

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian mengenai suplementasi tepung daun katuk, jintan hitam dan S-proteinat secara *in vitro* dilaksanakan pada Januari - Juni 2019 di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian menggunakan materi dan metode sebagai berikut.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tepung daun katuk, tepung jintan hitam, sulfur proteinat yang mengandung 21% sulfur dan cairan rumen sapi perah betina afkir. Bahan yang digunakan pada metode *in vitro* meliputi cairan rumen, lartan McDougall dan gas CO₂. Ransum yang digunakan pada penelitian sama dengan ransum yang digunakan di KTT Susu Makmur, Getasan. Alat yang digunakan pada pembuatan tepung daun katuk dan jintan hitam adalah *grinder* tipe *disk mill* dan *blender*. Alat yang digunakan untuk mengambil cairan rumen meliputi termos 500 ml, corong, termometer dan kain untuk menyaring isi rumen. Alat yang digunakan pada metode *in vitro* adalah tabung fermentor, penutup karet, *waterbath*, gelas ukur, sentrifuge, spluit dan timbangan analitik. Analisis VFA parsial dilakukan menggunakan seperangkat alat gas kromatografi. Ransum kontrol menggunakan perbandingan hijauan dan konsentrat 60:40. Kandungan nutrisi bahan pakan yang digunakan ditampilkan

pada Tabel 1, perhitungan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Bahan Pakan

Bahan Pakan	BK	Abu	PK	LK	SK	BETN ^a	TDN ^b
	------(%)-----						
Rumput Gajah	15,76	14,51	6,94	0,13	42,44	35,98	43,85
Konsentrat	82,53	5,32	15,74	4,65	4,65	48,09	66,88
T. Daun Katuk	85,57	10,20	24,59	2,76	29,36	33,09	53,77
Jintan Hitam	92,18	3,84	20,39	28,82	22,92	24,03	88,67
Sulfur Proteinat	88,68	58,10	14,36	0,41	9,06	18,07	32,27

Keterangan :Rumus perhitungan menurut Anggorodi (1995)

$$^a\text{BETN} = 100 \% - (\% \text{ abu} + \% \text{ PK} + \% \text{ LK} + \% \text{ SK})$$

Rumus perhitungan menurut Sutardi (2001)

$$^b\text{TDN Rumput gajah (SK}>18\% \text{ dan PK}<20\%)$$

$$= 70,6 + (0,259 \times \text{PK}) + (1,01 \times \text{LK}) - (0,76 \times \text{SK}) + (0,0991 \times \text{BETN})$$

$$^b\text{TDN Konsentrat dan sulfur proteinat (SK}<18\% \text{ dan PK}<20\%)$$

$$= 2,79 + (1,17 \times \text{PK}) + (1,74 \times \text{LK}) - (0,295 \times \text{SK}) + (0,810 \times \text{BETN})$$

$$^b\text{TDN Tepung daun katuk dan jintan hitam (SK}>18\% \text{ dan PK}>20\%)$$

$$= 3,17 + (0,640 \times \text{PK}) + (2,08 \times \text{LK}) - (0,0675 \times \text{SK}) + (0,940 \times \text{BETN})$$

Tabel 2. Kandungan Sulfur dan Fitokimia dalam Bahan Pakan

Bahan Pakan	Sulfur	Alkaloid	Flavonoid
	------(%)-----	-----(\(\mu\text{g/g}\))-----	------(%)-----
Rumput Gajah	0,093		
Konsentrat	0,090		
Daun Katuk	0,331	468,49	1,39
Jintan Hitam	0,186	1336,57	1,58
Sulfur Proteinat	21		

3.2. Metode

3.2.1.Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 ulangan.

Perlakuan meliputi :

T0 = ransum kontrol

T1 = ransum kontrol + kombinasi herbal (tepung daun katuk 0,5 % BK pakan dan tepung jintan hitam 0,5 % BK pakan).

T2 = ransum kontrol + sulfur proteinat 0,25 % BK pakan.

T3 = ransum kontrol + kombinasi herbal (tepung daun katuk 0,5 % BK pakan dan tepung jintan hitam 0,5 % BK pakan) dan sulfur proteinat 0,25 % BK pakan

Tabel 3. Hasil Analisis Proksimat Pakan Perlakuan

Bahan Pakan	T0	T1	T2	T3
Komposisi	----- (% BK) -----			
Rumput Gajah	66,75	65,87	65,96	65,19
Konsentrat	33,25	33,32	33,36	33,47
Daun Katuk	-	0,39	-	0,32
Jintan Hitam	-	0,42	-	0,42
Sulfur Proteinat	-	-	0,68	0,60
Jumlah	100	100	100	100
Kandungan Nutrien				
Abu (%)	12,18	12,08	13,25	12,97
PK (%)	9,50	10,78	10,04	11,61
LK(%)	0,94	1,37	1,47	1,13
SK (%)	39,66	39,78	37,56	38,86
BETN (%)*	35,61	36,73	36,94	37,54
TDN (%)**	47,94	47,99	49,93	48,39
S (%)	0,356	0,358	0,373	0,373

Keterangan : * Anggorodi (1995)) (BETN = 100 % - (% abu + % PK + % LK + % SK))

** Sutardi *et al.*, (2001) (TDN = 70,6 + 0,259 PK + 1,01 LK - 0,76 SK + 0,0991 BETN)

Kombinasi tepung herbal dan sulfur proteinat yang ditambahkan ke dalam tabung fermentor adalah 0,0025 g dan 0,0012 g. Penambahan ekstrak diperoleh dari dosis 0,5% dan 0,25% BK, dengan kebutuhan BK pakan 3% dan bobot sapi

400 kg. Perhitungan perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 3. Komposisi dan hasil analisis proksimat ransum perlakuan yang digunakan ditampilkan pada Tabel 3.

3.2.3. Pelaksanaan penelitian

Cairan rumen diambil dari sapi perah afkir yang dipotong di RPH Penggaron, Semarang. Termos disiapkan dan diisi air dengan suhu 39-40 °C diukur menggunakan thermometer, kemudian air dalam termos dibuang dan termos dikondisikan dalam suhu 39 °C. Isi rumen dari sapi perah yang telah dipotong diambil dan diletakkan pada kain kasa. Kain kasa kemudian diperas diatas corong yang telah tersambung dengan termos untuk kemudian disimpan dalam suhu 39°C.

Percobaan *in vitro* dilakukan sesuai dengan metode Tilley dan Terry (1963) yaitu *bath culture*. Metode ini diawali dengan sampel masing-masing perlakuan sejumlah 0,5 g, dimasukkan ke dalam tabung fermentor. Langkah selanjutnya adalah penambahan sebanyak 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen ke dalam tabung fermentor, kemudian dialiri CO₂ agar suasana dalam tabung fermentor menjadi *anaerob*. Tabung fermentor ditutup rapat menggunakan penutup karet. Tabung fermentor dimasukkan ke dalam waterbath dengan suhu 39°C dan diinkubasi selama 3 jam. Setelah diinkubasi selama 3 jam, tabung fermentor diangkat dari inkubator dan dimasukkan kedalam baskom berisi air es selama 15 menit untuk menghentikan proses fermentasi. Sampel kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Sampel yang mengendap dibuang dan supernatan diambil sebanyak 5 ml.

Pengukuran konsentrasi asam asetat, propionat dan butirrat dilakukan dengan alat yaitu *gas chromatography*. Sampel supernatan dimasukkan dengan menggunakan microsyringe sebanyak 1µm. Suhu injeksi port diatur pada suhu 240 °C, suhu kolom diatur pada 145 °C, dan suhu detektor diatur pada 240 °C. Gas pembawa yang digunakan adalah helium yang terhubung ke injeksi port yang berfungsi untuk memasukkan sampel. Injeksi port yang terhubung ke kolom jenis kapiler akan terhubung ke detektor dan membentuk kromatogram. Konsentrasi VFA parsial dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Asetat, Propionat, Butirat (mM)} = \frac{\text{area sampel}}{\text{area standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

Gas Metan (CH₄), diperoleh dari perhitungan/pendugaan berdasarkan konsentrasi VFA parsial menurut Ørskov dan Ryle (1990), yaitu :

$$M = 0,5 a - 0,25 p + 0,5 b$$

Keterangan :

a : konsentrasi asetat

b : konsentrasi butirrat

p : konsentrasi propionate

Efisiensi konversi heksosa, diperoleh dari perhitungan/pendugaan berdasarkan konsentrasi VFA parsial menurut Ørskov dan Ryle (1990), yaitu :

$$E = \frac{0,622 pa + 1,092 pp + 1,560 pb}{pa + pp + 2pb}$$

Keterangan :

pa : proporsi asetat

pb : proporsi butirrat

pp : proporsi propionat

3.2.5. Analisis data

Penelitian ini dilakukan berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 ulangan dengan persamaan linier sebagai berikut :

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

Keterangan :

i = perlakuan (1,2,3,4)

j = ulangan (1,2,3,4)

Y_{ij} = Hasil pengamatan dari peubah perlakuan ke- i ulangan ke- j

μ = Nilai tengah umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke- i (1,2,3,4)

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

Hipotesis statistiknya adalah :

$H_0 : \tau_i = 0$; Tidak ada pengaruh yang berbeda nyata pada pemberian

perlakuan terhadap konsentrasi VFA parsial, produksi gas metan dan efisiensi konversi heksosa.

$H_1 : \tau_i \neq 0$; Paling tidak ada satu perlakuan yang memiliki pengaruh berbeda

nyata terhadap konsentrasi VFA parsial, produksi gas metan dan efisiensi konversi heksosa.

Kriteria pengambilan keputusan :

$F_{hitung} < F_{tabel}$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

$F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Data yang diperoleh diuji ANOVA dengan tingkat signifikan pada taraf 5 % menggunakan aplikasi SPSS versi 22, untuk mengetahui pengaruh perlakuan

terhadap parameter yang diuji. Uji ANOVA akan dilanjutkan dengan uji Duncan, apabila uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh pada perlakuan.