

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan April - September 2018 di Kandang Digesti, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis proksimat bahan pakan serta analisis VFA, NH_3 dan protein total dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor domba lokal berjenis kelamin jantan dengan umur di bawah lima bulan (balibul) dengan bobot badan rata-rata $9,79 \pm 1,51$ kg. Pakan yang digunakan yaitu pakan komplit yang tersusun atas pollard, dedak padi, bungkil kelapa, bungkil kedelai, molases, mineral mix, susu skim, tepung jagung, onggok dan rumput gajah. Isi rumen kerbau yang digunakan sebagai probiotik diperoleh dari rumah pematangan hewan di Kudus. Bahan yang digunakan untuk analisis VFA, NH_3 dan protein total di laboratorium yaitu cairan rumen domba, H_2SO_4 15%, akuades, NaOH 0,5 N, indikator phenolphthalein (PP) 1%, HCl 0,5 N, vaselin, asam borat (H_3BO_3) 4%, indikator *methyl red*, indikator bromkresol hijau, sodium karbonat jenuh (Na_2CO_3), H_2SO_4 0,0055 N, *trichloroacetic acid* (TCA) 20%, *sulphosalysilic acid* (SSA) 2% dan HCl 0,1 N. Alat yang digunakan selama penelitian yaitu kandang domba tipe individu, ember untuk tempat minum, timbangan untuk menimbang pakan dan domba, serta

pompa vakum. Alat yang digunakan untuk analisis NH_3 , VFA dan protein total di laboratorium yaitu oven, eksikator, cawan Conway, tabung suling, *stirrer*, gelas ukur 25 ml dan 50 ml, pendingin tegak, labu Erlenmeyer, seperangkat alat destilasi, tabung fermentor, *centrifuge* dan pipet ukur 5 ml.

3.2. Metode

Penelitian ini dilaksanakan dalam 5 tahap yaitu persiapan, adaptasi, perlakuan, pengambilan data serta tahap analisis statistik.

3.2.1. Persiapan

Tahap persiapan dilakukan selama 4 minggu meliputi formulasi pakan komplit, pengadaan bahan pakan, pengadaan isi rumen kerbau, pembuatan pakan komplit, analisis proksimat pakan, persiapan kandang serta pengadaan 20 ekor domba lokal balibul. Bahan pakan penyusun pakan komplit diperoleh dari berbagai pasar dan pabrik pakan di Boyolali.

Isi rumen kerbau yang dijadikan sebagai probiotik diperoleh dari rumah pemotongan hewan di Kudus. Isi rumen diangin-anginkan selama 2 minggu sampai benar-benar kering (kadar air kurang dari 12%). Isi rumen yang telah kering lalu digiling menggunakan *grinder* sampai berbentuk tepung.

Pakan komplit dibuat dengan cara semua bahan pakan ditimbang sesuai komposisi kemudian dicampur menggunakan *mixer* vertikal sampai homogen. 20 ekor domba balibul dibeli dari pasar domba di Wonosobo. Analisis proksimat pakan dilakukan di laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan

Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Kandungan nutrisi dari formulasi pakan komplit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien dan Formulasi Pakan Komplit

Bahan Pakan	T0	T1	T2	T3	T4
	------(%)-----				
Pollard	6	6	9	8	20
Dedak Padi	9	9	9	11	8
Bungkil Kelapa	2	2	2	10	17
Bungkil Kedelai	10	10	18	17	10
Molases	3	3	3	3	3
Mineral Mix	1	1	1	1	1
Susu Skim	18	18	10	5	6
Jagung Giling	21	21	19	12	7
Onggok	10	10	9	13	8
Rumput Gajah	20	20	20	20	20
Total	100	100	100	100	100
Kandungan Nutrien (%)					
Bahan Kering	74,48	75,14	70,10	73,78	73,63
Abu	8,49	9,56	9,19	10,09	9,56
Protein Kasar	14,90	15,02	16,71	19,20	16,55
Lemak Kasar	3,37	3,26	2,67	2,24	3,66
Serat Kasar	32,68	30,99	26,63	28,52	29,52
BETN	40,55	41,17	44,81	43,10	45,62
TDN**	57,05	58,31	61,83	60,43	60,67
NDF	25,00	25,00	30,00	35,00	40,00

Sumber: * Hasil analisis proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2018)

** Hasil perhitungan berdasarkan Sutardi (2001), pakan dengan SK > 18% dan PK < 20%
 $TDN^* = 70,6 + (0,259 \times PK) + (1,01 \times LK) - (0,760 \times SK) + (0,0991 \times BETN)$

3.2.2. Adaptasi

Tahap adaptasi dilakukan bertujuan untuk mengadaptasikan domba lokal balibul dengan pakan perlakuan yang diberikan dan lingkungan perandangan.

Tahap adaptasi dilakukan selama 3 minggu dengan memberikan pakan perlakuan

sedikit demi sedikit setiap harinya. Domba diberi obat cacing dan dicukur bulunya untuk mencegah domba terserang parasit, baik itu ektoparasit maupun endoparasit.

3.2.3. Perlakuan

Tahap perlakuan dilakukan dengan memberikan pakan perlakuan selama 8 minggu. Pakan perlakuan yang diberikan berupa pakan komplit dengan level NDF berbeda yang mengandung probiotik isi rumen kerbau sebanyak 5% pada masing-masing perlakuan. Pakan komplit diberikan sebanyak dua kali sehari yaitu pagi dan sore. Air minum diberikan secara *ad libitum* setiap hari.

3.2.4. Pengambilan data

Tahap pengambilan data dilakukan dengan cara cairan rumen diambil pada hari terakhir perlakuan 4 jam setelah pemberian pakan dengan menggunakan pompa vakum lalu dimasukkan ke dalam botol dan disimpan dalam *freezer*. Analisis cairan rumen di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang untuk mengetahui kadar NH_3 , VFA total dan protein total yang dihasilkan.

Tahap-tahap analisis produksi NH_3 dan VFA total yaitu cairan rumen yang telah diambil disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 – 15 menit, kemudian larutan supernatan dengan endapannya dipisahkan. Larutan supernatan dimasukkan ke dalam tabung sampel, selanjutnya dilakukan analisis VFA dan NH_3 rumen.

Produksi NH_3 dianalisis dengan menggunakan metode mikrodifusi Conway (AOAC, 1995). Bagian tepi cawan Conway dan tutupnya diolesi dengan vaselin. Bagian tengah cawan dimasukkan 1 ml asam borat dan 1 tetes indikator campuran metil merah dan bromkresol hijau. Sisi kiri cawan dimasukkan 1 ml supernatan dan 1 ml larutan sodium karbonat (NaCO_3) 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 :

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

Produksi VFA total dianalisis dengan teknik destilasi uap (*steam distillation*) (AOAC, 1995). 5 ml larutan supernatan dimasukkan ke dalam tabung suling khusus, kemudian ditambahkan 1 ml H_2SO_4 15%. Tabung suling dimasukkan ke dalam labu suling berisi akuades 600 ml yang telah dihubungkan dengan pendingin Leibig dan dilakukan destilasi. Hasil destilasi ditangkap dalam erlenmeyer yang telah berisi 5 ml NaOH 0,5 N. Destilasi dihentikan apabila volume penangkap mencapai 100 ml, kemudian ditambahkan 2 – 3 tetes indikator PP 1% dan dilanjutkan titrasi dengan HCl 0,5 N sampai terjadi perubahan warna. Larutan blangko dibuat dengan menggunakan 5 ml NaOH 0,5 N yang telah diberi indikator PP 1% kemudian dilakukan titrasi dengan HCl 0,5 N. Perhitungan produksi VFA total :

$$\text{VFA total} = (\text{ml titran blangko} - \text{ml titran sampel}) \times \text{N HCl} \times 1000/5 \text{ mM}$$

Produksi protein total dianalisis dengan menggunakan metode Kjeldahl (AOAC, 1999). Cairan rumen diendapkan dengan cara menambahkan 5 ml *trichloroacetic acid* (TCA) 20% dan 5 ml *sulphosalicylic acid* (SSA) 2% lalu didiamkan selama 24 jam. Endapan dipisah dengan cara melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 - 15 menit, lalu endapan disaring dengan kertas saring yang telah disterilisasi dalam oven selama 1 jam pada suhu 105° C. Kertas saring dan endapan dioven selama 12 jam untuk menghilangkan kadar airnya kemudian ditimbang. Endapan dan kertas saring dimasukkan ke dalam labu destruksi, selanjutnya ditambahkan 10 ml asam sulfat pekat dan katalisator selenium 1 g. Destruksi dilakukan sampai warna larutan menjadi hijau jernih. Hasil destruksi didinginkan, kemudian dilakukan destilasi dengan ditambahkan 70 ml akuades dan 60 ml NaOH 45%. Hasil destilasi ditangkap dengan 20 ml H₃BO₃ 4% yang ditambahkan dengan 2 tetes indikator MR + MB 1%. Destilasi dihentikan setelah terjadi perubahan warna penangkap ungu menjadi hijau. Hasil destilasi kemudian dititrasi dengan menggunakan HCl 0,1 N sampai terbentuk warna ungu kembali. Blangko dibuat dengan mendestilasi 50 ml akuades dan 60 ml NaOH 45 % dengan penangkap 20 ml H₃BO₃ 4% yang sudah ditambahkan dengan 2 tetes indikator MR + MB 1% kemudian dititrasi. Perhitungan produksi protein total :

$$\text{Protein total} = \frac{\{(\text{ml HCl titran} - \text{ml HCl blanko}) \times \text{N HCl} \times 14 \times 6,25\} \text{ mg/g}}{\text{berat sampel (g)}}$$

3.3. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 4 ulangan. Perlakuan yang diterapkan yaitu pemberian pakan dengan level NDF berbeda dan probiotik isi rumen kerbau serta pakan tanpa probiotik isi rumen kerbau sebagai perlakuan kontrol. Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian yaitu :

T0 = NDF 25% tanpa isi rumen kerbau

T1 = NDF 25% dan isi rumen kerbau 5%

T2 = NDF 30% dan isi rumen kerbau 5%

T3 = NDF 35% dan isi rumen kerbau 5%

T4 = NDF 40% dan isi rumen kerbau 5%

3.4. Analisis Data

Variabel yang diamati yaitu produksi NH_3 , VFA total dan protein total. Data hasil pengamatan diolah secara statistik dengan analisis ragam (Anova). Apabila pada analisis ragam terdapat pengaruh perlakuan ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Harsojuwono *et al.*, 2011).

3.4.1. Model linier

Model linier aditif untuk rancangan acak lengkap (RAL) adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

Y_{ij} = Produksi NH_3 , VFA total dan protein total domba balibul ke-j yang memperoleh perlakuan pakan komplit ke-i

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) produksi NH_3 , VFA total dan protein total domba balibul

τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan pakan komplit ke-i

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada domba balibul ke-j yang memperoleh perlakuan pakan komplit ke-i

3.4.2. Hipotesis

Hipotesis yang akan diuji dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

H_0 = $\tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = \tau_3$; berarti tidak ada pengaruh pakan dengan level NDF berbeda dan probiotik isi rumen kerbau terhadap produksi NH_3 , VFA total dan protein total domba Balibul.

H_1 ; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$; berarti minimal ada satu pengaruh pakan dengan level NDF berbeda dan probiotik isi rumen kerbau terhadap produksi NH_3 , VFA total dan protein total domba Balibul.