

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2021 hingga Oktober 2021 di Kandang Eksperimental dan Laboratorium Terpadu Universitas Muhammadiyah Malang. Pembuatan pakan pelet. Analisis total bakteri dan *coliform* di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Kampus II Universitas Muhammadiyah Malang. Uji *in vitro* dilakukan di Laboratorium Nutrisi Dan Pakan, Kampus III, Universitas Muhammadiyah Malang. Kabupaten Malang Jawa Timur.

3.2 Materi alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah berupa pakan ruminansia dalam bentuk *Calf Starter* dan cairan rumen sapi pedet jenis PO lokal yang dikerjakan dalam skala laboratorium.

3.2.2 Bahan dan Alat Penelitian

Adapun bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

A. Pelet

Alat : Gelas Ukur, Timbangan, Nampan, Mesin Pellet, Plastic Ziplock.

Bahan : Ddgs, Konsentrat, Inulin, Cairan Whey, Skim, Pollard, Bindder

B. Whey

Alat : Jerigen 15 Liter, Alat Whey, Gas Lpg 12kg, Plastic Ziplock, Timbangan

Bahan : Whey cair

C. In Vitro

Alat dan Bahan : Tabung Erlenmeyer, Gelas Ukur, Eppendorf, Cawan petri, cairan rumen.

3.3 Batasan Variabel

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah bentuk pakan yang terdiri dari pakan dalam bentuk *mash*, pakan *Calf Starter*. Formulasi bahan pakan calf starter ada lima perlakuan diantaranya, P1, P2, P3, P4, P5 dengan kandungan nutrisi yang berbeda.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah populasi bakteri *califrom*.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Rancangan Percobaan dan Analisis Deskriptif

Metode penelitian ini yaitu menggunakan metode Eksperimen sample dengan perlakuan 5 jenis sample dan masing-masing menggunakan 5 kali ulangan. Adapun perlakuan yang di digunakan atau diterapkan yaitu penelitian ini menggunakan 7,5% *whey* cair dan 1% *inulin*.



3.4.2 Komposisi bahan pakan penyusun *Calf Starter*

Adapun komposisi bahan pakan penyusun *Calf Starter* sebagai berikut:

Tabel 3.1. Perlakuan dalam penelitian ini adalah teknik preparasi pakan.

Bahan Pakan	Perlakuan				
	P1	P2	P3	P4	P5
Pollard (%)	31	28	24	35	30
DDGS (%)	20	20	20	20	20
Skim (%)	7	11	10	8	10,5
Konsentrat (%)	41	40	45	36	38,5
Inulin (%)	1	1	1	1	1
Whey cair (%)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Kandungan Nutrisi					
Lemak Kasar (LK %)	6.36	6.78	6.68	6.04	6.18
Kadar Air (%)	11.27	11.47	12.88	13.39	13.87
Protein Kasar (PK %)	19.64	19.70	19.78	19.56	19.66
Serat Kasar (SK %)	10.32	9.96	10.29	9.98	9.92

3.5 Metode analisis data

3.5.1 Analisis data

Data populasi total bakteri dan bakteri *coliform* yang menggunakan analisis deskriptif dengan membandingkan standar.

3.5.2 Pengukuran Populasi Total Bakteri

Metode yang digunakan dalam uji total bakteri yaitu menggunakan “total plate count (TPC)” (Hanum, 2018). Menggunakan media *TPY* agar. Pengujian dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni yang hidup pada cawan petri. Metode ini memiliki prinsip dengan menggunakan cawan untuk melihat pertumbuhan sel mikroba yang masih hidup dengan media *TPY* agar, sehingga sel

mikroba pada media *TPY* Agar akan berkembang biak dan membentuk koloni yang bisa dilihat langsung tanpa menggunakan mikroskop.

Perhitungan total bakteri dilakukan dengan mengencerkan sampel dalam aquades setril dengan perbandingan 1:9. Pengenceran awal dilakukan dengan 10^1 - 10^8 , untuk pengenceran pertama sampel sebanyak 0,1 ml diencerkan dalam 0,9 ml aquades steril, pada pengenceran kedua sampel sebanyak 0,1 ml yang sudah diencerkan dimasukkan dalam 0,9 ml aquades dan begitupun untuk pengenceran ketiga dan seterusnya hingga selesai dilakukan sama seperti pengenceran kedua.

Media yang digunakan sebagai pencawan adalah *TPY* agar. Pembuatan *TPY* agar 100 ml dilakukan dengan mengambil *TPY* agar sebanyak 46,6 gram dalam 1 liter air suling. Diaduk sampai tercampur rata dan tuang ke dalam *erlenmeyer*, dan sterilkan dalam *autoclaf* pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Pencawan dilakukan dengan 1 ml sampel hasil pengenceran yang dimasukkan kedalam cawan petri yang sudah diisi *TPY* agar setengah padat kurang lebih 10 ml, pencawan duplo dari pengenceran 10^6 - 10^8 . Kemudian cawan petri dihomogen dengan cara digerakkan seperti angka delapan. Setelah cawan padat kemudian dilakukan inkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C .

3.5.3 Pengukuran Populasi Bakteri *coliform*

Metode yang digunakan untuk uji total *coliform* yaitu menggunakan "*total plate coun*" (*TPC*) (Hanum, 2018). Dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni yang hidup pada cawan petri. Metode ini memiliki prinsip dengan menggunakan cawan untuk melihat pertumbuhan sel mikroba yang masih hidup dengan media *Mac Conkey Agar (MCA)*, sehingga sel mikroba pada media *coliform* agar akan berkembang biak dan membentuk koloni yang bisa dilihat langsung tanpa menggunakan mikroskop.

Perhitungan populasi bakteri *coliform* dilakukan dengan mengencerkan 1 ml sampel dalam 9 ml NaCl fisiologis steril dengan perbandingan 1:9. Pengenceran diawali dengan 10^1 - 10^8 , untuk pengenceran pertama sampel sebanyak 1 ml diencerkan kedalam 9 ml NaCl, pada pengenceran kedua sampel sebanyak 1 ml sampel yang sudah diencerkan dimasukkan pada 9 ml NaCl fisiologis steril dan begitupun untuk pengenceran ketiga dan seterusnya hingga selesai dilakukan sama seperti pengenceran kedua.

Media yang digunakan untuk pencawanan ialah *Mac Conkey Agar (MCA)*. Pembuatan *MCA* 100 ml dilakukan dengan mengambil *MCA* sebanyak 52,2 gram yang lalu dilarutkan dengan dalam 1 liter air suling yang dididihkan. Selanjutnya larutan *Mac Conkey Agar (MCA)* disterilkan menggunakan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pencawanan dilakukan dengan 1 ml sampel hasil pengenceran dimasukkan dalam cawan petri yang telah diisi *MCA* kurang lebih 10 ml cawan, pencawanan duplo dari pengenceran 10^6 - 10^8 . Kemudian cawan petri dihomogenkan dengan cara menggerakkan cawan petri seperti angka delapan. Setelah cawan menjadi padat kemudian dilakukan inkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam dengan suhu 37°C selama 24 jam.

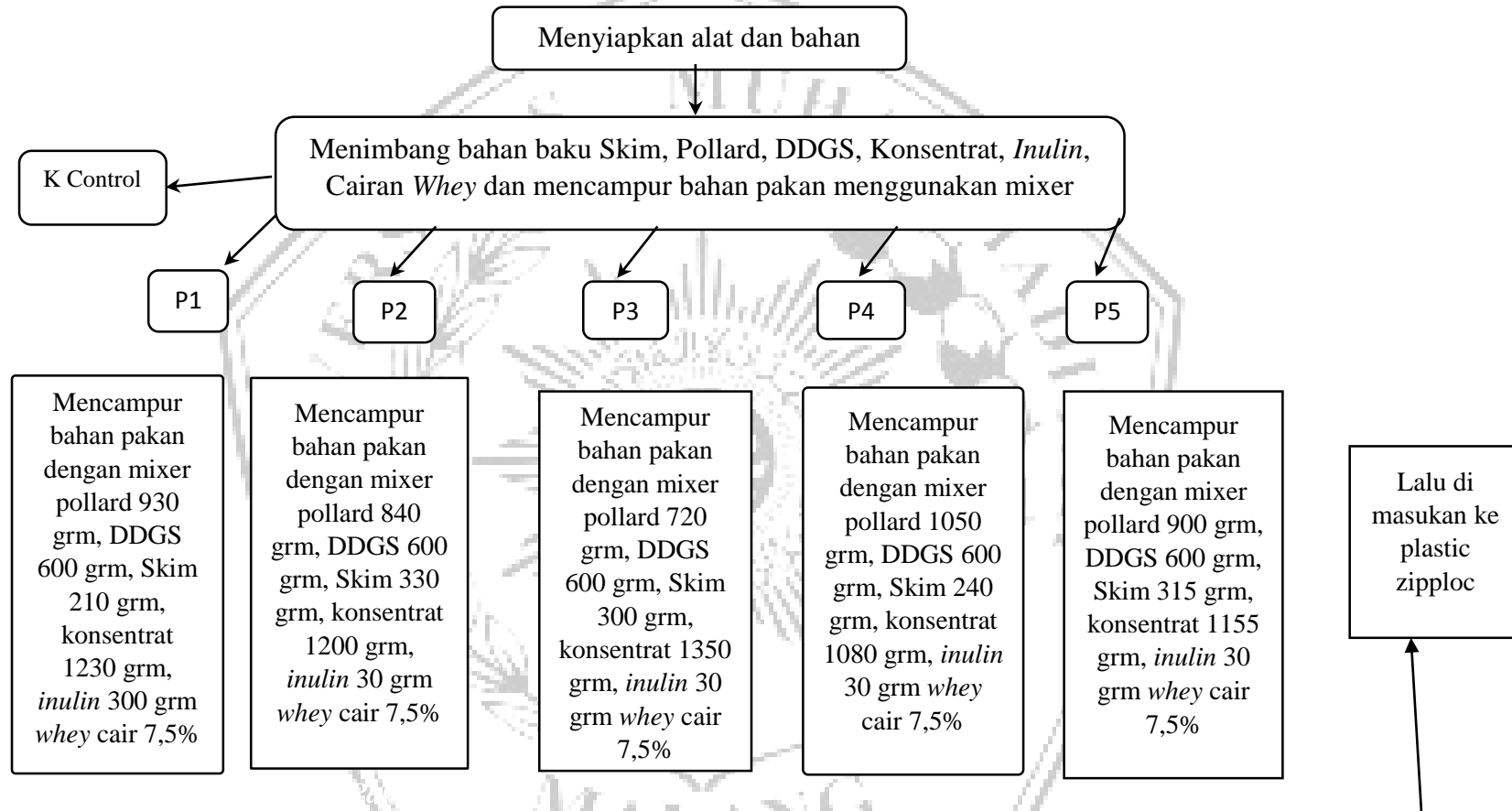
3.5 Preparasi Pengambilan Cairan Rumen

Pengambilan cairan rumen dilakukan menggunakan alat selang diameter 0,1 mm dengan Panjang 2 meter. Cairan rumen yang telah diambil disaring untuk memisahkan cairan yang terdapat mikroba dengan kotoran. Pengambilan ini maksimal dilakukan 2 jam setelah ternak dipotong, dan langsung diberi gas CO_2 agar mikroba tetap hidup. Setelah cairan rumen didapatkan bisa langsung digunakan untuk uji *in vitro* sesuai perlakuan. Penggunaan cairan rumen pada penelitian ini yaitu 1:4 atau 100ml cairan rumen 400 ml larutan *Mc daugall*.

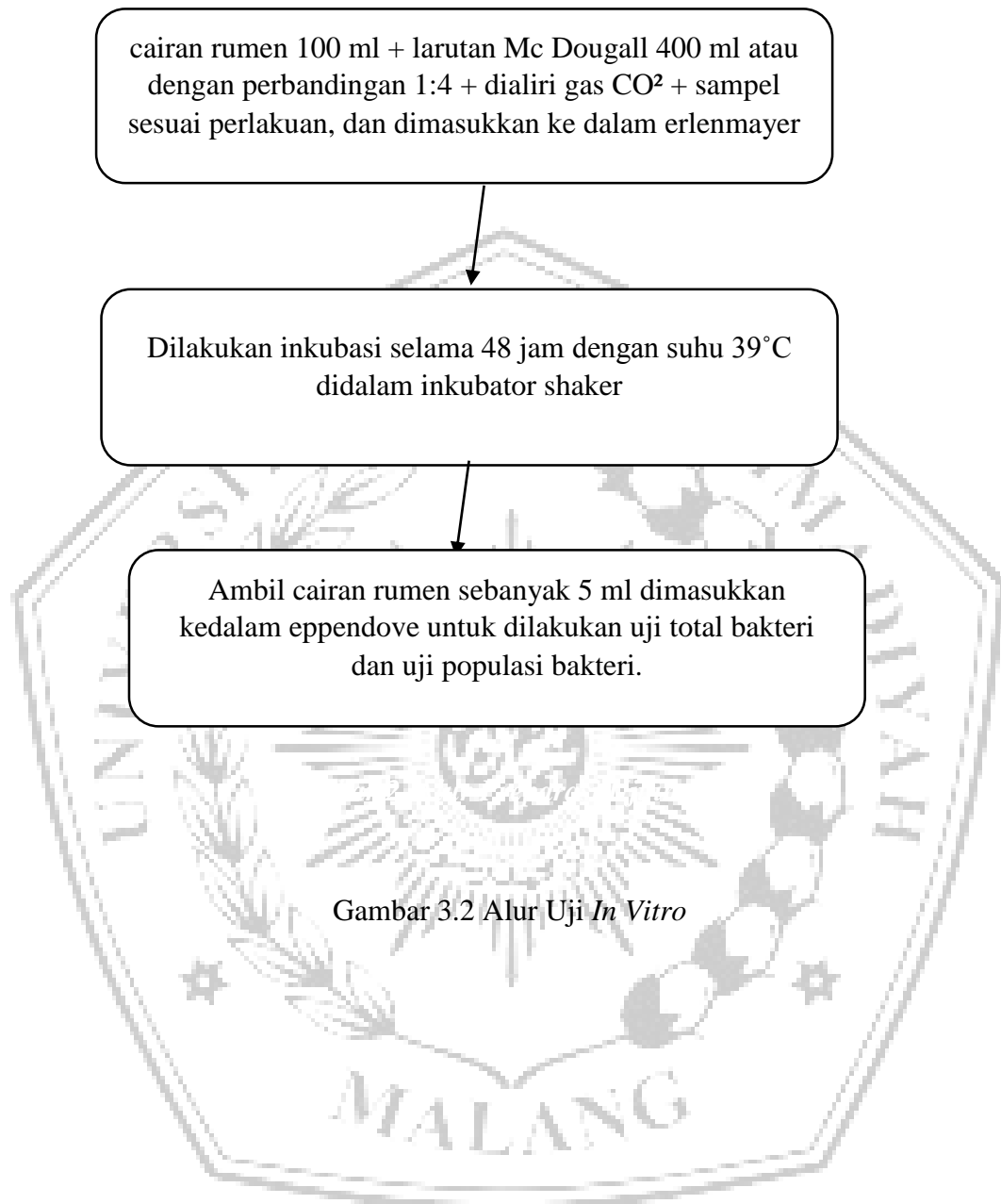
3.6.1 Pelaksanaan uji *in vitro*

Pelaksanaan uji *in vitro* menggunakan cairan rumen Pedet PO yang diambil dari kandang peternakan UMM. Cairan rumen pedet yang telah diambil diletakkan di ember, lalu dibawa ke Laboratorium Nutrisi Universitas Muhammadiyah Malang. Kemudian langkah selanjutnya cairan rumen disaring menggunakan kain mori (kain penyaring) untuk dilanjutkan pelaksanaan uji *in vitro*.

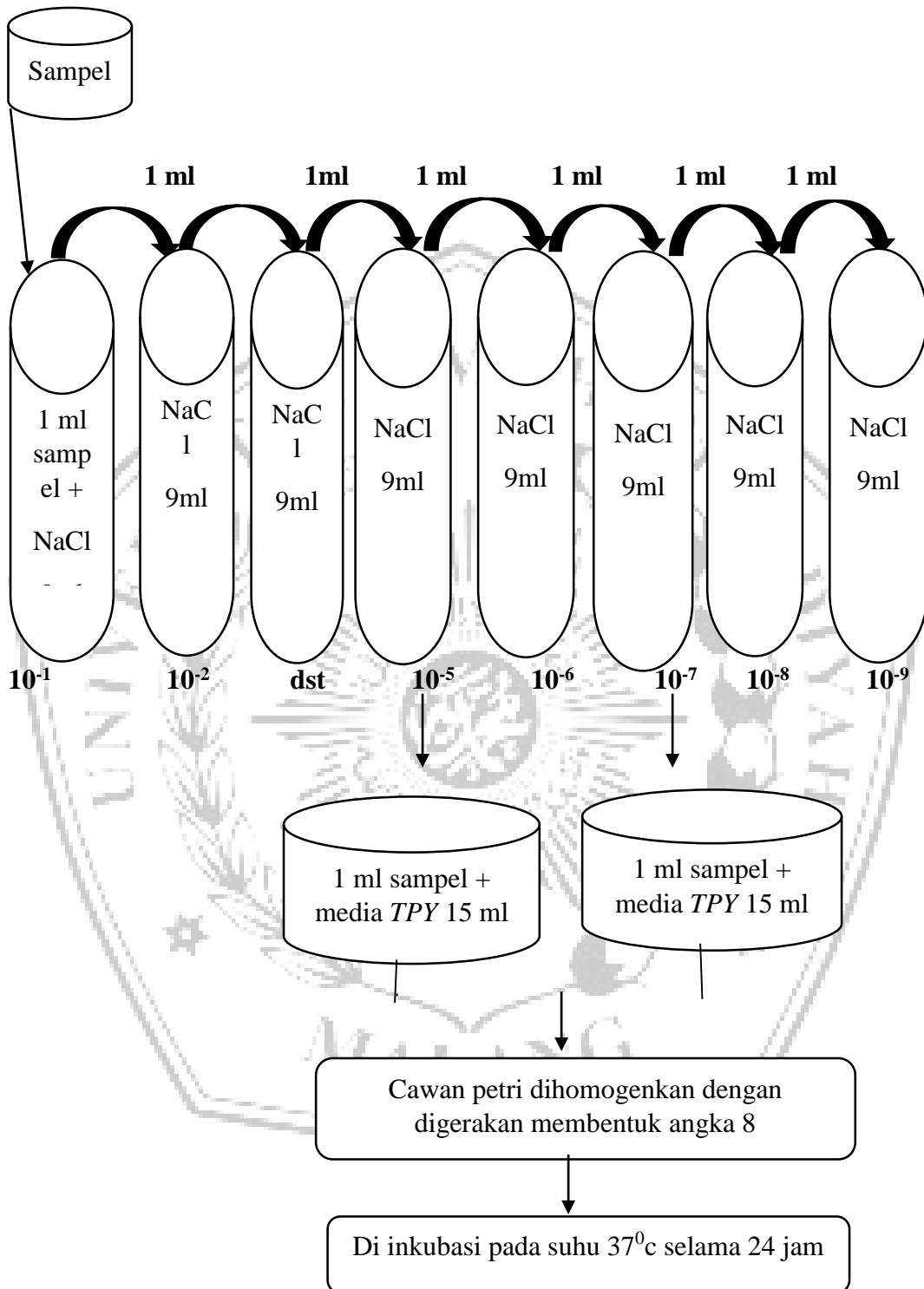
1. Alur Preparasi Pembuatan Pakan *Claf Starter*



2 Alur Uji *In vitro*



1. Alur Pengamatan Total Bakteri Menggunakan Metode TPC (*Total Plate Count*)



2. Alur Pengamatan Bakteri *coliform* Menggunakan Metode TPC (*Total Plate Count*)

