

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – Agustus 2016 di Laboratorium Teknologi Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman Purwokerto dan Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul dan Hijauan Pakan Ternak (BBPTU HPT) Baturraden.

#### **3.1. Materi**

Penelitian menggunakan 16 ekor pedet FH lepas *colostrum* dengan umur 8 hari dan bobot badan rata-rata 38 kg, *calf starter* bentuk *pellet* terbuat dari jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, *molasses*, mial *mix* dan dicampur dengan limbah kubis yang difermentasi. Alat-alat yang digunakan antara lain adalah peralatan *pelleting* seperti *grinder* dan *pelleter*, kompor, termometer, dandang, penampakan, gelas ukur, timbangan elektrik, ember, plastik, sekop, sapu lidi, timbangan pedet, pot sampel feses dan peralatan laboratorium. Bahan yang digunakan antara lain garam, gula, aquadest dan medium *Eosine Methylene Blue* Agar (EMBA).

#### **3.2. Metode**

Penelitian dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap persiapan, tahap pembuatan *pellet* dan tahap pelaksanaan.

### 3.2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri atas 4 ulangan. Perlakuan dalam penelitian adalah penambahan limbah kubis difermentasi yang berbeda, yaitu :

$T_1$  : 100% *Calf starter* + 2% limbah kubis difermentasi (w/w)

$T_2$  : 100% *Calf starter* + 4% limbah kubis difermentasi (ww)

$T_3$  : 100% *Calf starter* + 6% limbah kubis difermentasi (w/w)

Model matematik yang digunakan Srigandono (1987) yaitu :

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

$$i = (1,2,3) \text{ dan } j = (1,2,3,4)$$

Keterangan :

- $Y_{ij}$  : Jumlah bakteri *Escherichia coli*, warna dan konsistensi feses ke- j yang memperoleh perlakuan penambahan limbah kubis difermentasi pada *pellet calf starter* ke - i
- $\mu$  : Nilai tungan umum (rata-rata) Bakteri *Escherichia coli*, warna dan konsistensi feses
- $\tau_i$  : Pengaruh aditif dari perlakuan penambahan limbah kubis difermentasi pada *pellet calf starter* ke- i
- $\varepsilon_{ij}$  : pengaruh galat percobaan pada jumlah bakteri *Escherichia coli*, warna dan konsistensi feses ke- j yang memperoleh perlakuan penambahan limbah kubis difermentasi pada *pellet calf starter* ke-i

### 3.2.2. Tahap penelitian

**3.2.2.1. Tahap persiapan.** Tahap persiapan dilakukan kurang lebih 1 bulan yang meliputi pengadaan bahan pakan, peminjaman peralatan untuk pembuatan limbah kubis difermentasi dan pembuatan *pellet*, pengadaan peralatan untuk pemeliharaan pedet dan pemantauan kelahiran pedet di BBPTU HPT Baturraden.

**3.2.2.2. Pembuatan *pellet calf starter*.** Pembuatan *pellet calf starter* diawali dengan pembuatan limbah kubis difermentasi (LKF) yaitu mempersiapkan limbah kubis. Limbah kubis yang akan difermentasi dipotong-potong menjadi ukuran  $\pm 1$  cm. Kemudian diblender hingga tekstur berubah seperti bubur. Limbah kubis yang telah halus kemudian ditambahkan garam sebesar 6% dan gula 6,4% dari berat limbah kubis yang dibuat. Campuran limbah kubis, garam dan gula lalu dibungkus dengan menggunakan plastik hingga anaerob dan diperam selama 6 hari. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Sholikhah, 2015), limbah kubis yang ditambah garam sebesar 6% dan diperam selama 6 hari memiliki jumlah bakteri asam laktat  $1,1 \times 10^8$  cfu/g.

Tahap selanjutnya yaitu pembuatan *pellet*. Pembuatan *pellet* meliputi beberapa proses, yaitu menyiapkan bahan baku seperti jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, *molasses* dan *mineral mix* serta aquadest sebanyak 70% (7ℓ / 10kg ) dari berat *calf starter* yang dibuat. Selanjutnya adalah mencampur beberapa bahan baku pakan diatas dan ditambahkan Aquadest sebanyak 50% (3,5 ℓ /10 kg ) dari total aduadest yang diberikan. Formulasi *calf starter* seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula *Calf starter* Berdasarkan Bahan Kering

Bahan Pakan	Kadar
	------(%)-----
Jagung giling	43
Bekatul	25,5
Bungkil Kedelai	26
Molases	5
Mineral mix	0,5
Kandungan zat gizi	
-Protein Kasar	19,61
-TDN	79,10

Sumber : Mukodiningsih *et al.* (2010)

Proses selanjutnya adalah *conditioning calf starter* dengan cara dikukus menggunakan panci pengukus dan kompor hingga suhu mencapai 80°C selama 15 menit, kemudian diangkat dan diangin-anginkan hingga dingin. Setelah dingin kemudian dicampur Limbah Kubis Difermentasi (LKF) sesuai perlakuan yang diberikan yaitu T<sub>1</sub> (100% *Calf starter* + 2% LKF), T<sub>2</sub> (100% *Calf starter* + 4% LKF) dan T<sub>3</sub> (100% *Calf starter* + 6% LKF).

Hasil campuran ditambahkan aquadest sebanyak 50% (3,5 *l* /10 kg), kemudian dicetak dengan menggunakan mesin *pelleter* dengan lubang berdiameter 5 mm. Pengeringan *pellet* dilakukan hingga diperoleh kadar air *pellet* sebesar 12,5 - 13%. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan inkubator yang dilengkapi *blower in* dan *blower out* sebagai penguat aliran udara serta sumber pemanas inkubator berasal dari luar kotak inkubator.

**3.2.2.3. Tahap Pelaksanaan.** Pelaksanaan penelitian dilakukan selama 6 minggu dengan 1 minggu pertama sebagai masa adaptasi dan 5 minggu selanjutnya untuk perlakuan dan pengambilan data. Kebutuhan nutrisi pedet dihitung berdasarkan

bobot badan dan pertambahan bobot badan per minggu. Perhitungan kebutuhan nutrisi pedet berdasarkan NRC (2001) dengan perbandingan susu dan *Calf starter* sebesar 60 : 40 dan hijauan diberikan secara *ad-libitum*. Pemberian pakan diberikan pada pagi hari pukul 05.30 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. *Calf starter* diberikan 30 menit setelah pemberian susu dan air minum diberikan *ad libitum* terukur.



Ilustrasi 1. Pedet Penelitian

### 3.2.3. Tahap pengambilan data

**3.2.3.1. Prosedur perhitungan bakteri *escherichia coli*.** Pengambilan sampel dilakukan pada saat pedet berumur 6 minggu dengan cara menampung feses seketika keluar dari anus pedet dan ditampung pada tempat sampel berdiameter 2 cm. Kemudian sampel ditempatkan dalam termos dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.

Analisis sampel dilakukan dengan menimbang sampel masing-masing 1 g. Feses pedet kemudian diencerkan pada pengenceran  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  agar dapat dilihat dan di-*plating* secara *pour plate* (PP) pada media *Eosine Methylene Blue* Agar (EMBA) yang merupakan media selektif untuk *E. coli*. Kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam pada inkubator suhu 37°C. Keberadaan *E. coli* pada media EMBA ditandai dengan adanya koloni yang berwarna hijau metalik. Jumlah bakteri yang dimaksudkan tersebut kemudian dihitung dengan rumus perhitungan jumlah bakteri. Perhitungan jumlah bakteri = total koloni x 1/faktor pengencer.

**3.2.3.2. Prosedur penilaian warna feses pedet.** Penilaian atau skoring warna feses dilakukan dengan menilai feses dari pedet perlakuan yang diambil masing-masing 2 ulangan dan dinilai oleh 10 panelis, sehingga total ulangan masing-masing perlakuan menjadi sebanyak 20 ulangan. Penilaian kategori warna dilakukan berdasarkan aturan pada Tabel 2.

Tabel 2. Panduan Skoring Warna Feses

Kategori warna	Keterangan	Skor
Gelap	Feses berwarna gelap atau kehitaman	1
Cokelat	feses berwarna cokelat	2
Kuning	Feses berwarna kuning atau kuning kecokelatan sampai kehijauan	3
Putih	Feses berwarna putih keabu-abuan ( <i>white scour</i> )	4

Sumber : Tryono (2010), Esfandiari *et al.*, (2011) dan Besung (2013<sup>a</sup>)

**3.2.3.3. Prosedur penilaian konsistensi feses pedet.** Penilaian atau skoring konsistensi feses sama seperti penilaian pada warna feses. Feses dari pedet

perlakuan diambil masing-masing 2 ulangan dan dinilai oleh 10 panelis sehingga total ulangan masing-masing perlakuan menjadi sebanyak 20 ulangan. Penilaian kategori konsistensi dilakukan berdasarkan aturan pada Tabel 3.

Tabel 3. Panduan Skoring Konsistensi Feses

Kategori warna	Keterangan	Skor
Normal (padat)	Feses yang dikeluarkan berbentuk utuh dan menyatu pada lantai	1
<i>Soft</i> (setengah padat)	Feses yang dikeluarkan tidak utuh dan agak menyebar. Contoh : es krim	2
<i>Runny</i> (encer)	Feses yang dikeluarkan menyebar. Contoh : adonan kue ( <i>pancake butter</i> )	3
<i>Watery</i> (sangat encer)	Feses yang dikeluarkan adalah cairan dan seluruhnya menyebar. Contoh : jus jeruk	4

Sumber : Supriatna (2014) dan Besung (2013)

#### 3.2.4. Analisis data

Data penelitian pada parameter jumlah bakteri *Escherichia coli* dianalisis menggunakan analisis data deskriptif menurut Belanche *et al.* (2011) dengan cara menggambarkan jumlah bakteri menggunakan tabel, sedangkan data parameter warna dan konsistensi feses dianalisis menggunakan Uji Skoring menurut Rahardjo (1998) dan dilanjutkan Duncan's Multiple Range Test menurut Sastrosupadi (2000). Data parameter jumlah bakteri *Escherichia coli*, warna dan konsistensi feses kemudian juga dilakukan t-test antara sampel perlakuan yang terpilih dengan sampel dari BBPTU HPT. Uji t-test dilakukan karena tidak ada kontrol pada penelitian.

### 3.2.5. Hipotesis

Hipotesis penelitian adalah terdapat pengaruh taraf penambahan limbah kubis difermentasi pada *pellet calf starter* terhadap penurunan jumlah bakteri *Escherichia coli*, perbaikan warna feses dan perbaikan konsistensi feses. Hipotesis dalam penelitian adalah :

a. Uji Skoring

$$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$$

$H_0$  : Tidak ada pengaruh perlakuan taraf penambahan limbah kubis difermentasi pada *pellet* terhadap warna dan konsistensi feses

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$

$H_1$  : Minimal ada satu perlakuan taraf penambahan limbah kubis difermentasi pada *pellet* terhadap warna dan konsistensi feses

b. Duncan's Multiple Range Test

$$H_0 : \mu_A = \mu_B = \mu_C$$

$H_0$  : Tidak perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan

$$H_1 : \mu_A \neq \mu_B = \mu_C, \mu_A = \mu_B \neq \mu_C, \mu_A = \mu_C \neq \mu_B,$$

$H_1$  : Terdapat perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan

c. t- test

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$H_0$  : Tidak ada perbedaan antara sampel perlakuan penelitian dengan sampel dari BBPTU HPT.

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

$H_1$  : Terdapat perbedaan antara sampel perlakuan penelitian dengan sampel dari BBPTU HPT.