

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Konsentrasi *Volatile Fatty Acids* dan amonia Cairan Rumen serta Produksi Protein Mikroba Rumen pada Domba dengan Pemberian Pakan pada Siang dan Malam Hari” dilakukan di kandang Domba Laboratorium Produksi Ternak Potong Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang selama 2 bulan (November – Desember).

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 12 ekor domba ekor gemuk jantan yang berumur 12-18 bulan dengan bobot badan rata-rata $20,65 \pm 1,88$ kg (CV=9,11%). Pakan yang digunakan berupa *complete feed* yang disusun dari bekatul 45%, jerami gandum 28%, bungkil kedelai 13%, gaplek 11% dan molases 3% dengan kadar bahan kering (BK) 84,17%, protein kasar (PK) 16,64%, serat kasar (SK) 22,51%, lemak kasar (LK) 3,08%, bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 48,05% dan abu 9,71%. Pakan diberikan secara *ad libitum*.

Kandang yang digunakan pada penelitian adalah kandang individu dilengkapi dengan palung pakan, ember untuk tempat konsentrat dan tempat minum. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan digital untuk menimbang *complete feed* berkapasitas 5 kg dengan ketelitian 1 g, timbangan gantung berkapasitas 50 kg dengan ketelitian 0,1 kg untuk menimbang domba. Peralatan pendukung untuk mengambil sampel cairan rumen dan urin

domba antara lain pipa plastik, tabung erlenmeyer bertangkai, pH meter, asam sulfat (H_2SO_4), pompa, kain kasa, botol plastik, jerigen 2,5 liter, corong plastik, termos es, tas plastik kresek, kertas label, buku catatan, pot plastik 50 ml, solasi paralon. Bahan yang digunakan, aquades dan air.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), terdiri dari 3 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diterapkan berupa :

T1 : Pemberian pakan pada siang hari pukul 06.00 – 18.00

T2 : Pemberian pakan pada malam hari pukul 18.00 – 06.00

T3 : Pemberian pakan pada siang dan malam hari pukul 06.00- 06.00.

Parameter yang diukur meliputi 3 parameter utama, yaitu konsentrasi volatile fatty acids, amonia (NH_3) dan produksi protein mikroba cairan rumen, sedangkan untuk parameter pendukung meliputi konsumsi BK, pencernaan BK, BO, PK, karbohidrat dan PBBH.

3.2.2. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap, yaitu tahap persiapan (4 minggu), tahap adaptasi (6 minggu), tahap pendahuluan (3 minggu) dan tahap perlakuan (10 minggu). Kegiatan yang dilakukan pada tahap persiapan adalah persiapan

kandang, pembelian peralatan kandang, pengadaan ternak domba, penomoran kandang, serta pengujian kandungan zat pakan yang digunakan.

Tahap adaptasi meliputi penyesuaian ternak dengan kondisi lingkungan yang baru, dibiasakan dengan kandang, pakan dan metode pemeliharaan. Ternak dibiasakan diberikan pakan *complete feed* berupa pelet sesuai dengan pakan yang akan diberikan selama penelitian serta mengukur konsumsi BK (Bahan Kering) serta pemberian obat cacing untuk menghilangkan pengaruh cacing terhadap penampilan produksi. Pada dua minggu pertama ternak diberi pakan *complete feed* dan rumput gajah dengan perbandingan 60 : 40, dan secara berangsur-angsur penggunaan *complete feed* ditingkatkan sampai menjadi 100% pada hari terakhir.

Pada tahap pendahuluan dilakukan kegiatan pengacakan ternak terlebih dahulu sesuai dengan perlakuan, yaitu 4 ekor untuk perlakuan T1, 4 ekor untuk perlakuan T2 dan 4 ekor untuk perlakuan T3. Ternak pada perlakuan T1 diberikan pakan mulai pukul 06.00 sampai dengan pukul 18.00 dan kemudian sisanya ditimbang pada pukul 18.00, ternak pada perlakuan T2 diberi pakan pada pukul 18.00 sampai dengan pukul 06.00 dan kemudian sisanya ditimbang pada pukul 06.00 serta ternak pada perlakuan T3 diberi pakan pada pukul 06.00 sampai dengan pukul 06.00 dan kemudian sisanya ditimbang pada pukul 06.00 serta melakukan penimbangan ternak setiap minggu untuk mengetahui bobot badan ternak.

Tahap perlakuan merupakan tahap penerapan perlakuan terhadap domba percobaan. Pada tahap ini melanjutkan pemberian pakan sesuai dengan perlakuan yang sudah dimulai pada tahap pendahuluan sampai dengan 10 minggu. Pada

tahap ini juga dilakukan pengambilan data VFA, amonia dan produksi protein mikroba rumen dengan cara pengukuran terhadap sampel cairan rumen dan cairan urin domba.

Pengambilan sampel cairan rumen dilakukan pada minggu ke sepuluh akhir penelitian. Pengambilan sampel cairan rumen dilakukan selama 2 hari, hari pertama pada siang hari dan hari kedua pada malam hari. Pengambilan hari pertama dilakukan pada jam 06.00 dan jam 09.00 untuk semua domba, sedangkan pada pengambilan hari kedua dilakukan pada jam 18.00 dan 21.00 untuk semua domba. Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain pipa plastik digunakan untuk menyalurkan cairan rumen dari rumen ke erlenmeyer, tabung erlenmeyer bertangkai digunakan untuk menampung cairan rumen sementara, pH meter digunakan untuk mengukur tingkat keasaman cairan rumen, H_2SO_4 digunakan untuk menghentikan aktivitas sementara mikroba rumen, pompa vakum digunakan untuk menyedot cairan rumen, kain kasa digunakan untuk menyaring cairan rumen, botol plastik sebagai wadah cairan rumen.

Langkah pertama dalam pengambilan cairan rumen dilakukan dengan memasukkan pipa plastik ke dalam mulut domba hingga melewati saluran esophagus sampai menyentuh dasar lapisan dinding rumen. Langkah selanjutnya adalah menghubungkan pipa plastik dengan erlenmeyer bertangkai yang dihubungkan dengan pompa vakum dan selanjutnya pompa vakum dihidupkan untuk menyedot keluar cairan rumen keluar hingga masuk ke dalam erlenmeyer sebanyak ± 50 ml. Cairan rumen yang telah ditempatkan di tabung erlenmeyer kemudian disaring dengan menggunakan kain kasa dan diukur pH-nya dengan pH

meter dan ditambahkan H_2SO_4 hingga nilai pH = ± 3 kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik agar bisa disimpan ke dalam lemari pendingin selama 24 jam dan selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dianalisis. Data yang diamati kondisi cairan rumen meliputi konsentrasi VFA dan kadar NH_3 .

Pengambilan sampel urin dilakukan pada minggu ke sepuluh selama satu minggu penuh. Cara pengambilan urin dilakukan dengan menggunakan botol air mineral yang disambungkan dengan corong kemudian ditempatkan pada bagian bawah ke-12 kandang domba. Setiap harinya botol diambil untuk mengukur jumlah urin yang diperoleh dan melakukan penambahan larutan H_2SO_4 pada urin hingga pH sampel urin di bawah 3.

3.3. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter pendukung, parameter utama meliputi konsentrasi VFA, Amonia (NH_3) dan produksi protein mikroba, sedangkan parameter pendukung meliputi konsumsi Bahan Kering pakan (BK) dan pertambahan bobot badan harian (PBBH).

Konsumsi bahan kering diperoleh dengan cara menghitung selisih antara pemberian pakan dan pakan sisa kemudian dikalikan dengan BK pakan.

Konsumsi BK Pakan = (pemberian pakan - pakan sisa) x BK pakan

Perhitungan PBBH diperoleh dari selisih antara BB akhir (kg)- BB awal (kg) dibagi lama pemeliharaan (hari), atau bisa dinyatakan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{PBBH (kg/hr)} = \frac{\text{BB akhir (kg)} - \text{BB awal (kg)}}{\text{lama pemeliharaan (hari)}}$$

Pengukuran VFA dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi gas (Abdurachman dan Surayah Askar, 2000). Langkah pertama yang dilakukan yaitu mengambil sampel cairan rumen dengan menggunakan pipet sebanyak 4 ml kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan 30 mg asam sulfosalis. Langkah selanjutnya masukan tabung reaksi pada alat sentrifugasi untuk proses sentrifus kemudian putar dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit sampai adanya endapan. Kemudian saring cairan tersebut dengan kertas saring *millipore*. Kemudian siapkan alat gas kromatografi yang sebelumnya dilakukan pengaturan suhu terlebih dahulu hingga stabil. Apabila suhu sudah pada kondisi stabil dilanjutkan dengan *running* yaitu penginjeksian standar dan sampel cairan rumen sebanyak 0.4 µl. Secara otomatis grafik akan muncul pada monitor komputer, lengkap dengan perhitungan luas puncak baik dengan contoh maupun dengan standar. Kadar VFA total dapat diketahui dari jumlah VFA asetat, propionat, butirrat, iso valerat dan n-valerat.

$$\text{Perhitungan VFA (\% molar)} = \frac{\text{luas contoh (kurva)} \times \text{konsentrasi VFA standar}}{\text{area VFA standar}}$$

Analisis produksi NH₃ dilakukan dengan menggunakan teknik mikrodifusi conway (*General Laboratory Procedure*, 1966). Cawan Conway dan tutupnya diolesi bagian tepi dengan vaselin. Bagian tengah cawan dimasukkan 1 ml asam borat dan 1 tetes indikator campuran metil merah dan bromkreso hijau. Sisi kiri cawan dimasukkan 1 ml supernatan dan 1 ml larutan sodium karbonat (NaCO₃) jenuh dimasukkan pada sisi kanan. Cawan ditutup dan digoyang secara perlahan

agar larutan supernatan dan sodium karbonat tercampur secara homogen, kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam cawan dibuka dan kemudian dilakukan titrasi dengan menggunakan H_2SO_4 0,0055 N sampai terjadi perubahan warna ungu menjadi merah muda.

Perhitungan produksi amonia:

$$\text{NH}_3 = (\text{ml H}_2\text{SO}_4 \text{ titrasi} \times \text{N H}_2\text{SO}_4 \times 1000) \text{ mM}$$

Keterangan :

$$\text{NH}_3 = \text{Produksi NH}_3 \text{ yang diperoleh}$$

$$\text{N H}_2\text{SO}_4 = \text{Normalitas larutan H}_2\text{SO}_4$$

Perhitungan produksi protein mikroba

Perhitungan produksi protein mikroba rumen dilakukan dengan menghitung jumlah kandungan allantoin serta asam urat kemudian dibandingkan dengan menggunakan persamaan Chen dan Gomes, (1992):

$$Y = 0,84X + (0,150 W^{0,75} e^{-0,25X}).$$

Jumlah derivat purin mikroba yang diserap (X, mmol/hari) berkaitan dengan ekskresi derivat pada urin (Y, mmol/hari), W adalah bobot hidup (kg) dan ketetapan (e) = 2,71828. Persamaan tersebut akan menghasilkan nilai purin derivat yang diabsorpsi X (mmol/hr) sehingga perhitungan produksi nitrogen mikroba rumen (g/hari) dapat diketahui dengan mengkalikan 0,027. Produksi protein mikroba rumen dapat diketahui dengan produksi nitrogen mikroba dikalikan 6,25.

$$\text{Produksi Nitrogen Mikroba (g/hr)} = 0,027 \times X \left(\frac{\text{mol}}{\text{hari}} \right)$$

3.4. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis variansi. Analisis variansi (uji F) yaitu membandingkan F hitung dengan F tabel pada taraf 5% dan 1% dengan model matematis dari Rancangan Acak Lengkap sebagai berikut.

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

Keterangan:

Y_{ij} = Hasil pengamatan perlakuan pemberian pakan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum hasil pengamatan

α_i = Pengaruh perlakuan

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan akibat perlakuan ke-i ulangan ke-j

i = Perlakuan 1,2, dan 3

j = Ulangan (1, 2, 3, dan 4)

Kriteria pengujian :

H_0 diterima dan H_1 ditolak berarti; perlakuan pemberian pakan siang dan malam hari tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi VFA, NH_3 dan produksi protein mikroba rumen domba. H_0 diterima jika F hitung < F tabel pada taraf 5%.

H_1 diterima dan H_0 ditolak berarti; perlakuan pemberian pakan siang dan malam hari berpengaruh nyata terhadap konsentrasi VFA, NH_3 dan produksi protein mikroba rumen domba. H_1 diterima jika F hitung > F tabel pada taraf 5%

Data hasil penelitian diolah menggunakan ANOVA dengan menggunakan taraf signifikansi 5% dan apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel and Torrie, 1991).