

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul tampilan asam propionat rumen dan glukosa darah akibat penambahan minyak jagung terproteksi dan suplementasi urea pada ransum sapi FH dilakukan mulai tanggal 4 Juli sampai 21 Agustus 2016 di BPTU Desa Barukan Tengaran Kabupaten Semarang.

Penelitian ini dilakukan secara 2 tahap yaitu penelitian tahap pertama dan penelitian tahap ke dua.

Penelitian Tahap I

3.1. Materi Penelitian *In Vitro*

Materi yang digunakan pada penelitian *in vitro* meliputi minyak jagung terproteksi (MJT) sebagai sumber asam lemak tidak jenuh, KOH, CaCl₂, rumput raja, konsentrat, urea dan larutan McDougall yang terdiri KOH, CaCl₂, NaHCO₃, Na₂HPO₄, 12H₂O, NaCl, KCl, MgCl₂, H₂O dan aquades. Peralatan yang digunakan yaitu meliputi seperangkat alat analisis proksimat, termos, tabung fermentor dan tutupnya, oven, timbangan digital dengan ketelitian 1 g, timbangan analitis dengan ketelitian 0,0001g, waterbath, thermometer, spatula, sentrifuse, beaker glass, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, mikropipet, grinder, rak tabung dan kertas label untuk memberikan tanda.

3.2. Metode Penelitian *In Vitro*

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap pola faktorial dengan 2 faktor, yaitu faktor pertama dengan penambahan MJT (3 perlakuan) dan faktor kedua yaitu suplementasi urea (2 perlakuan) dengan 3 kali ulangan ($2 \times 3 \times 3$). Uji *in vitro* yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui fenomena yang terjadi di dalam rumen. Perlakuan yang diberikan yaitu penambahan minyak jagung 2% dengan proporsi T_0 (0% MJT), T_1 (75% MJT), T_2 (80% MJT). Faktor perlakuan kedua yang diterapkan adalah S_1 (penambahan Urea 0,16 %) dan S_2 (penambahan Urea 0,95 %). Variabel yang diukur yaitu asam propionat rumen.

3.2.1. Persiapan sampel

Tahap persiapan sampel yaitu meliputi pengambilan sampel pakan berupa rumput raja dan konsentrat, kemudian memotong-motong menjadi ukuran 2 - 5 cm. Mengoven sampel pakan pada suhu 110°C selama 6 jam untuk mengukur berat kering sampel. Menggiling sampel dengan grinder agar diperoleh ukuran yang homogen, selanjutnya menganalisis komponen proksimat sampel pakan tersebut. Mengukur derajat ketidak jenuhan minyak jagung dan besarnya angka saponifikasi. Angka saponifikasi digunakan sebagai dasar perhitungan jumlah KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan sebesar 1 g minyak jagung, selanjutnya mentransformasikan menjadi garam kalsium dengan menambahkan larutan CaCl_2 yang diperhitungkan secara stokhiometri.

3.2.2. Preparasi perlakuan

Mengukur berat jenis MJ dan menghitung aras suplementasi MJ berdasarkan persentase BK pakan. Menyiapkan MJ sebesar 2% dari BK pada setiap perlakuan. Menghitung jumlah (mg) KOH dan CaCl yang dibutuhkan untuk 2% MJG pada perlakuan sesuai aras proteksi MJG. Menghitung jumlah (g) urea yang dibutuhkan pada perlakuan. Faktor perlakuan pertama aras proteksi T0, T1 dan T2 (0%, 75%, 80%) dan faktor perlakuan kedua penambahan urea S1 dan S2 (0,16 dan 0,95 % BK pakan). Memasukkan kombinasi perlakuan kedalam tabung fermentor. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang 3 kali.

3.2.3. Proteksi minyak jagung

Meletakkan tabung fermentor yang telah diisi MJ dan KOH sesuai aras proteksi kedalam waterbath suhu 90⁰C sambil diaduk selama 10 menit hingga berubah warna menjadi keruh yang menandakan terjadi proteksi. Menambahkan CaCl kedalam tabung fermentor sesuai perlakuan selama 10 menit pada suhu 90⁰C sambil diaduk.

3.2.4. Uji *in vitro*

Analisis *in vitro* dilakukan dengan menimbang sampel pakan kering udara sebanyak 0,56 g yang digiling halus untuk setiap tabung fermentor. Menyiapkan larutan McDougall sebagai buffer. Mengambil cairan rumen sapi potong dari rumah potong hewan (RPH) dan memerasnya menggunakan kain sebagai saringannya lalu memasukkan ke dalam termos air yang sebelumnya telah diisi air

hangat suhunya 39 – 42 °C. Memasukkan sampel, MJ yang telah diproteksi sesuai perlakuan dan urea kedalam tabung fermentor, kemudian menambahkan 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen setelah itu ditutup rapat. Melakukan inkubasi pada waterbath selama 3 jam dengan suhu 39⁰C untuk fermentasi mikroorganisme. Menghentikan fermentasi setelah 3 jam dengan merendam di air dingin. Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, membuang supernatan terbentuk dan selanjutnya menganalisis produksi VFA parsial menggunakan metode gas kromatografi yang dianalisis di Laboratorium Uji Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian Universitas Gadjah Mada.

Penelitian Tahap II

3.3. Materi Penelitian *In Vivo*

3.3.1. Ternak

Ternak yang digunakan pada penelitian ini meliputi 18 ekor sapi perah FH laktasi dengan bulan laktasi dua dan tiga, bobot badan rata-rata $411,77 \pm 13,99$ kg (Lampiran 1.) dan produksi susu rata-rata $10,09 \pm 1,8$ liter/hari (Lampiran 2.). Sapi ditempatkan pada kandang dengan tempat pakan dan tempat minum. Sapi diberi pakan berupa hijauan dan konsentrat serta diberi air minum secara *adlibitum*.

3.3.2. Pakan

Bahan pakan yang digunakan yaitu hijauan berupa rumput raja, konsentrat, ALTJ terproteksi dan urea. Kandungan nutrisi ransum dan komposisi ransum dapat dilihat pada Tabel 2, 3 dan 4.

Tabel 2. Kandungan Nutrien Bahan Pakan (berdasarkan BK)

Pakan	BK*	PK*	LK*	SK*	Abu*	TDN**	BETN*
(%)......						
Rumput Raja *	13,26	11,56	1,32	43,01	12,12	57,77	31,99
Konsentrat *	88,52	12,21	6,56	40,29	8,54	56,30	32,40
Ransum (40% : 60%)	58,42	11,95	4,46	41,38	9,97	56,89	32,24

* = Analisis proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.

** = Dihitung menggunakan rumus Hartadi (1990) : $37,937 - (1,018 \times SK) - (4,886 \times LK) + (0,173 \times BETN) + (1,042 \times PK) + (0,015 \times SK^2) - (0,058 \times LK^2) + (0,008 \times BETN) + (0,119 \times LK \times BETN) + (0,038 \times LK^2 \times PK)$

Tabel 3. Komposisi Penambahan MJT dan Urea pada Ransum.

Nutrien	T ₀ S ₁	T ₀ S ₂	T ₁ S ₁	T ₁ S ₂	T ₂ S ₁	T ₂ S ₂
ALTJ (%)	2% tidak terproteksi	2% tidak terproteksi	2% (75% proteksi + 25% tidak)	2% (75% proteksi + 25% tidak)	2% (80% proteksi + 20% tidak)	2% (80% proteksi + 20% tidak)
Urea (%)	0,16%	0,95%	0,16%	0,95%	0,16%	0,95%

Tabel 4. Komposisi Nutrien Ransum Perlakuan (berdasarkan BK)

Kandungan Nutrien	Perlakuan					
	T ₀ S ₁	T ₀ S ₂	T ₁ S ₁	T ₁ S ₂	T ₂ S ₁	T ₂ S ₂
	-----%-----					
Protein Kasar	12	16	12	16	12	16
Lemak Kasar	4,46	4,46	4,46	4,46	4,46	4,46
Serat Kasar	41,38	41,38	41,38	41,38	41,38	41,38
Abu	9,97	9,97	9,97	9,97	9,97	9,97
Total Digestible Nutrien (TDN)	56,89	56,89	63,7	63,7	63,7	63,7

3.3.3. Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi pita ukur untuk mengukur lingkaran dada sapi, timbangan digital (ketelitian 0,01 kg) digunakan untuk menimbang bahan pakan, *sprit* 10 cc digunakan untuk mengambil darah, *vacutainer* digunakan untuk menampung sampel darah, termos es digunakan untuk tempat sampel darah saat akan diuji. Memisahkan plasma darah menggunakan *centrifuge* dengan

2500 rpm, *erlenmeyer* untuk mencampur plasma darah dan larutan standar glukosa, aquades sebagai larutan pengencer, H_2SO_4 sebagai larutan hidrolisis, pipet hisap digunakan untuk mengambil sampel, *spektofotometer* 660 mm digunakan untuk mengetahui kadar glukosa darah, *microtube* sebagai tempat penampung plasma darah yang telah dipisahkan dan tabung reaksi untuk menganalisis sampel.

3.4. Metode Penelitian *In Vivo*

3.4.1. Prosedur penelitian

Penelitian terdiri dari tahap persiapan, tahap pelaksanaan, pengambilan data dan analisis data. Tahap persiapan dilakukan selama 3 minggu meliputi pengumpulan bahan pakan untuk analisis proksimat dan proteksi minyak jagung di laboratorium. Penyusunan ransum, pemilihan sapi berdasarkan estimasi bobot badan dan pemilihan sapi perah berdasarkan bulan laktasi dilakukan serta menyediakan semua perlengkapan.

Tahap pelaksanaan meliputi tahap adaptasi yang dilakukan pada sapi dengan selama kurang lebih 2 minggu. Perlakuan diberikan selama 14 hari setelah tahap adaptasi, meliputi pemberian pakan dilakukan 2x sehari pukul 06.00 dan 16.00 WIB berupa konsentrat dan hijauan. Penambahan minyak jagung terproteksi (MJT) dan urea di campur dengan konsentrat agar lebih homogen. Pemberian konsentrat 2 jam sebelum pemberian hijauan. Penimbangan sisa pakan setiap pagi dan sore.

Tahapan pengambilan data yaitu data konsumsi BK ransum dengan cara mengurangi jumlah pakan yang diberikan dengan sisa pakan. Pengambilan darah (*whole blood*) dilakukan pada hari ke 30 di pangkal ekor (vena *Coccigea*) pada jam ke 2 menggunakan spuit 10 ml dan dimasukkan ke *vacutainer* yang telah diberi antikoagulan, kemudian disimpan pada termos es dan selanjutnya di analisis.

3.4.2. Parameter

3.4.2.1. Konsumsi BK

Konsumsi BK pakan diperoleh dari penimbangan jumlah pakan yang diberikan dikurangi dengan jumlah pakan sisa pada tahap *in vivo*. Setelah itu hasilnya dikalikan % BK dari analisis proksimat.

3.4.2.2. Asam propionat rumen

Hasil asam propionat rumen diperoleh melalui analisis *in vitro*. Analisis dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang dan selanjutnya dianalisis di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta.

3.4.2.3. Glukosa darah

Sampel darah diambil pada hari ke 3 pada tahap *in vivo*. Darah diambil pada bagian pembuluh darah pada pangkal ekor. Sampel darah di sentrifuse pada 3000 rpm selama 15 menit. Plasma darah diambil kemudian dibekukan pada suhu

– 20⁰C. Analisis *in vitro* di analisis di UPT Laboratorium Kesehatan Kabupaten Kudus. Data yang terkumpul diolah menggunakan analysis of varians (ANOVA) dalam rancangan acak lengkap faktorial.

3.4.3. Rancangan penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial. Perlakuan yang diberikan yaitu terdiri dari dua yaitu 3 perlakuan sebagai faktor pertama dan 2 perlakuan sebagai faktor ke dua dengan masing-masing 3 ulangan. Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut:

T0P1 = aras suplementasi MJ 2% + UREA 0,16 %

T0P2 = aras suplementasi MJ 2% + UREA 0,95 %

T1P1 = aras suplementasi MJ 2% (75% terproteksi) + UREA 0,16 %

T1P2 = aras suplementasi MJ 2% (75% terproteksi) + UREA 0,95 %

T2P1 = aras suplementasi MJ 2% (80% terproteksi +) + UREA 0,16 %

T2P2 = aras suplementasi MJ 2% (80% terproteksi +) + UREA 0,95%

3.4.4. Analisis data

Data yang terkumpul diolah menggunakan analisis ragam dalam rancangan acak lengkap pola perlakuan faktorial. Model linier yang digunakan menurut Gaspersz (1995) adalah :

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

Keterangan:

Y_{ijk} : Nilai percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij

μ : Nilai tengah (rata-rata)

A_i : Pengaruh penambahan MJT ke-i

B_j : Pengaruh suplementasi urea pada ransum ke-j

$(AB)_{ij}$: Pengaruh interaksi antara penambahan MJT ke-i dan urea pada ransum ke-j
 ϵ_{ijk} : Pengaruh galat percobaan petak ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij.

3.4. Hipotesis statistik

Data hasil percobaan menurut Hanafiah (1994) diolah menggunakan analysis of varians (ANOVA) dengan uji F, sehingga hipotesis yang digunakan yaitu :

H_0 : $(AB)_{ij} = 0$ Tidak ada pengaruh interaksi perlakuan penambahan MJT dan aras pemberian urea terhadap asam propionat rumen dan glukosa darah.

H_1 : Minimal ada satu pengaruh interaksi perlakuan penambahan MJT dan level pemberian urea terhadap asam propionat rumen dan glukosa darah.

H_0 : $A_i = 0$ Tidak ada pengaruh perlakuan penambahan MJT terhadap asam propionat rumen dan glukosa darah.

H_1 : Minimal ada satu pengaruh perlakuan penambahan MJT terhadap asam propionat rumen dan glukosa darah.

H_0 : $B_j = 0$ Tidak ada pengaruh perlakuan level urea terhadap asam propionat rumen dan glukosa darah.

H_1 : Minimal ada satu pengaruh perlakuan level PK ransum terhadap asam propionat rumen dan glukosa darah.

Kriteria pengujian yaitu apabila $F \text{ hitung} < F \text{ Tabel}$, maka H_0 diterima dan apabila $F \text{ hitung} \geq F \text{ Tabel}$, maka H_1 diterima dan H_0 ditolak.