

### III

## OBJEK DAN METODE PENELITIAN

### 3.1 Objek Penelitian

#### 3.1.1 Organ Percobaan

Organ percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah hati broiler yang diambil dari hasil penelitian oleh Balia, dkk. (2017) dengan judul “Pemanfaatan Biodiversitas Mikroorganisme dalam Produksi Pangan, Biopakan dan *by Product*”. Hati broiler diambil pasca transportasi ( $\pm$  6 jam) sebanyak 20 sampel, terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan yang telah diberi perlakuan probiotik selama masa pemeliharaan. Perlakuan terdiri atas:

P0 = Tanpa pemberian probiotik

P1 = Probiotik (*Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus acidophilus*)

P2 = Probiotik (*Lactobacillus plantarum* + *Trichosporon beigeli*)

P3 = Probiotik (*Cryptococcus humicolus* + *Lactobacillus acidophilus*)

P4 = Probiotik (*Cryptococcus humicolus* + *Trichosporon beigeli*)

#### 3.1.2 Alat Penelitian

- 1) Oven, untuk mengeringkan sampel.
- 2) Cawan dan penumbuknya, untuk menghaluskan sampel.
- 3) Timbangan analitik, untuk menimbang sampel.
- 4) Satu set alat soxhlet (erlenmeyer 500 ml, soxhlet 500 ml, kondensor soxhlet, pemanas), untuk ekstraksi atau memisahkan suatu komponen dalam suatu padatan dengan menggunakan suatu pelarut cair.
- 5) Kertas saring bebas lemak, sebagai tempat sampel.
- 6) Eksikator, untuk menghilangkan kadar air dari sampel.

- 7) Kapas dan biji heker, untuk menutup sampel dalam kertas saring.
- 8) Tabung reaksi, sebagai tempat perendaman sampel.
- 9) Mikropipet, untuk memindahkan cairan dengan volume kecil.
- 10) Tabung edta, sebagai tempat sampel.
- 11) Kuvet, sebagai tempat sampel yang akan dimasukkan ke dalam spektrofotometer.
- 12) Spektrofotometer, untuk membaca kadar total protein.

### **3.1.3 Bahan Penelitian**

- 1) Hati, sebagai objek yang diamati dalam percobaan.
- 2) Alumunium foil, sebagai alas sampel saat dikeringkan dalam oven.
- 3) Kloroform, untuk melarutkan lemak.
- 4) Karet gelang, untuk mengencangkan penutup tabung reaksi saat perendaman sampel.
- 5) Reagen, sebagai zat yang bereaksi dengan protein membentuk warna biru dalam pengukuran kadar protein sampel.
- 6) Aquades, sebagai blank.

## **3.2 Metode Penelitian**

### **3.2.1 Prosedur Percobaan**

- (1) Tahap Analisis Protein Kasar
  - a) Alumunium foil dipotong dan dibentuk seperti mangkuk sesuai kapasitas untuk menampung sampel, kemudian diberi label sesuai perlakuan dan ulangan.
  - b) Sampel diletakkan di atas alumunium foil dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 72 jam.

- c) Sampel kering oven ditumbuk menggunakan cawan porselen sampai halus.
- d) Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan direndam menggunakan kloroform selama 1 hari. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan dikocok dengan hati-hati sampai larutan homogen.
- e) Sampel disaring dan cairan dimasukkan ke dalam botol sampel lalu diproses menggunakan kit biolabo total protein.
- f) Reagen dan sampel didiamkan pada suhu ruangan.
- g) Tabung edta disiapkan sebanyak 22 tabung. Blank (aquades) dimasukkan pada tabung 1 sebanyak 1 ml. Standard dimasukkan pada tabung 2 sebanyak 20 µL. Sampel dimasukkan pada tabung 3-22 sebanyak 20 µL.
- h) Reagen ditambahkan ke dalam 22 tabung sebanyak 1 ml.

**Tabel 1.** Manual Prosedur Pengujian Kadar Total Protein

Pipette into well identified test tubes	Reagent Blank	Specimen Blank	Standard	Assay
Saline solution	-	1 ml	-	-
Reagent R1	1 ml	-	1 ml	1 ml
Standard	-	-	20 µL	-
Specimen	-	20 µL	-	20 µL
Demineralized water	20 µL	-	-	-

Zat dicampurkan sampai homogen. Didiamkan pada suhu ruang selama 10 menit. Dicatat absorbansi pada panjang gelombang 550 nm (530-570) pada reagen blank.

- i) Hasil dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$TP = \frac{Abs (Assay) - Abs (Specimen blank)}{Abs (Standard)} \times Standard\ concentration$$

(2) Tahap Analisis Lemak Kasar

- a) Kertas saring yang telah kering oven disiapkan (gunakan kertas saring bebas lemak).

- b) Selongsong penyaring dibuat dari kertas saring, ditimbang dan dicatat beratnya sebagai A gram. Sampel sekitar 2-5 gram dimasukkan ke dalam selongsong kemudian ditimbang dan dicatat beratnya sebagai B gram. Tutup dengan kapas kemudian dihektet, lalu ditimbang dan dicatat beratnya sebagai C gram. Berat sampel = (B – A) gram.
- c) Selongsong penyaring berisi sampel dimasukkan ke dalam alat soxhlet. Kloroform sebanyak 100-200 ml dimasukkan ke dalam labu didihnya. Dilakukan ekstraksi (nyalakan pemanas hot plate dan alirkan air pada bagian kondensornya).
- d) Ekstraksi dilakukan selama lebih kurang 6 jam. Diambil selongsong berisi sampel yang telah diekstraksi dan keringkan di dalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C. Kemudian dimasukkan ke dalam eksikator 15 menit dan ditimbang, catat beratnya sebagai D gram.
- e) Kloroform yang terdapat dalam labu didih didestilasi sehingga tertampung di penampung soxhlet. Kloroform yang tertampung disimpan untuk digunakan kembali.

$$\text{Kadar Lemak Kasar (\%)} = \frac{(C-D)}{(B-A)} \times 100$$

### 3.2.2 Peubah yang Diamati

#### 1) Kadar Protein (%)

Persentase kadar protein dapat dihitung menggunakan metode Spektrofotometer dengan prinsip membuat larutan standar dengan konsentrasi yang telah diketahui dengan tepat. Larutan standar ini diketahui nilai absorbansinya pada setiap panjang gelombang (530-570 nm) dengan spektrofotometer yang digunakan, kemudian suatu sampel dapat diketahui absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer dan menginterpolasikan data dengan standar yang telah dibuat.

Kadar total protein dapat diketahui dengan membagi hasil absorbansi sampel dengan absorbansi standar dan dikalikan dengan konsentrasi standar, selanjutnya total protein suatu sampel dapat dikonversikan menjadi protein kasar dengan cara mengkalikan hasil total protein dengan 6,25 sehingga didapat kadar protein kasar.

## 2) Kadar Lemak (%)

Persentase kadar lemak dapat dihitung menggunakan metode ekstraksi Soxhlet dengan prinsip, sampel lemak diekstraksi dengan pelarut lemak. Setelah pelarutnya diuapkan, lemak dapat ditimbang dan dihitung persentasenya.

### 3.2.3 Rancangan Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan klasifikasi satu arah, dengan model matematika menurut Gaspersz (1991) adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

- $Y_{ij}$  = Respon hasil pengamatan karena perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
- $\mu$  = Nilai tengah populasi (rata-rata umum)
- $\alpha_i$  = Pengaruh perlakuan (dosis) ke-i
- $\epsilon_{ij}$  = Galat percobaan dari perlakuan ke-i pengamatan ke-j
- $i$  = Perlakuan ke-i (1, 2, 3, 4, 5)
- $j$  = Ulangan ke-j (1, 2, 3, 4)

Asumsi :

1. Nilai  $\epsilon_{ij}$  menyebar normal satu sama lain
2. Nilai harapan dari  $\epsilon_{ij} = 0$
3. Ragam dari  $\epsilon_{ij} = \sigma^2$  jadi  $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

Hipotesis yang diuji :

1.  $H_0 : P_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4$ , tidak ada pengaruh perlakuan dalam mengantisipasi stres transportasi terhadap kadar protein dan lemak hati broiler pasca transportasi.

2.  $H_1 : P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4$  atau paling sedikit ada sepasang perlakuan yang tidak sama dalam mengantisipasi stres transportasi terhadap kadar protein dan lemak hati broiler pasca transportasi.

Berdasarkan model matematika di atas diperoleh daftar sidik ragam seperti yang tercantum pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	$F_{hit}$	$F_{tabel(0,05)}$
Perlakuan	$(t-1) = 4$	JKP	KTP	KTP/KTG	
Galat	$t(r-1) = 15$	JKG	KTG		
Total	$(tr-1) = 19$	JKT			

Keterangan :

- Db = Derajat bebas  
t = Perlakuan  
r = Ulangan  
JK = Jumlah Kuadrat  
KT = Kuadrat Tengah

Kaidah keputusan :

1. Bila  $F_{hitung} \leq F_{tabel\ 0,05}$  artinya tidak berbeda nyata (*non significant*), terima  $H_0$  dan tolak  $H_1$
2. Bila  $F_{hitung} > F_{tabel\ 0,05}$  artinya berbeda nyata (*significant*), tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$

Apabila hasil analisis sidik ragam yang diperoleh berbeda nyata, maka untuk membandingkan perbedaan rata-rata perlakuan dilakukan Uji Contrast Orthogonal, dengan rumus :

$$L = \sum_i c_i Y_i \text{ dengan } \sum_i c_i = 0$$

Keterangan :

- $Y_i$  = total perlakuan atau nilai tengah perlakuan  
 $c_i$  = batasan bahwa  $\sum_i c_i = 0$