini dilakukan pada bulan Mei 2016. Populasi BAL diukur dengan perhitungan cawan menurut metode Ferdiaz (1993). Laju digesta diukur dengan cara menghitung waktu pemberian ransum sampai keluarnya ekskreta berwarna merah.

Bakteri asam laktat dihitung berdasarkan metode cawan dari Ferdiaz (1993). Sebanyak 1 ml sampel digesta dimasukkan ke tabung berisi aquades 9 ml yang sudah disterilisasi kemudian diaduk, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, dari pengenceran pertama diambil 1 ml untuk dimasukan ke tabung ke dua sebagai pengenceran 10^{-2} sampai dengan pengenceran 10^{-6} . Hasil pengenceran 10^{-6} diambil 0,01 ml sampel digesta ke media agar pada cawan pertama dan 0,01 ml sampel digesta diambil lagi dari pengenderan 10^{-6} ke media agar pada cawan kedua. Cawan dibungkus dengan kertas kemudian ditutup rapat dan diikat. Cawan selanjutnya dibalik dengan tujuan membuat kondisi anaerob dan diinkubasi dalam oven selama 24 jam pada suhu $36-37^{\circ}\text{C}$.

Perhitungan total koloni bakteri asam laktat menurut Saputri dkk. (2012) adalah sebagai berikut

$$\text{CFU/g} = \text{jumlah kolon} \times \frac{1}{10^{-6}} + \frac{1}{\text{Berat sampel}}$$

Parameter laju digesta diukur dengan bantuan indikator Fe_2O_3 (*ferri oksida*). *Ferri oksida* sebanyak 0,05 g dicampurkan dalam ransum sebagai penanda diberikan pada hari pertama dan berselang-seling sampai hari ke-4. Maksudnya, hari pertama dengan indikator, hari kedua tidak, hari ke 3 dengan indikator dan hari ke 4 tidak. Laju digesta diukur dengan cara menghitung waktu pemberian ransum pertama sampai keluarnya eksreta pertama kali berwarna merah.

Potensial hidrogen digesta diukur dengan cara memasukan pH meter ke dalam digesta itik yang sudah dihomogenkan.

3.2.5. Analisis Statistik

Data dianalisis dengan uji F (anova) dengan taraf signifikansi 5%. Bila analisis menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$), dapat dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan.

Model linear yang digunakan menurut Steel dan Torrie (1995):

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} ; i = 1,2,3,4 ; j = 1, 2, 3, 4, 5$$

Keterangan:

- Y_{ij} = Nilai hasil pengamatan dari perlakuan penambahan tepung kulit kecambah kacang hijau yang berbeda ke-i pada kelompok ke-j
- μ = Nilai tengah umum
- τ_i = Pengaruh aditif perlakuan penambahan tepung kulit kecambah kacang hijau ke-i
- β_j = Pengaruh aditif kelompok ke-j
- ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada populasi BAL, pH digesta dan laju digesta usus halus itik Magelang jantan ke-j yang memperoleh perlakuan penambahan tepung kulit kecambah kacang hijau ke-i
- i = Perlakuan (1,2,3,4)
- j = Kelompok (1,2,3,4,

Hipotesis statistik pada penelitian adalah sebagai berikut:

$H_0 = \tau_i = 0$; tidak ada pengaruh perlakuan pemberian tepung limbah kecambah kacang hijau pada ransum terhadap populasi BAL, pH digesta dan laju digesta usus halus itik Magelang jantan

$H_1 =$ Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$; minimal ada satu pengaruh perlakuan pemberian tepung limbah kecambah kacang hijau terhadap populasi BAL, pH digesta dan laju digesta usus halus itik Magelang jantan