

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dengan enam tahapan antara lain tahap persiapan, tahap adaptasi, tahap pendahuluan, tahap perlakuan, tahap pengambilan data dan tahap analisis kimiawi. Rangkaian tahapan penelitian dilaksanakan pada bulan Juli – November 2019. Pelaksanaan penelitian dilaksanakan di Kandang Digesti dan Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Departemen Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi penelitian yang digunakan adalah DET jantan berumur di bawah 5 bulan (balibul) dengan bobot badan awal rata-rata $11,52 \pm 0,78$ kg sebanyak 16 ekor. Bahan pakan yang digunakan dalam pakan komplit adalah onggok, jagung giling, bekatul, *pollard*, bungkil kedelai, bungkil kelapa, susu skim, mineral mix dan molases, serta hijauan berupa rumput gajah dengan komposisi sesuai pada Tabel 2. Kandang yang digunakan adalah kandang panggung individu dengan ukuran $1 \text{ m} \times 0,5 \text{ m}$ yang terbuat dari bambu yang dilengkapi dengan wadah pakan dan minum dari ember.

Peralatan yang digunakan meliputi sabit untuk mencacah hijauan, mesin *grinder* untuk penghalusan isi rumen kerbau, timbangan gantung berkapasitas 50 kg dengan ketelitian 10 g, timbangan analitik berkapasitas 5 kg dengan ketelitian 1 g, karung sebagai alat bantu dalam penimbangan ternak dan tempat ransum, alat

penampung feses yang terbuat plastik berlapis jaring, terpal, plastik, ember, gunting, kertas label serta alat tulis. Peralatan yang digunakan untuk analisis di laboratorium yaitu timbangan analitik kapasitas 300 g dengan ketelitian 0,001 g, oven listrik, *muffle furnace*, kertas minyak, *crucible porcelaine* dan eksikator.

3.2. Metode

3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi pengadaan bahan pakan kontrol dan perlakuan, persiapan kandang, persiapan peralatan penelitian, perhitungan populasi mikroba yang terkandung dalam isi rumen menggunakan metode *total plate count* (TPC), analisis bahan pakan, formulasi pakan komplit, pembuatan pakan, serta pengadaan 16 ekor DET balibul. Pengadaan bahan baku pakan komplit, terdiri atas onggok, jagung giling, bekatul, *pollard*, bungkil kedelai, bungkil kelapa, susu skim, mineral mix, molases dan rumput gajah serta tambahan bahan pakan perlakuan berupa isi rumen kerbau diperoleh dari Rumah Pemotongan Hewan Kabupaten Kudus yang kemudian dikeringudarkan hingga benar-benar kering secara merata seperti bolus kering dan selanjutnya dihaluskan menggunakan *grinder*. Persiapan kandang dilakukan dengan merenovasi kandang yang ada dan persiapan peralatan seperti terpal, karung, ember, timbangan gantung, timbangan analitik, penampung feses, penampung urin dan alat tulis.

Perhitungan populasi mikroba menggunakan metode TPC dilakukan dengan: 1) Pembuatan media natrium agar (NA) terlebih dahulu dengan cara: a) media *plate count agar* (PCA) ditimbang sebanyak 6 g, b) akuades dipanaskan

sebanyak 300 ml hingga hangat, c) PCA dimasukkan ke dalam akuades hangat yang kemudian diaduk hingga larut, dan d) media tersebut dimasukkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 1 jam, 2) Pengujian TPC dengan metode *pour* dilakukan sebagai berikut: a) akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml dan kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk dilakukan sterilisasi, b) alat dan bahan yang akan diuji dipersiapkan terlebih dahulu, c) isi rumen diambil sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam cawan petri (sebagai isolasi mikroba), d) isi rumen kerbau diambil sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi akuades steril kemudian dihomogenkan (pengenceran 10^1), e) larutan pengenceran 10^1 dari tabung reaksi diambil menggunakan mikropipet 1.000 μ l dan dimasukkan ke dalam cawan petri (pengenceran 10^2), f) melakukan langkah e sampai batas pengenceran yang diinginkan, g) media yang telah terbuat kemudian dituangkan ke dalam setiap cawan yang telah berisi sampel hingga permukaan cawan tertutup rata, h) media yang telah padat pada cawan dimasukkan ke dalam *incubator* dengan suhu 37°C selama 24 – 48 jam, dan i) koloni mikroba dihitung menggunakan *colony counter*.

Analisis proksimat bahan pakan dan feses dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, kemudian pakan perlakuan diformulasikan dengan kandungan protein dan energi yang sama (iso PK 14% dan iso energi 66%). Persiapan ternak DET dengan bobot berkisar $11,52 \pm 0,78$ kg sebanyak 16 ekor yang diperoleh dari peternakan “Cahaya Sejahtera Farm” di Kecamatan Boja Kabupaten Kendal.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Bahan Pakan

Bahan Pakan	BK	Abu	LK	SK	PK	BETN	TDN**
	--(%)--	-----(% BK)-----					
Onggok	88,61	2,23	3,15	30,85	1,88	61,89	72,77
Bekatul	90,26	11,54	11,12	15,23	9,22	52,89	61,56
Jagung Giling	87,86	2,13	2,48	6,73	10,82	77,84	83,92
Pollard	89,91	5,67	2,63	16,52	13,96	61,23	72,81
Molases	69,79	9,33	3,21	0,16	3,61	83,68	82,58
Susu Skim	96,59	3,27	2,28	0,25	24,85	69,34	87,56
Mineral	96,77	96,40	0	0	0	0	0
Isi Rumen	90,08	25,81	0,39	39,05	6,22	28,53	40,89
Bungkil Kedelai	89,64	11,73	2,26	5,10	27,97	52,94	76,36
Bungkil Kelapa	92,13	6,76	12,50	16,70	18,26	45,78	80,21
Rumput Gajah	16,64	2,11	2,80	50,00	13,40	31,69	54,82

Sumber: * Hasil analisis proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2019)

** Hasil perhitungan berdasarkan Hartadi *et al.* (1986)

Tabel 2. Komposisi dan Kandungan Nutrien Pakan Komplit

Bahan Pakan	T0	T1	T2	T3
	-----(%)-----			
Onggok	7	7	5	3
Bekatul	20	17	8	8
Jagung Giling	4	4	4	5
Pollard	9	9	14	12
Molases	3	3	3	3
Susu Skim	3	3	3	8
Mineral	2	2	2	2
Isi Rumen	0	5	10	15
Bungkil Kedelai	19	19	16	22
Bungkil Kelapa	8	11	15	6
Rumput Gajah	25	20	20	16
Total	100	100	100	100
Kandungan Nutrien (%)				
Bahan Kering	70,47	74,38	74,48	77,68
Abu	8,66	9,71	10,11	11,44
Protein Kasar	14,64	14,56	14,59	15,43
Serat Kasar	28,89	29,03	30,33	28,01
Lemak Kasar	6,03	5,72	4,74	4,91
BETN	41,77	40,99	40,23	40,20
TDN	67,05	66,91	66,52	66,04

3.2.2. Tahap adaptasi

Tahap adaptasi dilakukan dengan melakukan adaptasi pada domba kondisi lingkungan perkandangan dan pakan perlakuan yang diberikan selama 2 minggu. Pakan perlakuan diberikan sedikit demi sedikit setiap harinya. Domba diberi obat cacing, disuntik antiparasit dan vitamin B-kompleks.

3.2.3. Tahap pendahuluan

Tahap pendahuluan dilakukan selama 2 minggu, namun sebelumnya domba diacak penempatannya sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Domba diberi pakan sebanyak 5% dari bobot badan domba dalam BK untuk mengetahui seberapa banyak ternak dapat mengonsumsi pakan perlakuan yang telah diberikan dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.2.4. Tahap perlakuan

Tahap perlakuan selama 2 minggu dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dengan 4 ulangan. Domba diberi pakan perlakuan sebanyak 5% BK dari bobot badan domba dalam BK dan air minum secara *ad libitum*. Sisa pakan ditimbang sebelum pemberian pakan selanjutnya untuk mengetahui konsumsi pakan. Penimbangan ternak dilakukan setiap minggu untuk mengetahui pertambahan bobot badan ternak. Perlakuan yang diterapkan adalah pemberian pakan komplit yang ditambahkan probiotik isi rumen dengan level berbeda serta pakan tanpa probiotik isi rumen kerbau sebagai perlakuan kontrol. Berikut adalah perlakuan yang diterapkan dalam penelitian

T0 = pakan komplit dan tanpa probiotik isi rumen kerbau

T1 = pakan komplit dengan 5% isi rumen kerbau

T2 = pakan komplit dengan 10% isi rumen kerbau

T3 = pakan komplit dengan 15% isi rumen kerbau

3.2.5. Tahap pengambilan data

Tahap pengambilan data dilakukan dengan mencatat jumlah pemberian dan sisa serta mengumpulkan sampel sisa pakan sebagai data konsumsi pakan. Kecernaan diukur menggunakan cara total koleksi yang dilakukan dengan menampung feses setiap hari selama 2 minggu terakhir pemeliharaan. Feses yang terkumpul disemprot dengan HCl 10%. Feses diambil dan ditimbang setiap pagi sebelum pemberian pakan. Sisa pakan dan feses selama koleking dikeringudarkan dan diambil sampel sebanyak 10% dari total sisa pakan dan feses pada masing-masing perlakuan. Sampel pakan pemberian, sisa pakan dan feses kemudian dihaluskan dan dianalisis kimiawi.

3.2.6. Tahap analisis kimiawi

Tahap analisis kimiawi dilakukan melalui analisis proksimat berupa pengujian kadar air, abu, protein kasar, LK dan serat kasar pada sampel pemberian dan sisa pakan serta feses di laboratorium untuk mengetahui nilai kecernaan nutrien. Kecernaan dapat dihitung menggunakan rumus Tillman *et al.* (1991).

$$\text{KcBK (\%)} = \frac{\text{BK yang dikonsumsi} - \text{BK Feses}}{\text{BK yang dikonsumsi}} \times 100 \%$$

$$KcBO (\%) = \frac{BO \text{ yang dikonsumsi} - BO \text{ Feses}}{BO \text{ yang dikonsumsi}} \times 100 \%$$

$$TDN (\%) = PKdd (\%) + SKdd (\%) + BETNdd (\%) + (LKdd (\%) \times 2,25)$$

$$PKdd (\%) = \frac{(KcPK \times \% PK)}{100}$$

$$KcPK (\%) = \frac{PK \text{ yang dikonsumsi} - PK \text{ Feses}}{PK \text{ yang dikonsumsi}} \times 100 \%$$

$$SKdd (\%) = \frac{(KcSK \times \% SK)}{100}$$

$$KcSK (\%) = \frac{SK \text{ yang dikonsumsi} - SK \text{ Feses}}{SK \text{ yang dikonsumsi}} \times 100 \%$$

$$BETNdd (\%) = \frac{(KcBETN \times \% BETN)}{100}$$

$$KcBETN (\%) = \frac{BETN \text{ yang dikonsumsi} - BETN \text{ Feses}}{BETN \text{ yang dikonsumsi}} \times 100 \%$$

$$LKdd (\%) = \frac{(KcLK \times \% LK)}{100}$$

$$KcLK (\%) = \frac{LK \text{ yang dikonsumsi} - LK \text{ Feses}}{LK \text{ yang dikonsumsi}} \times 100 \%$$

3.3. Analisis Data

Variabel yang diamati meliputi kcBK, kcBO dan TDN. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL). Model linier yang digunakan sebagai berikut:

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

Keterangan :

- Y_{ij} = Nilai pencernaan dan TDN ke-j yang memperoleh perlakuan suplementasi probiotik isi rumen kerbau dengan level berbeda pada domba balibul ke-i
- μ = Nilai tengah umum nilai pencernaan dan TDN
- τ_i = Pengaruh suplementasi probiotik isi rumen kerbau dengan level berbeda pada domba balibul ke-i
- ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada nilai pencernaan dan TDN ke-j yang memperoleh perlakuan suplementasi probiotik isi rumen kerbau dengan level berbeda pada domba balibul ke-i

3.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis statistik yang diuji pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

$H_0 = \tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = \tau_3$; berarti tidak ada pengaruh suplementasi probiotik isi rumen kerbau dengan level berbeda pada domba balibul terhadap nilai pencernaan dan TDN.

H_1 ; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$; berarti minimal ada satu pengaruh suplementasi probiotik isi rumen kerbau dengan level berbeda pada domba balibul terhadap nilai pencernaan dan TDN.

Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan uji F pada taraf signifikansi 5%. Apabila pada analisis ragam terdapat pengaruh perlakuan ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Harjosuwono *et al.*, 2011).