

BAB I

PENDAHULUAN

Peternakan di Indonesia memiliki peranan yang sangat penting dalam memenuhi kebutuhan pangan bagi masyarakat, khususnya kebutuhan protein hewani yang berasal dari daging. Sumber daging dapat diperoleh dari ternak potong seperti sapi, kerbau, domba dan kambing. Domba merupakan salah satu ternak potong kategori ruminansia kecil yang banyak dipelihara oleh masyarakat. Pemilihan ternak domba didasarkan karena kemudahan dalam perawatan ternak, tingkat adaptasi dengan lingkungan tinggi dan cepat berkembang biak (Azzahra *et al.*, 2022). Sebagian besar domba di Indonesia memiliki produktivitas yang rendah. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor meliputi bibit, pakan dan manajemen. Pakan menjadi salah satu aspek penting dalam pemeliharaan karena dibutuhkan oleh tubuh ternak untuk keperluan produksi, pertumbuhan, reproduksi dan hidup pokok. Agustuno *et al.* (2017) menyatakan bahwa 60-70% dari keseluruhan biaya operasional peternakan dialokasikan ke pakan ternak, sehingga perlu diperhatikan kualitas maupun kuantitasnya.

Domba bawah lima bulan (balibul) memiliki saluran pencernaan yang belum berkembang secara sempurna sehingga sejak dini perlu dikenalkan dengan pakan kasar. Pakan ternak ruminansia dapat berasal dari hijauan dan konsentrat. Pemenuhan nutrisi hijauan pada ternak dapat bersumber dari rumput odot. Nutrien yang terkandung pada rumput odot yaitu BK 16,59%, abu 17,19%, PK 12,72%, SK 32,35%, LK 2,28% dan BETN 35,46% (Wati *et al.*, 2018). Kandungan PK pada

rumput odot lebih tinggi dibandingkan dengan rumput gajah. Sebaiknya ternak diberikan pakan rumput odot yang masih muda dengan umur pemanenan 40 hari pada musim penghujan dan 60 hari pada musim kemarau (Wijaya *et al.*, 2019). Hijauan dengan umur tua memiliki batang yang keras dan mengalami penurunan kandungan nutrisi berupa berkurangnya kadar PK serta peningkatan kadar SK (Tantalo *et al.*, 2019). Hal ini mengakibatkan hijauan tua lebih sulit dicerna oleh tubuh ternak dibanding hijauan muda.

Proses fermentatif pakan hijauan yang mengandung serat kasar tinggi pada domba usia muda tidak berjalan secara optimal karena kapasitas dan fungsi rumen yang masih terbatas. Proses fermentatif dalam rumen bergantung pada mikroba rumen. Namun demikian, jumlah mikroba rumen pada domba muda masih berjumlah sedikit. Solusi dari kondisi tersebut, domba perlu diberikan tambahan probiotik. Probiotik dapat diperoleh secara mudah dengan memanfaatkan isi rumen kerbau yang biasanya menjadi limbah pada saat proses pemotongan ternak. Jabari *et al.* (2014) menyatakan bahwa isi rumen kerbau memiliki jumlah mikroba lebih banyak dibandingkan isi rumen sapi. Isi rumen kerbau memiliki kandungan bakteri selulolitik sebesar $6,86 \times 10^8$ CFU/ml sedangkan isi rumen sapi hanya $2,58 \times 10^8$ CFU/ml (Pradhan, 1994). Hal ini menjadikan isi rumen kerbau cocok digunakan sebagai probiotik pada analisis pencernaan secara *in vitro*. Penelitian yang dilakukan oleh Sutrisno *et al.* (2020) menunjukkan domba balibul mencapai performa optimal dengan penggunaan probiotik isi rumen kerbau sebanyak 5%.

Ternak memerlukan mineral untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan mikroba rumen yang berperan penting dalam proses pencernaan.

Akan tetapi keberadaan mineral pada pakan, khususnya hijauan di wilayah tropis seringkali mengalami defisiensi (Metri dan Elmiati, 2022). Kekurangan maupun kelebihan suplai mineral akan berdampak negatif bagi tubuh ternak yaitu mengakibatkan gangguan pada proses metabolisme sehingga terjadi penurunan reproduksi dan pertumbuhan ternak (Beninda *et al.*, 2024). Oleh sebab itu, pakan perlu diberikan tambahan mineral agar kebutuhan ternak akan mineral terpenuhi. Mikroba rumen membutuhkan ketersediaan unsur nitrogen (N) maupun mineral yang berasal sulfur (S) dan fosfor (P) (Sani *et al.*, 2016).

Nitrogen biasanya dapat berasal dari urea $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$. Urea yang dikonsumsi oleh ternak akan dihidrolisis menjadi amonia yang merupakan sumber nitrogen bagi mikroba rumen (Jasmine dan Marjuki, 2022). Sumber sulfur dapat berasal dari amonium sulfat $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$. Sulfur berguna dalam proses sintesis protein mikroba, sintesis asam amino yang mengandung sulfur (sistin, sistein, metionin) dan sintesis vitamin (biotin dan tiamin) (Zain *et al.*, 2024). Raja *et al.* (2021) menyatakan bahwa fosfor diperlukan oleh mikroba rumen untuk mengirimkan informasi genetik (DNA dan RNA). Mikroba pada rumen juga membutuhkan fosfor untuk transfer energi seperti ATP, ADP, AMP dan kreatin fosfat. Sumber fosfor dapat diperoleh dari sodium bifosfat $(\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O})$.

Mikroba rumen membutuhkan karbohidrat sebagai sumber karbon dan energi yang akan digunakan dalam proses sintesis protein (Nisa *et al.*, 2017). Sumber karbohidrat yang cepat/mudah menjadi sumber karbon dan energi untuk mikroba rumen adalah karbohidrat non struktural yang mudah larut di rumen dapat berasal dari *readily available carbohydrate* (RAC). Salah satu sumber RAC

diantaranya tepung gaplek. Karbohidrat yang terdapat pada tepung gaplek berupa pati. Penelitian yang dilakukan oleh Hartanti *et al.* (2017) menunjukkan bahwa tepung gaplek memiliki kadar pati yang cukup tinggi, yaitu sebesar 83,77-87,45%. Sintesis protein mikroba rumen akan berjalan secara optimal jika ketersediaan protein dan energi berada dalam jumlah yang seimbang (Barlian *et al.*, 2020). Apabila jumlah energi lebih besar dibanding N-protein akan mengakibatkan fermentasi dan pertumbuhan mikroba rumen menurun, sedangkan degradasi pakan yang baik ditandai dengan produksi protein mikroba yang melimpah. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian RAC sebagai sumber energi pada pakan diharapkan akan meningkatkan pencernaan pakan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penggunaan berbagai level tepung gaplek pada pakan rumput odot yang ditambahkan probiotik isi rumen kerbau dan diperkaya unsur N, S, P terhadap KcLK, KcPK dan KcSK pada domba balibul secara *in vitro*. Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan mampu memberikan informasi mengenai kontribusi pakan dan jumlah level optimal tepung gaplek pada pakan rumput odot yang ditambahkan probiotik isi rumen kerbau dan diperkaya unsur N, S, P terhadap KcLK, KcPK dan KcSK pada domba balibul secara *in vitro*. Hipotesis dari penelitian ini yaitu penambahan tepung gaplek pada pakan rumput odot yang ditambahkan probiotik isi rumen kerbau dan unsur N, S, P diduga dapat meningkatkan KcLK, KcPK dan KcSK pada domba balibul secara *in vitro*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Domba

Domba merupakan salah satu ruminansia kecil yang dapat ditenakan dengan sistem ekstensif maupun intensif (Hamdani *et al.*, 2018). Produk domba yang biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat berupa daging, wol dan susu (Mazinani dan Rude, 2020). Domba lokal yang banyak dikembangkan di Indonesia dibagi menjadi dua kelompok yaitu domba ekor gemuk (DEG) dan domba ekor tipis (DET) (Jarmuji, 2014). Taksonomi domba lokal menurut Blakely dan Bade (1985) sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Chordata*
Class : *Mammalia*
Ordo : *Artiodactyla*
Family : *Bovidae*
Genus : *Ovis*
Species : *Ovis aries*

Keunggulan dalam beternak domba yaitu berukuran kecil sehingga menghemat lahan, cepat mencapai pubertas dan dalam waktu 2 tahun dapat beranak 3 kali (Rusdiana dan Praharani, 2015). Domba juga bersifat prolifik (tiap kelahiran dapat menghasilkan >1 ekor) dan mudah beradaptasi dengan lingkungan sekitar (Wijaya *et al.*, 2016). Faktor-faktor yang memiliki peranan penting dalam

keberhasilan pemeliharaan domba meliputi aspek bibit, aspek manajemen dan aspek pakan (Mangisah *et al.*, 2015).

Domba bawah lima bulan (balibul) memiliki saluran pencernaan yang berada tahap perkembangan sehingga kinerja rumen belum optimal dalam mencerna pakan (Amalia *et al.*, 2019). Rumen domba mengalami 3 fase perkembangan yaitu fase non ruminansia (0 – 3 minggu), fase transisi (3 – 8 minggu) dan fase ruminansia (>8 minggu) (Jiao *et al.*, 2015).

2.2. Rumput Odot (*Pennisetum purpureum* cv. Mott)

Rumput odot merupakan salah satu varietas dari rumput gajah yang dibudidayakan oleh masyarakat untuk digunakan sebagai pakan ternak ruminansia (Sholikah *et al.*, 2021). Rumput odot dikembangkan pertama kali oleh Bapak Odot (peternak kambing PE) di Tulungagung, Jawa Timur (Sirait, 2017). Nama lain rumput odot yaitu rumput gajah kate karena berukuran lebih kecil daripada rumput gajah (Kaca *et al.*, 2017). Taksonomi rumput odot menurut Ojo *et al.* (2022) sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Sub-kingdom : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Subdivision : *Spermatophyta*

Class : *Liliopsida-monocotyledons*

Sub-class : *Commelinidae*

Ordo : *Poales*

Family : *Poaceae*
Subfamily : *Panicoideae*
Tribe : *Paniceae*
Genus : *Pennisetum*
Species : *P. purpureum* cv. Mott



Ilustrasi 1. Rumput Odot (Sudarma dan Pati, 2023)

Karakteristik rumput odot yaitu memiliki ukuran yang lebih pendek dibandingkan rumput gajah, batang tergolong lunak, daun lembut dan tidak berbulu (Tumanggor *et al.*, 2022). Rumput odot memiliki beberapa keunggulan meliputi produktivitas tinggi, dapat hidup dalam segala jenis kondisi seperti tanah yang kering dan disukai oleh ternak (Kusuma, 2021). Kandungan nutrisi pada rumput odot diantaranya BK 16,59%, abu 17,19%, PK 12,72%, SK 32,35%, LK 2,28% dan BETN 35,46% (Wati *et al.*, 2018). Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan rumput odot antara lain bibit, kondisi tanah, pemupukan, cahaya dan manajemen pemeliharaan (Wijayanti dan Sukarini, 2022).

Rumput odot dapat ditanam dengan menggunakan pola monokultur maupun tumpangsari (Kaca *et al.*, 2019). Pemanenan rumput odot dapat dilakukan saat umur 60 hari dengan menyisakan rumput 10 – 15 cm dari permukaan tanah agar memicu

munculnya anakan baru (Aini *et al.*, 2022). Pemotongan rumput pada umur tua akan menghasilkan produksi tinggi, tetapi kualitas pakan menjadi rendah karena kadar SK meningkat dan kadar PK menurun (Sawen *et al.*, 2020).

2.3. Probiotik Isi Rumen Kerbau

Probiotik merupakan imbuhan pakan yang berasal dari mikroorganisme hidup yang bermanfaat untuk menyeimbangkan mikroba pada saluran pencernaan (Bidarkar *et al.*, 2014). Salah satu syarat menjadi probiotik yaitu dapat bertahan pada kondisi anaerob (Suardana *et al.*, 2017). Kriteria lain yang harus dimiliki oleh probiotik yaitu tidak patogen (Alang *et al.*, 2020). Keuntungan dari penggunaan probiotik meliputi mengoptimalkan produktivitas ternak, meningkatkan imun, memaksimalkan efisiensi pencernaan pakan hijauan, mencegah asidosis dan mengurangi tingkat morbiditas maupun mortalitas (Retta, 2016).

Probiotik dapat berasal dari isi rumen ternak ruminansia seperti kerbau, sapi, kambing dan domba (Arizka *et al.*, 2022). Total mikroorganisme yang terkandung di dalam isi rumen kerbau sebanyak $3,74 \times 10^7$ CFU/ml (Lampiran 1). Mikroba yang terkandung di dalam rumen kerbau dibagi menjadi 3 jenis meliputi bakteri, protozoa dan fungi (Yasin *et al.*, 2021). Bakteri yang terdapat dalam isi rumen kerbau yaitu proteolitik, selulolitik dan amilolitik (Yurleni *et al.*, 2013). Jumlah mikroba selulolitik pada rumen kerbau lebih banyak dibandingkan dengan ternak ruminansia lainnya (Iqbal *et al.*, 2018). Bakteri selulolitik pada isi rumen kerbau sebesar $6,86 \times 10^8$ CFU/ml sedangkan isi rumen sapi hanya memiliki bakteri selulolitik sebanyak $2,58 \times 10^8$ CFU/ml (Pradhan, 1994).

2.4. Unsur Nitrogen, Sulfur dan Fosfor

Mikroba rumen membutuhkan unsur nitrogen, sulfur dan fosfor (N, S, P) (Suryani *et al.*, 2015). Unsur N berfungsi untuk sintesis asam amino dan protein mikrobial. Sumber N dapat diperoleh dari protein maupun dari urea [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$] (Ma *et al.*, 2019). Kandungan N yang terdapat pada urea sebesar 46% (Mulyadi *et al.*, 2018). Berat keseluruhan molekul N pada urea sebesar 28 g/mol. Urea termasuk nitrogen non protein (NPN) yaitu nitrogen yang tidak berasal dari senyawa protein (Sumadi *et al.*, 2017). Nitrogen non protein dapat digunakan oleh mikroba rumen untuk mensintesis protein mikroba rumen (Saputro *et al.*, 2016).

Sulfur (S) dapat dimanfaatkan oleh mikroba rumen untuk membentuk asam amino yang mengandung S seperti sistin, sistein maupun metionin (Adhianto *et al.*, 2019). Pemberian sulfur mampu meningkatkan aktivitas mikroba rumen terutama bakteri selulolitik (Akinlode dan Ososanya, 2019). Bakteri-bakteri selulolitik akan menghasilkan enzim selulase yang dapat dimanfaatkan untuk memecah kandungan serat kasar menjadi komponen yang lebih sederhana (Moningkey *et al.*, 2016). Sulfur dapat diperoleh dari amonium sulfat [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$]. Berat molekul S pada amonium sulfat sebesar 32 g/mol (Habtegebrial *et al.*, 2013).

Fosfor (P) menjadi komponen penyusun dari senyawa energi seperti *adenosine triphosphate* (ATP) dan *adenosine diphosphate* (ADP) (Roy *et al.*, 2013). Mikroba rumen membutuhkan P untuk membentuk asam nukleat berupa *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan *ribonucleic acid* (RNA) (Jasim *et al.*, 2015). Fosfor dapat menjadi *buffer* di dalam rumen sehingga kinerja mikroba rumen menjadi optimal (Wilkins dan Banse, 2020). Fosfor dapat berasal dari sodium

bifosfat [$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$]. Berat molekul unsur P pada sodium bifosfat sebesar 31 g/mol (Putri *et al.*, 2018).

2.5. Tepung Gaplek

Readily available carbohydrate (RAC) merupakan karbohidrat yang mudah didegradasi dalam rumen, sehingga dapat mempersingkat dalam menyediakan asam α -keto sebagai sumber kerangka karbon untuk proses sintesis protein mikroba (Rahayu *et al.*, 2018). Sumber RAC dapat berasal dari tepung gaplek maupun molasses (Amrullah *et al.*, 2015). Tepung gaplek merupakan salah satu sumber RAC yang berperan dalam meningkatkan suplai energi pada mikrobia rumen, mempercepat laju pertumbuhan mikrobia, aktivitas metabolisme mikrobia dan laju degradasi substrat yang dilakukan oleh mikrobia rumen (Nuswantara *et al.*, 2021).

Tepung gaplek berasal dari ketela yang telah dikeringkan, lalu dilakukan penggilingan (Asmoro, 2021). Kandungan nutrisi pada tepung gaplek yaitu PK 3,31%, SK 1,74% dan BETN 93,29% (Desnita *et al.*, 2015). Tepung gaplek memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi sehingga terjadi peningkatan degradasi di dalam rumen apabila diiringi dengan terpenuhinya sumber N pada pakan (Prasetyo *et al.*, 2019).

2.6. Metode *In Vitro*

Pengukuran pencernaan pada ternak dapat dilakukan dengan metode *in vitro*, *in vivo* dan *in sacco* (Zakariah *et al.*, 2018). Metode *in vitro* merupakan metode yang meniru proses dan kondisi pencernaan pada ternak ruminansia dengan tujuan

untuk menduga pencernaan pakan (Mansay *et al.*, 2021). Prosedur *in vitro* dilakukan dalam dua tahap yaitu pencernaan fermentatif dan enzimatis, masing-masing tahap dilakukan selama 48 jam (Syafudin *et al.*, 2020). Tahap fermentatif merupakan tiruan dari proses pencernaan pada rumen yang melibatkan mikroba rumen. Tahap enzimatis merupakan tiruan dari proses pencernaan pasca rumen yang menggunakan pepsin HCl (Bahri *et al.*, 2022)

Keberhasilan dalam pelaksanaan metode *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya cairan rumen, saliva buatan, pencampuran pakan, suhu dan prosedur kerja (Aprianto *et al.*, 2016). Faktor-faktor lain yang ikut berperan dalam uji *in vitro* meliputi kondisi anaerob dan pH 6-7 (Zuratih *et al.*, 2020). Keunggulan dari metode *in vitro* yaitu dapat menguji banyak sampel dalam waktu bersamaan, waktu pelaksanaan lebih singkat dan menghemat biaya (Saputra *et al.*, 2019). Kekurangan dari metode *in vitro* berupa tidak dapat mengetahui respon ternak seperti tingkat palatabilitas maupun konsumsi pakan karena tidak diujikan secara langsung kepada ternak (Muchlas *et al.*, 2014).

2.7. Kecernaan Lemak Kasar (KcLK)

Lemak tersusun dari unsur karbon, hidrogen dan oksigen (Kefe *et al.*, 2020). Lemak berperan sebagai penghasil energi yang lebih besar dibandingkan sumber energi lain seperti protein maupun karbohidrat (Wina dan Susana, 2013). Energi yang berasal dari lemak 2,25 kali lebih tinggi dibandingkan dengan energi dari karbohidrat (Nawaz dan Ali, 2016). Pakan sumber energi yang dapat dikonsumsi oleh ternak ruminansia antara lain ubi kayu, jagung dan dedak padi (Sanan, 2018).

Pencernaan pakan di dalam rumen akan terganggu apabila ternak mengkonsumsi pakan yang mengandung lemak >5% (Faradilla *et al.*, 2019). Pemberian lemak kasar dalam jumlah tinggi akan berdampak negatif terhadap nilai pencernaan serat kasar karena lemak dapat melapisi serat sehingga mikroba rumen tidak dapat memecah serat (Suharti *et al.*, 2018). Lemak memiliki struktur kimia yang lebih mudah dicerna dibandingkan dengan protein, sehingga nilai pencernaan lemak kasar biasanya lebih tinggi dibandingkan dengan pencernaan protein kasar (Wiseman, 1990).

2.8. Kecernaan Protein Kasar (KcPK)

Protein merupakan senyawa organik dengan bobot molekul tinggi yang tersusun dari unsur C, H, O dan N (Ndaru *et al.*, 2021). Contoh pakan sumber protein meliputi legum, bungkil kedelai dan tepung ikan (Periambawe *et al.*, 2016). Nilai pencernaan akan meningkat apabila ternak mengkonsumsi pakan dengan kandungan protein yang tinggi (Sauri *et al.*, 2022). Protein akan dirombak oleh mikroba rumen menjadi amonia yang dapat digunakan untuk sintesis protein mikroba (Sairullah *et al.*, 2016).

Domba memerlukan protein sebesar 6,27-6,47 g/kg bobot badan metabolik/hari (BBM/hari) untuk memenuhi hidup pokok dan membutuhkan 0,295-0,497 g/g PBB untuk pertumbuhan (Jayanegara *et al.*, 2017). Pemberian pakan yang rendah protein akan mengakibatkan produktivitas ternak tidak optimal, sedangkan jumlah protein yang berlebihan akan menimbulkan kerugian karena alokasi biaya pakan meningkat (Sukmawan *et al.*, 2014). Faktor-faktor yang

mempengaruhi kebutuhan protein ternak meliputi umur, *body condition score* (BCS), imbang protein energi dan fase fisiologis (Rochana *et al.*, 2020).

2.9. Kecernaan Serat Kasar (KcSK)

Serat kasar memiliki komponen yang tersusun dari lignin, selulosa dan hemiselulosa (Pasaribu dan Praptiwi, 2014). Keberadaan lignin tidak dapat dicerna sehingga akan menurunkan kecernaan karena berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa (Hernaman *et al.*, 2017). Berbeda dengan selulosa dan hemiselulosa yang mudah dicerna sehingga akan dimanfaatkan oleh mikroba rumen untuk dijadikan sumber energi berupa *volatile fatty acids* (VFA) (Nuraeni *et al.*, 2019).

Ruminansia tidak dapat memanfaatkan serat kasar secara keseluruhan, sehingga 20-70% dari serat kasar yang telah dikonsumsi akan ditemukan di feses (Kimmang *et al.*, 2022). Ternak ruminansia memanfaatkan serat kasar sebagai sumber energi utama bagi tubuh ternak (Sagito *et al.*, 2022). Serat kasar memiliki hubungan negatif dengan kecernaan, sehingga pakan yang mengandung serat kasar dalam jumlah tinggi akan menyebabkan KcSK menjadi rendah (Kaleka *et al.*, 2021). Konsumsi pakan dengan kadar serat tinggi juga dapat menurunkan laju degradasi pakan (Yahya *et al.*, 2023). Nilai KcSK ditentukan oleh komponen penyusut serat, aktivitas mikroba rumen dan kadar SK pakan (Faotlo *et al.*, 2018).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2021 – April 2022. Tempat analisis proksimat dan analisis pencernaan (KcLK, KcPK, KcSK) secara *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu rumput odot. Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain pisau, grinder, blender, terpal, kain penyaring, termos, *waterbath*, tabung fermentor, tutup tabung, rak tabung, *magnetic stirrer*, kompor listrik, pompa vakum, *centrifuge*, oven, tanur, desikator, pinset, *crucible porcelaine*, timbangan analitik, labu destruksi, erlenmeyer, gelas ukur, *beaker glass*, buret, corong, labu destilasi, Soxhlet dan kawat kasa.

Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu sumber RAC dari tepung gaplek, isi rumen kerbau yang berasal dari RPH Kudus, cairan rumen domba balibul berasal dari RPH Boestaman Semarang, sumber N dari urea $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$, sumber S dari amonium sulfat $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, sumber P dari sodium bifosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), CO_2 , es batu, McDougall, pepsin HCl, H_2SO_4 0,3 N, NaOH 1,5 N, alkohol 70%, akuades, N-hexane, H_2SO_4 pekat, H_3BO_3 4%, katalisator (campuran potasium sulfat dan kupri sulfat), kertas saring Whatman Nomor 41, kertas saring, indikator (*methyl red + bromocressol green*), kertas minyak, NaOH 45% dan HCl 0,1 N.

3.2. Metode

Metode penelitian dibagi menjadi beberapa tahap meliputi rancangan penelitian, tahapan persiapan dan tahapan pelaksanaan (analisis *in vitro*) serta analisis data secara statistik.

3.2.1. Rancangan penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diterapkan yaitu:

T0 = Rumput odot + probiotik isi rumen kerbau 5% + N, S, P + 0% tepung gaplek

T1 = Rumput odot + probiotik isi rumen kerbau 5% + N, S, P + 2,5% tepung gaplek

T2 = Rumput odot + probiotik isi rumen kerbau 5% + N, S, P + 5% tepung gaplek

T3 = Rumput odot + probiotik isi rumen kerbau 5% + N, S, P + 7,5% tepung gaplek

Parameter yang diukur dalam penelitian meliputi pencernaan lemak kasar, pencernaan protein kasar dan pencernaan serat kasar domba balibul yang diberikan pakan rumput odot yang ditambahkan probiotik isi rumen kerbau dan diperkaya unsur N, S, P serta disuplementasi tepung gaplek sebagai sumber RAC.

3.2.2. Tahap persiapan

Tahap persiapan diawali dengan penyediaan rumput odot, isi rumen kerbau, cairan rumen domba balibul, urea, amonium sulfat dan sodium bifosfat. Rumput odot dan isi rumen kerbau dijemur hingga kering selama 2 – 3 hari, lalu dihaluskan menggunakan *grinder*. Tepung hasil penggilingan selanjutnya disaring menggunakan ayakan berukuran 40 mesh agar semakin halus. Kemudian, rumput

odot dilakukan analisis proksimat (Lampiran 2) dan analisis pencernaan bahan organik untuk menentukan kebutuhan unsur N, S, P pada rumput. Perhitungan kebutuhan unsur N, S, P pada rumput odot berdasarkan pencernaan bahan organik yaitu :

Kebutuhan N = 29 g/kg bahan organik dapat dicerna (BOdd) (Bach *et al.*, 2005).

Kebutuhan S = 1,8 g/kg BOdd (Durand dan Komisarczuk, 1988)

Kebutuhan P = 5 g/kg BOdd (Durand dan Komisarczuk, 1988)

Rumput odot yang sudah dihaluskan lalu dibagi menjadi 4 bagian dan masing-masing ditambahkan isi rumen kerbau sebanyak 5% dari jumlah rumput odot. Campuran pakan ditambahkan unsur N, S, P dengan kadar yang sama sesuai dengan perhitungan (Lampiran 3) serta ditambahkan tepung gaplek dengan level berbeda (0%, 2,5%, 5% dan 7,5%). Setiap sampel dianalisis proksimat untuk mengetahui kandungan nutrisi yang dapat dilihat pada Tabel 1. Kemudian sampel dilakukan uji *in vitro* untuk mengetahui pencernaan lemak kasar, pencernaan protein kasar dan pencernaan serat kasar.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Pakan Perlakuan

Kandungan Nutrien	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Air (%)	12,15	12,42	12,70	13,36
Abu (%BK)	15,32	14,85	14,78	14,72
LK (%BK)	1,55	1,98	2,04	2,08
PK (%BK)	12,74	12,45	12,32	11,74
SK (%BK)	26,97	23,90	22,56	21,98
BETN (%BK)	43,42	46,82	48,30	49,48
TDN (%BK)	50,47	54,22	58,49	54,85

Sumber : Hasil analisis proksimat Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang (2021)

3.2.3 Analisis *in vitro*

Kecernaan secara *in vitro* dapat diukur menggunakan metode Tilley dan Terry (1963). Metode ini dilakukan dengan dua tahap yaitu pencernaan secara fermentatif dan enzimatis. Pencernaan fermentatif di dalam rumen diketahui dengan menimbang sampel sebanyak 0,55 – 0,56 g dan dimasukkan ke dalam tabung fermentor. Lalu ditambahkan dengan 40 ml larutan peyangga (McDougall) dan 10 ml cairan rumen. Tabung dialiri dengan gas CO₂ selama 10 – 20 detik agar menciptakan kondisi anaerob. Kemudian, tabung ditutup rapat menggunakan karet berventilasi. Blanko dibuat dengan cara yang sama tanpa diberi sampel ke dalam tabung fermentor. Tabung fermentor dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan air bersuhu 38 – 40°C. Proses inkubasi berlangsung selama 48 jam dan setiap 6 jam sekali dilakukan penggojokan yang bertujuan untuk *mixing* digesta dan menghomogenkan larutan. Setelah 48 jam, fermentasi dihentikan dengan memasukkan tabung fermentor ke dalam air es selama 10 – 15 menit. Residu dan cairan dipisahkan menggunakan alat *centrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 3.500 rpm. Cairan supernatan yang telah terpisah dengan residu, lalu dibuang hingga hanya menyisakan residu.

Proses enzimatis (*in vitro*) dilakukan dengan menambahkan 50 ml pepsin HCl 0,2% ke dalam residu hasil fermentasi. Kemudian, tabung fermentor dimasukkan kembali ke *waterbath* dengan air bersuhu 38 – 40°C. Tabung diinkubasi selama 48 jam dan setiap 6 jam sekali dilakukan penggojokan. Setelah 48 jam, proses enzimatis dihentikan dengan memasukkan tabung fermentor ke

dalam air es dan dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman Nomor 41 dan dibantu dengan pompa vakum untuk mempercepat penyaringan.

3.2.4. Analisis pencernaan lemak kasar (KcLK)

Kadar lemak kasar (LK) diukur dengan cara sampel ditimbang dan dibungkus dengan kertas saring, lalu dioven selama 6 jam pada suhu 105°C. Sampel yang telah dioven, kemudian didinginkan selama 15 menit di dalam desikator dan dilakukan penimbangan. Sampel dimasukkan ke dalam Soxhlet yang telah dituang N-hexane dan dilakukan penyarian selama 3 jam. Sampel dikeluarkan dari Soxhlet dan diangin-anginkan hingga tidak berbau N-hexane, selanjutnya sampel dioven selama 2 jam pada suhu 105°C. Sampel didinginkan ke dalam desikator selama 15 menit dan dilakukan penimbangan. Kadar LK dapat diperoleh dengan rumus (Wijiatmo *et al.*, 2019):

$$\%LK = \frac{\text{sampel stlh oven sbkm diekstraksi (g)} - \text{stlh oven stlh diekstraksi (g)}}{\text{berat sampel (g)} \times BK(\%)} \times 100\%$$

Perhitungan KcLK diperoleh dengan rumus (Silfiyani *et al.*, 2023):

$$KcLK = \frac{\text{berat LK pakan (g)} - (\text{berat LK residu (g)} - \text{berat LK blanko (g)})}{\text{berat LK pakan (g)}} \times 100\%$$

3.2.5. Analisis pencernaan protein kasar (KcPK)

Kadar protein kasar (PK) dihitung dengan cara memasukkan sampel ke dalam labu destruksi (Kjeldahl) dan ditambahkan dengan katalisator campuran (potasium sulfat 3,5 g dan kupri sulfat 0,4 g) serta ditambah dengan asam sulfat pekat 15 ml. Lalu, dilakukan destruksi di dalam almari asam hingga warna menjadi

hijau jernih dan didinginkan pada suhu ruang. Kemudian, dilakukan proses destilasi menggunakan penangkap H_3BO_3 4% sebanyak 20 ml dan diberikan 2 tetes indikator *methyl red + bromocressol green*. Sampel hasil destruksi dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan dengan 70 ml aquades dan 60 ml NaOH 45%. Setelah itu, lakukan destilasi hingga terjadi perubahan warna dari ungu menjadi hijau. Hasil destilasi dititrasi menggunakan HCl 0,1 N hingga menjadi warna ungu. Kadar protein kasar diperoleh dengan rumus (Darmawati *et al.*, 2015):

$$\text{Kadar PK} = \frac{\text{titran sampel (ml)} - \text{titran blanko (ml)} \times \text{N HCl} \times 0,014 \times 6,25}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

Perhitungan KcPK diperoleh dengan rumus (Rachmawati *et al.*, 2024):

$$\text{KcPK} = \frac{\text{jumlah PK pakan (g)} - (\text{jumlah PK residu (g)} + \text{jumlah PK blanko (g)})}{\text{jumlah PK pakan (g)}} \times 100\%$$

3.2.6. Analisis pencernaan serat kasar (KcSK)

Kadar serat kasar diukur dengan cara sampel dimasukkan ke dalam *beaker glass* ukuran 250 ml dan ditambahkan dengan 50 ml H_2SO_4 0,3 N. Sampel dimasak hingga mendidih selama 30 menit dan dimasukkan 25 ml NaOH 1,5 N lalu dimasak kembali sampai mendidih selama 30 menit. Kemudian, cairan disaring menggunakan kertas saring Whatman Nomor 41 yang sebelumnya sudah dioven selama 1 jam dan ditimbang. Proses penyaringan menggunakan 50 ml akuades panas, 50 ml H_2SO_4 0,3 N, 50 ml aquades panas dan 25 ml alkohol. Selanjutnya, kertas saring dimasukkan ke dalam *crucible porcelaine* dan dioven selama 6 jam pada suhu 105 – 110°C. Hasil pengovenan didinginkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang beratnya. Setelah itu, *crucible porcelaine* beserta isinya

ditanur selama 6 jam pada suhu 600°C. Hasil tanur didinginkan selama 15 menit di desikator dan dilakukan penimbangan berat. Kadar serat kasar diperoleh dengan rumus (Aminah *et al.*, 2020):

$$\%SK = \frac{\text{bobot residu stlh oven (g)} - \text{residu setelah tanur (g)} - \text{kertas saring (g)}}{\text{bobot sampel stlh oven (g)}} \times 100\%$$

Perhitungan KcSK diperoleh dengan rumus (Adelia dan Warisman, 2024):

$$KcSK = \frac{\text{jumlah SK pakan (g)} - (\text{jumlah SK residu (g)} - \text{jumlah SK blanko (g)})}{\text{jumlah SK pakan (g)}} \times 100\%$$

3.2.7. Analisis data

Parameter yang diamati meliputi KcLK, KcPK dan KcSK pada domba balibul yang diberikan pakan rumput odot dengan ditambahkan probiotik isi rumen kerbau yang diperkaya unsur N, S, P dan disuplementasikan tepung gaplek sebagai sumber RAC. Kemudian, data dianalisis menggunakan analisis ragam berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan model linier sebagai berikut:

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

Keterangan :

Y_{ij} = KcLK, KcPK dan KcSK rumput odot yang ditambahkan probiotik dan diperkaya N, S, P serta disuplementasi tepung gaplek ke-i pada ulangan ke-j.

μ = Nilai tengah umum/rata-rata KcLK, KcPK dan KcSK rumput odot yang ditambahkan probiotik dan diperkaya N, S, P serta disuplementasi tepung gaplek pada domba balibul.

τ_i = Pengaruh pemberian level tepung gaplek yang berbeda ke-i.

ε_{ij} = Galat percobaan pada KcLK, KcPK dan KcSK rumput odot yang ditambahkan probiotik dan diperkaya N, S, P serta disuplementasi tepung gaplek ke-i pada ulangan ke-j.

i = Perlakuan (1,2,3,4).

j = Ulangan (1,2,3).

Data diolah secara statistik dengan analisis ragam pada taraf alfa 5%. Apabila berpengaruh nyata ($P < 0,05$) maka analisis dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan.

Hipotesis statistik yang diuji :

H0 = $\tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$; tidak ada pengaruh dari perbedaan perlakuan penambahan tepung gaplek sebagai sumber RAC pada rumput odot yang ditambahkan probiotik isi rumen kerbau dan diperkaya unsur N, S, P terhadap nilai KcLK, KcPK dan KcSK pada domba balibul.

H1 = minimum ada satu $\tau_i \neq 0$; minimal ada satu perlakuan yang berpengaruh dengan adanya penambahan tepung gaplek sebagai sumber RAC pada rumput odot yang ditambahkan probiotik isi rumen kerbau dan diperkaya unsur N, S, P terhadap nilai KcLK, KcPK dan KcSK pada domba balibul.