

## BAB III

### MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Materi

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – September 2016 di Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul dan Hijauan Pakan Ternak (BBPTU HPT) Baturraden dan Laboratorium Teknologi Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro serta Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Ternak Universitas Jendral Soedirman Purwokerto.

Penelitian menggunakan 9 ekor pedet FH setelah selesai masa *colostrum*, umur 7-10 hari, data lengkap mengenai pedet dapat dilihat pada Lampiran 1. *Calf starter* bentuk *pellet* terbuat dari jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, molases, mialer mix dan dicampur dengan limbah kubis fermentasi. Bahan yang digunakan untuk uji *volatile fatty acid* (VFA) meliputi, cairan rumen (supernatan dari percobaan fermentatif), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% (15 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dilarutkan dalam aquades hingga volumenya 100 ml), NaOH 0.5 N (20 g NaOH dilarutkan dalam aquades hingga volume 1 liter) dan HCl 0.5 N (41.667 ml HCl pekat dilarutkan dalam aquades hingga volumenya 1 liter). Bahan yang digunakan untuk uji NH<sub>3</sub> meliputi, Cairan rumen (supernatan dari percobaan fermentatif), Asam borat berindikator MR (*methyle red*) dan BCG (*brom cresol green*), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh (larutkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dalam aquades 50 ml hingga tidak larut), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.01 N (0.27 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dilarutkan ditambah aquades hingga 1 liter) dan vaselin.

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan limbah kubis fermentasi yaitu, blender digunakan untuk menghaluskan kubis, pisau untuk memotong kubis, baskom, untuk menampung kubis setelah diblender, plastik digunakan untuk memeram kubis. Peralatan yang digunakan untuk membuat *pellet calf starter* meliputi, *grinder*, untuk menghaluskan pakan *pelleter*, digunakan untuk membentuk pakan menjadi *pellet*. kompor mengukus bahan pakan, termometer untuk mengukur suhu pengukusan, dandang tempat mengukus bahan pakan, nampan digunakan menjemur *pellet*, gelas ukur untuk mengukur air campuran pada bahan pakan, dan timbangan digunakan untuk menimbang bahan pakan. Peralatan yang digunakan dalam kegiatan pemeliharaan dan perlakuan meliputi, ember digunakan untuk memberikan susu dan pakan, pompa *vacum* digunakan untuk mengambil cairan rumen dan peralatan kandang lainnya. Peralatan laboratorium yang digunakan untuk uji VFA dan  $\text{NH}_3$  meliputi, pipet digunakan untuk mengambil dan memindahkan cairan, destilasi uap untuk memisahkan senyawa, labu erlenmeyer digunakan untuk menampung cairan dalam proses titrasi, buret makro (25-50 ml) digunakan untuk titrasi dan cawan conway digunakan untuk proses pengukuran  $\text{NH}_3$ .

## **3.2. Metode**

### **3.2.1. Tahap penelitian**

Kegiatan penelitian dilakukan dalam 7 tahap, yaitu persiapan, pembuatan limbah kubis fermentasi, pembuatan *pellet calf starter*, perlakuan, pengambilan data, analisis sampel, dan analisis data.

**3.2.1.1. Tahap persiapan,** tahap persiapan dilakukan kurang lebih 1 bulan yang meliputi pengadaan bahan pakan, peminjaman peralatan untuk pembuatan limbah kubis fermentasi dan pembuatan *pellet*, pengadaan peralatan untuk pemeliharaan pedet dan pemantauan kelahiran pedet di Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden.

**3.2.1.2. Pembuatan limbah kubis fermentasi,** Limbah kubis yang akan dibuat fermentasi dipotong-potong menjadi ukuran  $\pm 1$  cm. Kemudian diblender hingga tekstur berubah seperti bubur. Limbah kubis yang telah halus kemudian ditambahkan garam sebesar 6% dan gula 6,4% dari berat limbah kubis yang dibuat. Campuran limbah kubis, garam dan gula lalu dibungkus dengan menggunakan plastik hingga anaerob dandiperam selama 6 hari. Berdasarkan penelitian Sicha dkk (2015) limbah kubis yang ditambah garam sebesar 6% dan diperam selama 6 hari menghasilkan total bakteri tertinggi yaitu  $1,1 \times 10^8$  cfug. Hasil analisis proksimat limbah kubis fermentasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

**3.2.1.3. Pembuatan *pellet calf starter*,** Pembuatan *pellet* meliputi beberapa proses, yaitu menyiapkan bahan baku seperti jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, sebelum proses *mixing*, pakan *digrinding* terlebih dahulu, sehingga pencampuran lebih homogen. Molases dan mineral mix serta aquadest sebanyak 70% dari berat *calf starter* yang dibuat, komposisi nutrisi masing-masing bahan pakan dapat dilihat pada Lampiran 3. Selanjutnya adalah mencampur beberapa bahan baku pakan diatas dan ditambahkan air sebanyak 50% dari total air yang diberikan. Formulasi *calf starter* seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula *Calf starter*

Bahan Pakan	Kadar
	(%)
Jagung giling	43
Bekatul	25,5
Bungkil Kedelai	26
Molases	5
Mineral mix	0,5
Kandungan zat gizi	
-Protein Kasar	19,61
-TDN	79,10

Mukodiningsih dkk (2010)

Proses selanjutnya adalah *conditioning calf starter* dengan cara dikukus menggunakan panci pengukus dan kompor hingga suhu mencapai 80°C kemudian diangkat dan diangin-anginkan hingga suhu mencapai 35°C. Setelah suhu mencapai 35°C kemudian dicampur LKF sesuai perlakuan yang diberikan yaitu, T1 (2% limbah kubis terfermentasi + 100% *calf starter*), T2 (4% limbah kubis terfermentasi + 100% *calf starter*) dan T3 (6% limbah kubis terfermentasi + 100% *calf starter*).

Hasil campuran ditambahkan air sebanyak 50%, kemudian dicetak dengan menggunakan mesin *pelleter* dengan lubang berdiameter 5 mm. Pengeringan pellet dilakukan hingga diperoleh kadar air pellet sebesar 12,5 - 13%. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan inkubator yang dilengkapi *blower in* dan *blower out* sebagai penguat aliran udara serta sumber pemanas inkubator berasal dari luar kotak inkubator, hasil proksimat *pellet calf starter* dapat dilihat pada Lampiran 4.

**3.2.1.4. Tahap Uji Kualitas *Calf starter* LKF**, pengujian formula *calf starter* LKF perlakuan pada pedet dilakukan selama 6 minggu dengan 1 minggu pertama sebagai masa adaptasi dan 5 minggu selanjutnya untuk perlakuan pengambilan data. Kebutuhan nutrisi pedet dihitung berdasarkan bobot badan dan pertambahan bobot badan per minggu sesuai dengan kebutuhan nutrisi pedet (dalam NRC 2001) dengan perbandingan susu dan *calf starter* sebesar 60 : 40 dan hijauan secara ad libitum terukur. Susu dan *calf starter* akan diberikan pada pagi hari sekitar pukul 05.30 WIB dan sore hari sekitar pukul 16.30 WIB. *Calf starter* diberikan 30 menit setelah pemberian susu dan air minum diberikan *ad libitum*.

**3.2.2.5. Tahap Pengambilan Data dan Analisis sampel**, pengambilam sampel dilakukan setelah masa perlakuan, cairan rumen diambil dengan menyedot melalui mulut menggunakan pompa *vacum*. cairan rumen diukur kadar VFA dan amonia. Cairan rumen di uji di Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Ternak, Universitas Jenderal Soedirman. Pengukuran konsentrasi VFA cairan rumen menggunakan metode destilasi uap yaitu sebagai berikut, Setelah seterilisasi alat destilasi uap pada labu direbus hingga mendidih, tempat sampel dicuci dengan aquades. cairan rumen di pipet sebanyak 5 ml, kemudian dimasukkan ketempat sampel dari alat destilasi uap dan ditambah 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, destilat ditampung dalam labu erlenmeyer 250 ml yang telah berisi 5 ml NaOH 0.5 N hingga volume destilat mencapai 100 ml, kedalam destilat ditambah indikator phenolphthalein sebanyak 2 tetes, destilat dititrasi dengan HCl 0.5 N sampai terjadi perubahan warna dan sebagai blangko dititrasi dengan 5 ml NaOH 0.5 N dengan HCl 0.5 N.

Pengukuran konsentrasi  $\text{NH}_3$  menggunakan metode Mikrodifusi Conway, Cawan Conway dan tutupnya diolesi dengan vaselin agar dapat menutup dengan rapat, 1 ml asam borat berindikator di pipet kemudian dimasukkan kedalam cawan kecil yang ada ditengah cawan Conway, 1 ml cairan rumen dipipet kemudian diteteskan pada sekat sebelah kanan cawan, cawan sedikit dimiringkan, kemudian 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh dimasukkan pada bagian kiri sekat (diusahakan jangan sampai tercampur sebelum cawan ditutup), cawan Conway ditutup, cawan digerakkan dari kiri kekanan dengan pelan-pelan, sehingga cairan rumen bercampur dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh, dibiarkan selama 24 jam pada suhu ruang, setelah 24 jam dan  $\text{NH}_3$  cairan rumen yang diikat oleh ion hydrogen dari asam borat dititrasi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.01 N sampai terjadi perubahan warna dari warna biru menjadi merah jambu.

### **3.2.1.Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan petak terbagi (*split plot design*) dengan dasar rancangan acak lengkap. Terdiri dari dua perlakuan yaitu Taraf penambahan limbah kubis fermentasi sebagai anak petak (T1: 2%, T2: 4% dan T3: 6%) dan Umur ternak sebagai petak utama (A1: umur 3 minggu dan A2: umur 6 minggu) dan terdiri dari 3 ulangan.

#### **Perlakuan**

T1A1 :100% *Calf starter* + 2% limbah kubis fermentasi diberikan pada pedet umur 3 minggu

T2A1 :100% *Calf starter* + 4% limbah kubis fermentasi diberikan pada pedet umur 3 minggu,

T3A1 :100% *Calf starter* + 6% limbah kubis fermentasi diberikan pada pedet umur 3 minggu,

T1A2 :100% *Calf starter* + 2% limbah kubis fermentasi diberikan pada pedet umur 6 minggu,

T2A2 :100% *Calf starter* + 4% limbah kubis fermentasi diberikan pada pedet umur 6 minggu,

T3A2 :100% *Calf starter* + 6% limbah kubis fermentasi diberikan pada pedet umur 6 minggu.

### **Analisi Data**

Model matematik yang digunakan Srigandono (1987) yaitu :

$$Y_{ijk} = \mu + K_k + A_i + \delta_{ik} + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$i = (1,2)$  dan  $j = (1,2,3)$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = Konsentrasi amonia dan VFA rumen pedet FH pada kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-i dari faktor umur pedet dan taraf ke-j dari penambahan limbah kubis fermentasi

$\mu$  = nilai tengah umum (rata-rata populasi) konsentrasi amonia dan VFA rumen

$K_k$  = pengaruh kelompok ke-k

$A_i$  = pengaruh aditif dari taraf ke-i faktor umur pedet

$\delta_{ik}$  = pengaruh galat yang muncul pada taraf ke-i dari umur pedet dalam kelompok ke-k  $\rightarrow$  galat petak utama (galat a)

$B_j$  = pengaruh aditif dari taraf ke-j faktor penambahan limbah kubis fermentasi

$(AB)_{ij}$  = pengaruh interaksi taraf ke-i dari umur pedet dan taraf ke-j dari penambahan limbah kubis fermentasi

$\epsilon_{ijk}$  = pengaruh galat percobaan pada kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-i dari faktor umur ternak dan taraf ke-j dari penambahan limbah kubis fermentasi  $\rightarrow$  galat anak petak (galat b)

Data yang diperoleh dianalisis ragam (*Analisis of Variance*), dengan uji F pada taraf ketelitian 5 % untuk mengetahui pengaruh perlakuan penambahan limbah kubis fermentasi terhadap kadar amonia dan VFA.

### Hipotesis Statistik

- a.  $H_0$  :  $(\alpha\beta)_{ij} = 0$  (tidak ada pengaruh interaksi antara penambahan limbah kubis fermentasi dengan umur pedet terhadap peningkatan konsentrasi amonia dan VFA rumen).  
 $H_1$  : Minimal ada satu  $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$ , ada pengaruh interaksi antara penambahan limbah kubis fermentasi dan umur pedet terhadap peningkatan konsentrasi amonia dan VFA rumen .
- b.  $H_0$  :  $\alpha_i = 0$  (tidak ada pengaruh penambahan limbah kubis fermentasi terhadap terhadap konsentrasi amonia dan VFA rumen).  
 $H_1$  : Minimal ada satu  $\alpha_i \neq 0$ , minimal ada satu pengaruh penambahan limbah kubis fermentasi yang mempengaruhi konsentrasi amonia dan VFA rumen.
- c.  $H_0$  :  $\beta_j = 0$  (tidak ada pengaruh umur pedet terhadap peningkatan konsentrasi amonia dan VFA rumen).  
 $H_1$  : Minimal ada satu  $\beta_j \neq 0$ , minimal ada satu umur pedet yang berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi amonia dan VFA rumen.