

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Antiseptik *Teat Dipping* Ekstrak Daun Kelor Terhadap Skor *California Mastitis Test* dan Komponen Susu Sapi Mastitis Subklinis” dilaksanakan pada tanggal 3 November – 3 Desember 2019 di Kelompok Tani Ternak Bumi Lestari, Ngablak, Magelang. Pengujian Ekstrak daun Kelor dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang. Pembuatan antiseptik dilaksanakan di Laboratorium Ternak Potong dan Perah Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Pengujian komponen susu dilaksanakan di Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Jawa Tengah.

3.1 Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah 16 ekor sapi perah dengan periode laktasi ke 3 – 5 bulan laktasi ke II – V yang terindikasi penyakit mastitis subklinis setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan metode CMT dan menghasilkan Skor CMT minimal terdapat 1 puting yang positif 1 (+) sampai dengan skor positif 3 (+++). Bahan yang digunakan yaitu etanol 96%, aquades, gliserin dan reagen CMT. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah mesin *grinder*, *Vacum Rotary Evaporator*, saringan, timbangan gantung, toples 5 liter, cawan *paddle*, timbangan analitik, botol *dipping*, botol sampel susu, plastik perekat,

gelas ukur, mesin pemerah, gunting, *ice gel*, *cooling box*, *freezer*, *lactoscan* (Boeco, Germany), kamera serta alat tulis.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini meliputi empat tahap antara lain rancangan penelitian, tahap pra-penelitian, tahap pelakuan dan pengambilan data serta tahap analisis data.

3.2.1. Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola berjenjang waktu (*Split Plot in Time*). Rancangan dibagi menjadi petak utama (*main plot*) berupa 4 perlakuan *teat dipping*, anak petak (*sub plot*) berupa 3 lama pemakaian larutan *teat dipping* dan 4 kali ulangan.

Main plot sebagai berikut :

T1 = *teat dipping* menggunakan antiseptik ekstrak daun Kelor 0,5% (b/v)

T2 = *teat dipping* menggunakan antiseptik ekstrak daun Kelor 1% (b/v)

T3 = *teat dipping* menggunakan antiseptik ekstrak daun Kelor 1,5% (b/v)

Sub plot sebagai berikut :

H0 = pengambilan data hari ke-0

H15 = pengambilan data hari ke-15

H30 = pengambilan data hari ke-30

Penelitian dilakukan selama 30 (tiga puluh) hari dengan melakukan *teat dipping* selama ± 10 detik setiap pagi dan sore setelah pemerahan.

3.2.2. Tahap Pra penelitian

Tahap Pra penelitian dibagi menjadi 2 tahap yaitu pembuatan ekstrak daun Kelor dan pengambilan data pra penelitian.

3.2.2.1. Pembuatan ekstrak daun kelor. Tahap pembuatan ekstrak daun Kelor dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% yaitu dengan cara daun Kelor digiling hingga menjadi tepung kemudian 300 g tepung dilarutkan ke dalam larutan etanol sebanyak 450 ml. Larutan diaduk selama 1 jam dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan disaring dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak daun Kelor. Pembuatan ekstrak yang telah dibuat kemudian dilakukan pengujian bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun Kelor. Kandungan fitokimia tersebut dianalisis di Balai Penelitian Mutu dan Keamanan Pangan Unika Soegijapranata dan hasil yang diperoleh tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Kelor

Jenis Senyawa	Kandungan
Flavonoid (mg/100 g)	707,826
Tanin (g/100 g)	5,258
Total Phenol (%)	3,202
Alkaloid (%)	9,667
Saponin (%)	0,267

Larutan *teat dipping* yang digunakan terdiri dari 3 tingkat konsentrasi yaitu ekstrak daun Kelor 0,5%, 1% dan 1,5% (b/v). Masing-masing tingkat konsentrasi diencerkan dengan aquades sesuai tingkat konsentrasi masing-masing menjadi 100 ml cairan *dipping*. Cara pencampuran ekstrak pada konsentrasi 0,5% = (0,5 g

ekstrak + 99,5 ml pelarut), konsentrasi 1% = (1 g ekstrak + 99 ml pelarut), konsentrasi 1,5% = (1,5 g ekstrak + 98,5 ml pelarut).

3.2.2.2. Pengambilan data pra penelitian. Tahap ini mengambil data awal yaitu pengecekan mastitis menggunakan CMT kemudian ditentukan skor mastitis untuk menentukan kriteria ternak yang akan digunakan seperti terdapat puting positif yang menderita mastitis dengan skor CMT 1 – 3, tidak ada puting yang mati dan ternak berada di periode laktasi 3 - 5 dan bulan laktasi II - V.

3.2.3. Perlakuan dan pengambilan data

Perlakuan yang diterapkan adalah pemberian *teat dipping* dengan ekstrak daun Kelor sesuai perlakuan T1, T2, dan T3. Tahap ini membutuhkan waktu selama 30 hari setiap pagi hari dan sore hari setelah pemerakan dilakukan *teat dipping*. Pengambilan sampel susu diawali pada hari 0 (H0), hari ke-15 perlakuan dipping (H15), dan hari ke-30 perlakuan *dipping* (H30) selama penelitian.

3.2.3.1. Pengujian skor CMT. Pengujian dilakukan pada 16 ekor sapi perah dengan metode Uji *California Mastitis Test* berdasarkan skor CMT. Prosedur pengambilan sampel susu dilakukan pada pagi hari sebelum pemerahan berlangsung. Sanitasi ternak dan juga pembersihan ambing dilakukan sebelum pengambilan sampel susu tiap puting, setelah itu dilakukan pengecekan susu dengan melakukan pancaran pertama hingga 3 kali tanpa ditampung. Pancaran setiap puting yang telah dilakukan kemudian sampel susu mulai ditampung sebanyak 2 ml per puting. Skor CMT dilakukan dengan pencampuran 2 ml susu

dengan 2 ml reagen CMT di dalam *paddle* yang kemudian digoyang-goyangkan secara melingkar horizontal selama ± 10 detik. Reaksi ditandai dengan ada tidaknya perubahan pada kekentalan susu, kemudian ditentukan berdasarkan skoring CMT. Hasil pengujian berupa – (negatif) bila campuran susu dan reagen CMT tetap homogen, + (positif 1) terbentuk sedikit endapan, ++ (positif 2) endapan terlihat jelas, +++ (positif 3) campuran langsung mengental, dan ++++ (positif 4) banyak terbentuk gel. Hasil – diberi nilai 0, + diberi nilai 1, ++ diberi nilai 2, +++ diberi angka 3 dan ++++ diberi nilai 4. Tingkat peradangan ambing diestimasi dengan menjumlahkan skor CMT dari keempat puting dan setelah itu di rata-rata (Mahpudin *et al.*, 2017). Penilaian skor CMT menandakan bahwa semakin besar skor CMT maka semakin besar tingkat peradangan ambing yang dialami oleh sapi perah.

Persentase penurunan skor CMT dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\frac{\text{Nilai awal} - \text{Nilai akhir}}{\text{Nilai hari awal (hari ke-0)}} \times 100\%$$

3.2.3.2. Pengujian kadar laktosa, protein dan lemak. Pengambilan sampel susu untuk uji protein, lemak dan laktosa diawali pada hari 0 (H0), hari ke-15 perlakuan *dipping* (H15), dan hari ke-30 perlakuan *dipping* (H30) yang akan diambil pada pemerahan pagi dan sore sebelum pemerahan sebanyak ± 100 ml per ekor, sampel susu akan dimasukkan ke dalam botol plastik yang telah disediakan dan akan disimpan dalam *freezer* atau *cooling box* untuk sementara agar susu tetap terjaga, suhu untuk pendinginan sebaiknya di bawah suhu 4°C, cara pencampuran susu

dilakukan dengan mengambil sampel susu dengan jumlah yang sama pagi dan sore kemudian dilakukan perhitungan percampuran susu sesuai dengan proporsi sebagai berikut :

$$\text{Susu pagi} = \frac{\text{Produksi Pagi}}{\text{Total Produksi}} \times \text{sampel susu yang akan dicampur}$$

$$\text{Susu sore} = \text{sampel susu yang akan dicampur} - \text{hasil susu pagi}$$

Hasil perhitungan susu pagi dan susu sore dicampurkan, kemudian dilakukan analisis komponen susu (laktosa, protein dan lemak) menggunakan *lactoscan*.

3.2.4. Analisis data

Model linier dari RAL Split Plot *in Time* yang disusun menggunakan model matematis sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + \delta_{ik} + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Nilai pengamatan akibat pengaruh taraf ke-i dari faktor perbedaan konsentrasi ekstrak daun Kelor dan taraf ke-j dari faktor lama pemberian perlakuan *teat dipping* pada ulangan ke-k.

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) parameter

A_i = Pengaruh perlakuan *teat dipping* ke-i dari faktor perbedaan konsentrasi

B_j = Pengaruh galat ke-j dari faktor lama perlakuan

δ_{ik} = Pengaruh galat yang muncul pada taraf ke-i dari faktor perbedaan konsentrasi pada ulangan ke-k

$(AB)_{ij}$ = Pengaruh interaksi ke-i dari faktor perbedaan konsentrasi dan galat ke-j dari faktor lama perlakuan

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada ulangan ke-kyang memperoleh faktor perbedaan konsentrasi dan galat ke-j dari faktor lama perlakuan

Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) dengan

hipotesis statistik sebagai berikut :

a. $H_0 : (AB)_{ij} = 0$, Berarti tidak ada pengaruh pemberian *teat dipping* ekstrak daun Kelor dan lama pemakaian larutan *teat dipping* terhadap tingkat peradangan mammary dan komponen susu (protein, lemak, laktosa)

$H_1 : (AB)_{ij} \neq 0$, Berarti minimal ada satu pengaruh pemberian *teat dipping* ekstrak daun Kelor dan lama pemakaian larutan *teat dipping* terhadap tingkat peradangan mammary dan komponen susu (laktosa, protein, lemak)

b. $H_0 : A_i = 0$, Berarti tidak ada pengaruh pemberian *teat dipping* ekstrak daun Kelor terhadap tingkat peradangan mammary dan komponen susu (laktosa, protein, lemak)

$H_1 : A_i \neq 0$, Berarti minimal ada satu pengaruh pemberian *teat dipping* ekstrak daun Kelor terhadap tingkat peradangan mammary dan komponen susu (laktosa, protein, lemak)

c. $H_0 : B_j = 0$, Berarti tidak ada pengaruh lama pemakaian *teat dipping* ekstrak daun Kelor terhadap tingkat peradangan mammary dan komponen susu (laktosa, protein, lemak)

H1 : $A_i \neq 0$, Berarti minimal ada satu pengaruh lama pemakaian *teat dipping* ekstrak daun Kelor terhadap tingkat peradangan mammary dan komponen susu (laktosa, protein, lemak)

Kriteria Pengujian sebagai berikut :

Jika P-Value $> 0,05$ atau F hit $< F$ tabel maka H0 diterima dan H1 ditolak.

Jika P-Value $\leq 0,05$ atau F hit $\geq F$ tabel maka H0 ditolak dan H1 diterima.

Jika Uji ANOVA terdapat pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui perbedaan nilai tengah antar perlakuan.