

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang pengaruh penggunaan limbah cair pemindangan ikan dalam ransum terhadap kadar kolestrol, LDL dan HDL itik persilangan Mojosari - Peking dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2017 di kandang unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.

3.1 Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu itik Persilangan Mojosari-Peking (MP) jantan umur 3 Minggu sebanyak 120 ekor dengan bobot badan rata-rata sebesar $520,30 \pm 47,82$ g (CV = 9,19%). Limbah cair pemindangan ikan yang digunakan diperoleh dari industri pemindangan ikan di Desa Bajomulyo, Kecamatan Juwana Kabupaten Pati.

Pakan jadi untuk itik CP 511 dengan kandungan protein kasar 21% dan energi metabolis 3.000 kkal/kg untuk pakan *Day Old Duck* (DOD) sampai umur 2 minggu. Bahan pakan yang digunakan untuk menyusun ransum perlakuan terdiri dari jagung, bekatul, konsentrat CP 144 dan limbah cair pemindangan ikan dengan kandungan energi metabolis dan protein yang disusun secara iso kalori dan iso protein. Kandungan nutrisi bahan pakan dapat dilihat dalam Tabel 3, sedangkan komposisi dan kandungan nutrisi ransum dapat dilihat dalam Tabel 4.

Peralatan yang digunakan antara lain timbangan, bahan pakan, *brooder*, lampu, tempat pakan, tempat minum, *hygrometer*, *thermometer*. Kandang untuk

DOD menggunakan *brooder*, sedangkan saat mulai perlakuan menggunakan kandang postal berukuran 1m x 1m x 0,75m.

Tabel 3. Kandungan Nutrisi Bahan Penyusun Ransum

BahanPakan	EM	PK	SK	LK	Ca	P	Abu
	(Kkal/kg)	------(%)-----					
Limbahcair pindang ¹⁾	3981	0,32	0,18	10,95	0,002	0,00	0,08
Jagung ²⁾	3446	8,45	8,33	1,25	0,030	0,07	1,15
Konsentrat ²⁾	2500	37,00	6,00	2,00	12,000	1,20	35,00
Bekatul ²⁾	3405	12,50	16,70	14,34	0,003	0,00	8,19

¹⁾ Laboratorium Terpadu UNDIP, 2016. ²⁾ Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan., 2016. Hasil perhitungan energi berdasarkan rumus Balton (Siswohardjono, 1982) EM = 40,81 (0,87 (Protein kasar + 2,25 Lemak kasar + BETN) + 2,5)

Tabel 4. Komposisi Ransum Perlakuan

Bahan Pakan	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
	------(%)-----			
Limbah Cair Pindang	0,00	2,50	5,00	7,50
Jagung Kuning	49,00	46,50	44,00	40,50
Bekatul	20,00	20,00	20,00	20,00
Konsentrat	31,00	31,00	31,00	32,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Kandungan Nutrisi				
EM (Kkal/kg)	3.078,20	3.091,58	3.104,95	3.106,72
Protein Kasar (%)	18,11	17,91	17,70	17,79
Serat Kasar(%)	9,28	9,08	8,87	8,65
Lemak Kasar(%)	4,96	5,16	5,36	5,55
Ca (%)	3,80	3,80	3,80	3,91
P (%)	0,82	0,82	0,81	0,82

Keterangan : Perhitungan ransum perlakuan.

3.2 Metode

3.2.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan sehingga ada 20 unit percobaan, dimana setiap unit ada 6 ekor itik jantan.

Perlakuan terdiri dari :

T0 = Ransum (tanpa penambahan limbah cair pemindangan ikan)

T1 = Ransum dengan 2,5% limbah cair pemindangan ikan

T2 = Ransum dengan 5% limbah cair pemindangan ikan

T3 = Ransum dengan 7,5% limbah cair pemindangan ikan

Parameter yang diukur yaitu kadar kolestrol darah, kadar *low Density lipoprotein* (LDL) dan kadar *high Density Lipoprotein* (HDL).

3.2.2 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Penelitian terbagi menjadi tiga tahapan antara lain tahap persiapan, pemeliharaan dan pengambilan data. Tahap persiapan dilakukan dengan pengadaan limbah cair pemindangan ikan, penyimpanan limbah cair pemindangan dalam lemari es untuk menghindari kontaminasi mikroorganisme, pembuatan ransum dan menyiapkan kandang dengan melakukan pembersihan kandang, pemasangan lampu sebagai penerangan dan menyiapkan alat-alat pendukung dalam penelitian. Tahap pemeliharaan diawali dengan *duck in* dengan melakukan

penimbangan bobot awal DOD itik Persilangan Mojosari-Peking (MP) satu per satu dengan bobot badan awal rata-rata $520,30 \pm 47,82$ g (CV = 9,19%). Itik dipelihara dalam *brooder* selama 3 minggu dan saat mulai perlakuan itik dipelihara menggunakan kandang postal dengan sistem litter berukuran 1m x 1m x 0,75m dan setiap petak berisi 6 ekor itik yang telah dilengkapi tempat pakan dan minum, juga sekam sebagai alas *litter*, ransum perlakuan diberikan pada umur 3–8 minggu. Pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari yaitu pada pagi hari pukul 06.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB serta air minum yang diberikan secara *adlibitum*, pencatatan pemberian dan sisa pakan.

Ransum perlakuan yang diberikan berupa ransum dengan limbah cair pemindangan ikan dan ditambahkan air 50% dari berat ransum (semi basah). Pencampuran limbah cair pemindangan dalam ransum dilakukan saat ransum akan diberikan pada itik. Hal ini bertujuan untuk menghindari ransum agar tidak cepat basi. Pencampuran limbah cair pemindangan dalam ransum dilakukan dengan mencampurkan terlebih dahulu limbah cair pemindangan dengan air kemudian campuran tersebut dicampurkan dengan ransum yang akan diberikan. Metode ini digunakan agar limbah cair dapat tercampur merata dalam ransum.

3.2.3 Pengambilan Data

Pengambilan dan analisis kadar kolestrol, low density lipoprotein (LDL) dan *high density lipoprotein*(HDL) dilakukan pada itik umur 8 minggu. Berikut cara pengambilan data :

1. Itik dipuasakan selama 12 jam dan masing-masing unit perlakuan dan ulangan diambil 1 ekor itik secara acak untuk diambil sampel darahnya.
2. Darah diambil menggunakan *sputit* 3 ml dari *vena branchialis* yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alcohol, kemudian dimasukkan kedalam tabung *vacuntainer* yang telah diberi label kemudian dihomogenkan dengan gerakan seperti angka 8 dan selanjutnya darah dimasukkan dalam *cooling box*. Darah dianalisis di Laboratorium Penelitian dan Penguji Terpadu Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
3. Kadar kolestrol darah dianalisis menggunakan metode *Cholesterol-oxidase para-aminophenazone* (CHOD-AP): Tes Photometrics enzimatik. Prinsip kerja analisis kolestrol melalui reaksi oksidasi dan hidrolisis enzimatik, pengukuran menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500nm dengan perhitungan :

$$\text{Kadar Kolestrol} = \frac{\Delta\text{Abs sampel}}{\Delta\text{Abs standard}} \times \text{konsentrasi standard / cal mg/dl.}$$

4. Pemeriksaan LDL yaitu dengan menambahkan heparin, high density lipoprotein (HDL) dan very low density lipoprotein (VLDL). Intensitas warna menunjukkan kadar LDL dan pengukuran pemeriksaan menggunakan panjang gelombang 500 nm.
5. Pemeriksaan HDL dianalisis dengan cara LDL diendapkan dengan menambah phosphotungstic acid dan magnesium ions pada serum, Sentrifuse memisahkan HDL disupernatan. Pengukuran kadar HDL ditentukan dengan reagent kolesterol total. Kadar HDL kemudian dibaca dengan alat spektro mikro lab pada panjang gelombang 500 nm.

3.2. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam atau *analysis of variance* (ANOVA) dengan uji F untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Apabila ada pengaruh perlakuan dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Sastrosupadi, 2000).

Model persamaan yang digunakan adalah :

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

Keterangan :

- Y_{ij} : Hasil Persentase ke-ij
- μ : Rata-rata pengamatan (nilai tengah umum)
- α_i : Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i
- ϵ_{ij} : Galat percobaan dari perlakuan ke-i pada pengamatan ke-j
- j : 1, 2, 3, 4, 5

Hipotesis Statistik yang digunakan adalah sebagai berikut :

H0: $\tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$ (yang berarti tidak ada pengaruh penambahan limbah cair pemindangan ikan terhadap kadar kolestrol, LDL dan HDL).

H1: Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$ untuk $i = 1, 2, 3$ (yang berarti minimal ada satu pengaruh penggunaan limbah cair pemindangan ikan dalam ransum terhadap kadar kolestrol, HDL dan LDL).

Kriteria pengujian sebagai berikut :

Jika $F\text{-hitung} < F\text{-tabel}$ maka H0 diterima dan H1 ditolak

Jika $F\text{-hitung} \geq F\text{-tabel}$ maka H1 diterima dan H0 ditolak