

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada 5 Oktober – 1 November 2017 di Balai Pembibitan Ternak Unggul Dinas Pertanian, Perikanan dan Pangan Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Analisis urea darah dilaksanakan di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Analisis urea susu dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 16 ekor sapi perah Peranakan *Friesian Holstein*. Sapi-sapi tersebut berada pada bulan laktasi ke 1 - 4 dan periode laktasi ke I - V. Rata-rata bobot badan sapi $416,82 \pm 33$ kg dan produksi susu awal $9,9 \pm 2,47$ liter/hari. (Lampiran 1). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rumput gajah (*Pennisetum purpureum*), pakan komersial bentuk mash (Sumber Rejeki Feed), tepung daun pepaya (*Carica papaya Linn*), tepung kunyit (*Curcuma domestica*), Zn proteinat dan Se proteinat. Kadar urea darah dianalisis menggunakan KIT urea (Stanbio Urea Nitrogen) dan urea susu dianalisis menggunakan KIT urea (Fluitest Urea Col). Alat yang

digunakan dalam penelitian ini meliputi pita ukur untuk mengukur lingkar dada sebagai pendugaan bobot badan ternak, timbangan digital kapasitas 50 kg dengan ketelitian 0,01 kg untuk menimbang pemberian dan sisa pakan, kapas dan alkohol 70% untuk membersihkan ambung saat mengambil sampel susu, botol kaca 120 ml untuk menempatkan sampel susu, takaran susu kapasitas 2 liter, lemari pendingin untuk menyimpan sampel, *sprit* 10 ml untuk mengambil sampel darah, *cooling box* untuk menyimpan sampel sementara, *ice gel* untuk membuat suhu didalam *cooling box* tetap dingin, tabung *vacutainer* EDTA sebagai tempat sampel darah yang diambil, spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm untuk mengukur urea susu dan untuk mengukur urea darah menggunakan *careium* NB-201 semi auto Chemistry Analyzer dengan panjang gelombang sebesar 340 nm.

3.2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan perlakuan sesuai petunjuk Mas dan Prastiwi (2016). Perlakuan yang di ujikan adalah:

T0 = Ransum kontrol

T1 = T0 + herbal (tepung daun pepaya 0,015% BB dan tepung kunyit 0,015% BB)

T2 = T0 + Zn dan Se proteinat dengan dosis Zn 82,67 mg/kg BK dan Se 0,78 mg/kg (2 kali rekomendasi dari NRC (2001)).

T3 = T0 + herbal + mineral proteinat

Ransum kontrol terdiri dari rumput gajah dan konsentrat dengan kandungan PK 13,47% dan TDN 67,72%. Perhitungan suplementasi herbal dapat dilihat pada (Lampiran 2) dan suplementasi mineral proteinat pada (Lampiran 3). Data yang diperoleh dianalisis ragam (uji F) pada taraf 5 %. Penelitian ini terdiri dari 3 tahap yaitu tahap persiapan, tahap perakuan dan tahap pengambilan serta analisis data.

3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi survei lokasi penelitian, pemilihan ternak, analisis proksimat ransum kontrol dan suplemen serta pembuatan suplemen. Analisis mineral pada bahan pakan dilakukan terlebih dahulu di Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negri Semarang. Data hasil analisis mineral tersebut digunakan untuk menghitung kebutuhan mineral yang akan diberikan. Analisis proksimat pakan dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Pengukuran bobot badan dengan cara mengukur lingkar dada sapi menggunakan pita ukur dan melakukan perhitungan dengan rumus *School*, mengukur produksi susu pagi dan sore, mengukur BJ susu dan kadar lemak. Data hasil perhitungan tersebut digunakan untuk menghitung kebutuhan BK. Rumus School untuk Estimasi Bobot Badan :

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

Keterangan : LD (Lingkar Dada (cm))

Suplemen yang digunakan adalah daun pepaya dan kunyit yang di potong kecil-kecil, setelah itu dijemur dan kemudian dibuat menjadi tepung. Bahan yang digunakan untuk membuat Zn proteinat antara lain 6,25 kg bungkil kedelai; 3,13

kg ongkok; 54,35 gram ZnO dan 18,75 liter aquades, sedangkan bahan untuk membuat Se proteinat adalah 2,08 kg bungkil kedelai; 1,04 kg ongkok; 1,77 gram SeO₂ dan 6,25 liter aquades. Pembuatan Zn proteinat dan Se proteinat dilakukan dengan merendam bahan dengan aquades selama 24 jam dan diaduk setiap 3 jam sekali, kemudian diratakan pada alas untuk dijemur dibawah sinar matahari. Hasil analisis proksimat bahan pakan dapat dilihat di Tabel 2. dan susunan ransum pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil Analisis Proksimat Bahan Pakan Penelitian

Bahan Pakan	BK	Abu	PK	LK	SK	BETN*	TDN**
	------(%)-----						
Rumput Gajah	22	15,85	11,50	1,89	33,50	37,26	53,72
Konsentrat komersial	88,76	6,74	15,28	4,51	6,72	66,75	80,60
Daun Pepaya	88,45	14,48	24,61	6,38	19,10	35,43	64,21
Kunyit	82,33	10,76	7,68	0,92	15,47	65,17	61,60
Zn Proteinat	94,85	9,27	44,80	0,99	41,05	3,89	34,79
Se Proteinat	90,58	7,79	41,01	1,53	31,76	17,91	47,29

Keterangan :

Hasil Analisis Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Ternak Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang

* BETN = 100% - (%PK + %LK + %SK + %Abu)

**TDN dihitung berdasarkan Sutardi (2001)

Tabel 3. Susunan Ransum yang diberikan

Bahan Pakan	T0	T1	T2	T3
	------(% BK)-----			
Komposisi	------(% BK)-----			
Rumput Gajah	47,93	47,52	47,13	46,73
Konsentrat	52,07	51,62	51,19	50,76
Daun Pepaya	-	0,45	-	0,45
Kunyit	-	0,42	-	0,42
Zn Proteinat	-	-	1,48	1,44
Se Proteinat	-	-	0,20	0,19
Jumlah	100	100	100	100

Kandungan Nutrien

Abu (%)	11,11	11,12	11,07	11,09
PK (%)	13,47	13,49	13,99	14,00
LK (%)	3,25	3,26	3,22	3,22
SK (%)	19,56	19,54	19,90	19,87
BETN (%)	52,61	52,59	51,83	51,82
TDN (%)	67,72	67,67	67,19	67,16
Zn (mg/kg)	24,59	24,92	82,67	82,94
Se (mg/kg)	0,30	0,30	0,78	0,78

3.2.2. Tahap perlakuan dan pengambilan data

Perlakuan diberikan selama 21 hari, dilakukan dengan cara memberikan suplemen herbal (kombinasi tepung daun pepaya dan tepung kunyit), mineral proteinat (kombinasi Zn proteinat dan Se proteinat) maupun kombinasi herbal dan mineral proteinat dicampur dengan konsentrat pada pemberian pakan pagi dan sore.

Data yang diambil meliputi kadar urea darah dan urea susu. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *vena jugularis* setelah 3 jam dari pemberian pakan pagi. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-21 setelah diberi perlakuan. Darah selanjutnya dimasukkan ke tabung *vacutainer* EDTA, kemudian tabung *vacutainer* EDTA dimasukkan kedalam *cooling box* yang telah diisi oleh *ice gel* untuk dibawa ketempat analisis. Analisis darah untuk mengetahui kadar urea darah. Sampel di analisis di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pengambilan sampel susu dilakukan pada hari ke-21 setelah diberi perlakuan. Sampel susu diambil pada pemerahan pagi dan pemerahan sore yang sudah homogenisasikan dan di

proporsi berdasarkan produksi susu. Adapun jumlah susu yang diambil pada pemerahan pagi/sore yaitu:

$$\text{Sampel susu} = \frac{\text{Produksi susu (pagi atau sore) (ml)}}{\text{Produksi susu total (ml)}} \times 100 \text{ ml}$$

Susu yang telah dihomogenkan disimpan kedalam botol yang ditutup rapat dan disimpan pada *cooling box* yang telah diisi oleh *ice gel* untuk dibawa ke tempat analisis. Analisis susu untuk mengetahui kadar urea susu dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.2.2.1. Prosedur pengukuran urea darah, dilakukan dengan cara menyiapkan alat dan bahan yaitu caretium NB-201 semi auto Chemistry Analyzer, mikropipet, blue tip, yellow tip, tabung appendorf, transferpette, reagen Blood Urea Nitrogen enzyme STANBIO Liquid UV, Blood Urea Nitrogen buffer STANBIO Liquid UV, Blood Urea Nitrogen standard STANBIO Liquid UV, aquades dan serum darah. Persiapan reagen dengan cara mencampur reagen 1 ml Blood Urea Nitrogen enzyme (R2) dengan Blood Urea Nitrogen buffer (R1) sebanyak 5 ml didapatkan reagen (*working reagent*), kemudian menaruh 1 ml reagen (*working reagent*) ke dalam tabung appendorf. Menambahkan sampel serum 10 μ l memasukan kedalam tabung appendorf dan melakukan homogenisasi dengan menggunakan vortex. Membaca hasil menggunakan Caretium NB-201 semi-Auto Chemistry Analyzer dengan panjang gelombang 340 nm. R1 merupakan buffer yang berisi Buffer (ADP, Urease, pH 7,8) dan R2 berisi Enzim (NADH).

3.2.2.2. Prosedur pengukuran urea susu, dengan cara mengambil sampel susu sebanyak 0,5 ml ke dalam tabung reaksi kemudian menambahkan larutan TCA

0,5 ml yang berfungsi untuk menghentikan jalannya reaksi hidrolisis dengan cara menjadikan enzim inaktif dan menggumpalkan lemak yang kemudian diambil larutan supernatan. Sampel susu dan TCA di campurkan dengan alat *vortex* selama 1 menit, lalu disentrifuse pada kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Membuat 2 macam pengujian yang meliputi pembuatan sampel dan standar. Pembuatan sampel dilakukan dengan cara larutan supernatan dimasukan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 μ l, ditambahkan R1 1 ml lalu di campurkan dengan cara di *vortex*. Memasukan ke dalam inkubator dengan suhu 37⁰ C selama 5 menit, ditambahkan R3 sebanyak 1 ml, kemudian dimasukan dalam inkubator dengan suhu 37⁰ C selama 5 menit, setelah itu pengujian urea susu diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Langkah-langkah pembuatan standar sama dengan pembuatan sampel. Menghitung kadar urea ditampilkan pada rumus 2.

$$\text{Urea Susu} = \frac{\text{Abs Sampel}}{\text{Abs standar}} \times \text{Standar Konsentrasi Urea} \dots(2)$$

Keterangan :

R1 = Buffer, EDTA, Sodium Salicylate, Sodium nitropusside

R3 = Sodium hypochloride, Sodium hydroxide

Abs = Nilai absorban setelah pembacaan spektrofotometer

Abs standar = larutan supernatan 10 μ l + R1+R3

Abs sampel = larutan supernatan 10 μ l+ R1+ R3

Standar konsentrasi urea = 50 ml/dl

3.2.3. Analisis data

Data yang diperoleh diolah berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sesuai petunjuk Mas dan Prastiwi (2016) pada taraf kesalahan 5%, model matematika RAL adalah:

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

Keterangan :

Y_{ij} = Kadar urea darah dan urea susu ke-j yang memperoleh perlakuan pemberian tepung daun pepaya, tepung kunyit, Zn proteinat dan Se proteinat ke-i.

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) kadar urea darah dan urea susu

τ_i = Pengaruh aditif dari pemberian tepung daun pepaya, tepung kunyit, Zn proteinat dan Se proteinat ke-i.

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada sapi perah ke-j yang memperoleh perlakuan pemberian tepung daun pepaya, tepung kunyit, Zn proteinat dan Se proteinat ke-i.

3.2.3.1. Hipotesis, $H_0 : \tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = 0$; tidak ada pengaruh suplementasi tepung daun pepaya, tepung kunyit, Zn proteinat dan Se proteinat terhadap kadar urea darah dan urea susu.

$H_1 : \tau_i \neq 0$; minimal ada satu perlakuan suplementasi tepung daun pepaya, tepung kunyit, Zn proteinat dan Se proteinat yang mempengaruhi kadar urea darah dan urea susu.