

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

*Negative Energi Balance* (NEB) adalah kondisi di mana sapi perah pada awal laktasi mengalami ketidakseimbangan energi karena kebutuhan energi ternak *recovery post partus*, menyusui, dan memproduksi susu lebih besar dibandingkan dengan asupan energinya. Ternak yang mengalami NEB akan memecah cadangan lemak tubuhnya sebagai sumber energi, melalui proses katabolisme jaringan adiposa menjadi asam lemak non-esterifikasi yang kemudian masuk ke hati dan menyebabkan terjadinya ketosis yang dapat menurunkan fungsi hati. Apabila proses ini terjadi secara terus-menerus dan tidak ditangani akan menyebabkan penurunan kekebalan tubuh pada ternak (Nurnaningsih dkk., 2023). Kondisi ini juga dapat menyebabkan penurunan berat badan, *body condition score*, kinerja reproduksi dan produksi susu (Pariswara dkk., 2021).

Durasi dan tingkat keparahan NEB bervariasi pada setiap ternak, dengan durasi yang berkisar antara 2–11 minggu. NEB yang paling parah cenderung terjadi dalam 1–2 minggu *post partus* (Zhang et al. 2020). Selain itu, NEB pada ternak sapi perah berdampak pada gangguan hormonal. Hormon-hormon yang memegang peranan penting dalam menjaga fungsi kelenjar susu dan kelangsungan hidup sel pada ternak adalah hormon *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) dan prolaktin (PRL) (Accorsi et al. 2002). Salah satu indikator NEB adalah tingginya kadar *Beta-Hydroxybutyrate* (BHB) dalam darah, yang merupakan salah satu keton tubuh utama yang digunakan untuk mengevaluasi profil energi sapi perah, terutama selama periode *post partus*. Kadar BHB yang tinggi dapat menunjukkan adanya ketosis, suatu kondisi yang berdampak negatif pada kesehatan dan produktivitas sapi. Ketosis ini dapat menyebabkan penurunan kadar IGF-1, yang penting untuk fungsi ovarium, serta mengganggu regulasi PRL, yang pada akhirnya mempengaruhi produksi susu secara keseluruhan (Constantin et al. 2023).

Salah satu solusi untuk mengurangi status NEB adalah dengan pemberian pakan yang kaya akan kandungan nutrisi serta penambahan mineral yang sangat dibutuhkan guna meningkatkan respon imunitas, memperbaiki status dan mengurangi penyakit (Permana dkk., 2020). Pakan yang memenuhi syarat tersebut yakni gamal (*Gliricidia sepium*) dan indigofera (*Indigofera zollingeriana*) yang dapat dimanfaatkan sebagai konsentrat hijau (*Green Concentrate GC*). Gamal merupakan



mudah terdegradasi dalam rumen dengan kandungan protein 22,7%, lemak kasar (LK) 4,38%, dan abu 6,08%. Indigofera %, LK 6,15%, dan kadar abu di atas 6,4% (Fattah dan Kedua bahan baku ini telah dimanfaatkan sebagai GC yang produksi dan kualitas susu (Ako et al. 2024); pemanfaatan akan tambahan yang dapat meningkatkan angka kebuntingan penggunaan indigofera juga dapat membantu mengurangi

biaya produksi pakan ternak (Islamiyati dkk., 2023). Selain pakan yang berprotein tinggi dapat mengurangi kejadian NEB, pakan sumber energi juga memegang peranan penting. Salah satu pakan sumber energi tersebut yakni sorgum (*Sorghumbicolor (L.) Moench*). Sorgum termasuk sereal yang mengandung nutrisi tinggi dan sangat bermanfaat sebagai pakan ternak. Sorgum memiliki kadar energi yang lebih tinggi, sehingga dapat menjadi sumber energi yang lebih baik bagi ternak. Nutrisi dalam sorgum hampir setara dengan jagung, dengan kandungan PK sebesar 10,40%, energi metabolik 3.200 kkal/kg, kalsium 0,04%, fosfor total 0,96%, LK 3,40%, dan serat kasar 2,50% (Hidayat, 2021). Pemanfaatan sorgum sebagai pakan yang berkualitas dapat meningkatkan bobot ternak (Purba dkk., 2024).

## 1.2 Landasan teori

Sebagian besar sapi perah sering mengalami NEB karena ketidakseimbangan antara pasokan energi dari pakan dan kebutuhan produksi. Durasi dan tingkat keparahan NEB bervariasi pada setiap ternak, dengan durasi yang berkisar antara 2–11 minggu. Umumnya, sapi perah akan membutuhkan waktu sekitar 6–7 minggu untuk menjadi energi positif. NEB yang paling parah cenderung terjadi dalam 1–2 minggu *post partus*. Pada tahap *post partus* awal, NEB menjadi lebih serius karena asupan nutrisi tidak mampu dengan cepat memenuhi permintaan produksi susu yang meningkat. NEB ini menyebabkan mobilisasi lemak tubuh dalam jumlah besar. Jika mobilisasi lemak tubuh terjadi secara berlebihan, maka akan berdampak terhadap penumpukan trigliserida di hati atau konversi menjadi badan keton, seperti BHB, yang pada akhirnya dapat menyebabkan ketosis. Kondisi ini berdampak buruk pada kesehatan, produktivitas, dan reproduksi sapi perah (Zhang et al. 2020). Nutrisi yang cukup dalam pakan sangat penting untuk memastikan fungsi anatomis dan fisiologis ternak berjalan optimal. Asupan nutrisi yang cukup mendukung berbagai proses biologis, memungkinkan ternak mencapai potensi genetiknya, serta mengurangi risiko terjadinya NEB. Tingkat keparahan NEB dapat bervariasi, mulai dari yang ringan hingga yang parah. Sapi dengan NEB parah lebih rentan terhadap stres oksidatif, gangguan metabolisme, dan masalah kesuburan, yang dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti asupan pakan, status kebuntingan, dan manajemen laktasi (Churakov et al. 2021). Nutrisi yang tidak memadai tidak hanya menurunkan performa ternak di bawah potensi genetiknya, tetapi juga meningkatkan risiko terjadinya NEB, yang pada akhirnya berdampak negatif pada kesehatan, reproduksi, dan produksi susu (Raynardia et al. 2021). Pemberian konsentrat yang berkualitas dengan kadar energi dan protein tinggi dapat

NEB.

Grain Concentrate (GC) dapat menjadi solusi dalam mengatasi energi yang menyebabkan NEB pada sapi perah. Dengan lengkap, energi dan protein tinggi, GC memastikan asupan gizi mencegah sapi memilih hanya bahan pakan tertentu, sehingga asupan energi yang lebih cepat pasca partus. Nutrisi yang dapat mengurangi mobilisasi lemak berlebihan yang berisiko



menyebabkan ketosis serta gangguan lainnya, yang pada akhirnya berdampak pada kesehatan, produktivitas, dan reproduksi sapi perah (Zhang et al. 2020). Bahan utama GC, seperti indigofera dan gamal, memiliki keunggulan dalam mendukung efisiensi pemeliharaan serta meningkatkan produksi susu dengan menjaga keseimbangan energi sapi. Dengan demikian, pemanfaatan GC tidak hanya meningkatkan efisiensi pencernaan dan penyerapan nutrisi, tetapi juga berperan dalam mencegah dan mengurangi dampak NEB pada sapi perah (Adiputra dkk., 2021). Terdapat beberapa indikator yang dapat menunjukkan efek pemberian GC terhadap penurunan kejadian NEB yaitu kadar BHB darah, hormon IGF-1, dan PRL sapi perah FH.

*Beta-Hydroxybutyrate* adalah badan keton utama yang digunakan untuk mendiagnosis NEB pada sapi perah karena dominasi sirkulasinya dalam darah serta stabilitasnya yang tinggi. NEB subklinis sering terjadi pada awal laktasi, sehingga pengukuran kadar BHB darah menjadi penting untuk deteksi dini dan manajemen NEB. Sapi dengan kadar BHB 1,1–1,2 mmol/L menunjukkan tanda klinis NEB, sementara NEB ringan berkisar 0,59–0,97 mmol/L dan NEB parah dapat mencapai 3,71 mmol/L (Chaput dan Sirard, 2020). Kadar BHB tinggi berkorelasi dengan stres oksidatif dan apoptosis sel hati akibat mobilisasi lemak tubuh yang berlebihan sebagai sumber energi alternatif, terutama saat kebutuhan energi untuk produksi susu tidak terpenuhi. Akumulasi BHB tidak hanya menjadi indikator NEB tetapi juga berdampak negatif pada kesehatan dan produktivitas sapi perah (Benedet et al. 2019).

*Insulin-like Growth Factor* IGF-1 adalah hormon peptida yang berperan dalam merangsang pertumbuhan dan memediasi fungsi reproduksi pada sapi perah post-partus, terutama dalam memulai kembali aktivitas ovarium, mendukung pertumbuhan folikel, serta memastikan ovulasi folikel dominan pertama (Waszkiewicz et al. 2020). Selama periode pemulihan post-partus, IGF-1 bersama insulin membantu mengembalikan fungsi reproduksi yang normal, namun kadar IGF-1 yang rendah dapat menurunkan produksi estrogen, menunda siklus estrus, dan memperpanjang periode tidak beranak. Pada sapi yang mengalami NEB, kadar IGF-1 mengalami penurunan drastis, berkisar  $51 \pm 8,4$  ng/ml pada NEB ringan dan turun hingga  $11 \pm 1,1$  ng/ml pada NEB parah (Fenwick et al. 2008). Nutrisi berperan penting dalam regulasi IGF-1, di mana kekurangan energi dan protein dapat menghambat produksinya serta menurunkan *Growth Hormone* (GH), yang berdampak negatif pada struktur dan fungsi tubuh. Kekurangan nutrisi selama awal laktasi tidak hanya mengurangi kadar IGF-1 dan GH, tetapi juga dikaitkan dengan berbagai kondisi patologis seperti penyakit kronis, peradangan, dan NEB (Yoshida 20).



hormon peptida yang diproduksi oleh kelenjar hipofisis anterior produksi susu serta pengaturan gairah seksual pada ternak, kendalikan oleh penghambatan dopamin dari hipotalamus (AI-). Selain fungsi laktasi, PRL juga berperan dalam sistem keseimbangan osmotik, bekerja langsung melalui reseptornya get untuk mempengaruhi proliferasi sel, ekspresi gen, serta

proses molekuler (Dobolyi et al. 2020). Sintesis PRL dimulai dari konsumsi pakan kaya protein yang dicerna menjadi asam amino sebagai bahan dasar pembentukan hormon, termasuk PRL dan IGF-1 (Nugroho, 2021). Pada sapi perah, kadar PRL meningkat dua hingga empat minggu sebelum partus sekitar 50 ng/mL, melonjak menjadi 234 ng/mL saat partus, lalu menurun menjadi 69 ng/mL selama enam minggu pertama laktasi dan stabil di 9 ng/mL dalam 90 hari pertama laktasi (Kurpinska dan Skrzypczak, 2019). Standar kadar BHB darah, hormon IGF-1 dan PRL pada sapi FH yang mengalami NEB dapat dilihat pada Tabel 1. Berikut:

**Tabel 1.** Standar Kadar BHB darah, Hormon IGF-1 dan PRL pada sapi FH yang mengalami NEB

No	Parameter	NEB Ringan	NEB Berat
1.	Kadar <i>Beta Hydroxybutirate</i> (mmol/L) <sup>1</sup>	0,59–0,97	1,1–3,71
2.	Hormon IGF-1 (ng/ml) <sup>1</sup>	51,0±8,4	11,0±1,1
3.	Hormon PRL (ng/mL) <sup>2</sup>	50,0	9,0

<sup>1</sup>Fenwick et al. 2008; <sup>2</sup>Kurpinska and Skrzypczak, 2019.

### 1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar BHB darah, hormon IGF-1, dan PRL pada sapi FH *post partus* yang diberi formula GC untuk mengurangi kejadian NEB.



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Waktu dan Lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus–Oktober 2024 di Dusun Panette, Desa Lebang, Kecamatan Cendana, Kabupaten Enrekang. Sampel kadar BHB darah, hormon IGF-1 dan PRL diuji di Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10, Tamalanrea, Makassar.

#### 2.2 Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan sapi perah FH *post partus* sebanyak 12 ekor, dengan umur 4–5 tahun dan berbobot badan rata-rata  $\pm 500$ kg.

Alat yang digunakan adalah parang, sekop pakan, gerobak pakan, ember, baskom, timbangan pakan, *hand mixer*, *vacutainer*, *cooler box*, *ice pack*, *centrifuge*, *mikrotube*, *mikropipet*, rak tabung, tabung EDTA, dan *elisa reader*.

#### 2.3 Rancangan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan ulangan sebanyak 4 yaitu sebagai berikut:

P0 = Konsentrat Komersil

P1 = *Green Concentrate* mengandung 5% indigofera dan 15% gamal

P2 = *Green Concentrate* mengandung 10% indigofera dan 20% gamal

Perlakuan P0 merupakan konsentrat yang tersedia secara komersial yang umumnya digunakan oleh para peternak, sedangkan P1 dan P2 merupakan konsentrat yang diformulasikan secara khusus yang mengandung tepung indigofera dan gamal sebagai sumber protein. Pada P1 mengandung 5% indigofera dan 15% gamal, sedangkan P2 mengandung 10% Indigofera dan 20% gamal.



## 2.4 Pembuatan Pakan Perlakuan

Konsentrat komersial dan GC yang diformulasikan dengan kandungan nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan sapi perah laktasi berdasarkan pedoman yang ditetapkan oleh NRC (2001). GC mengandung 16% PK dan minimal 70% Total Digestible Nutrients (TDN). Komposisi pakan secara rinci dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini:

**Tabel 2.** Komposisi Pakan Konsentrat

No.	Bahan	P0	P1	P2
1.	Konsentrat Komersil	100	0	0
2.	Tepung Indigofera	0	5	10
3.	Tepung Gamal	0	15	20
4.	Sorgum	0	16	16
5.	Dedak	0	23	13
6.	Bungkil Kelapa	0	20	10
7.	Jagung Giling	0	20	30
8.	Molases	0	1	1
Total		100	100	100

\*Data dianalisis di Laboratorium Nutrisi Ternak Perah, IPB University; P0=Konsentrat komersil; P1=Green concentrate formula 1; P2= Green concentrate formula 2

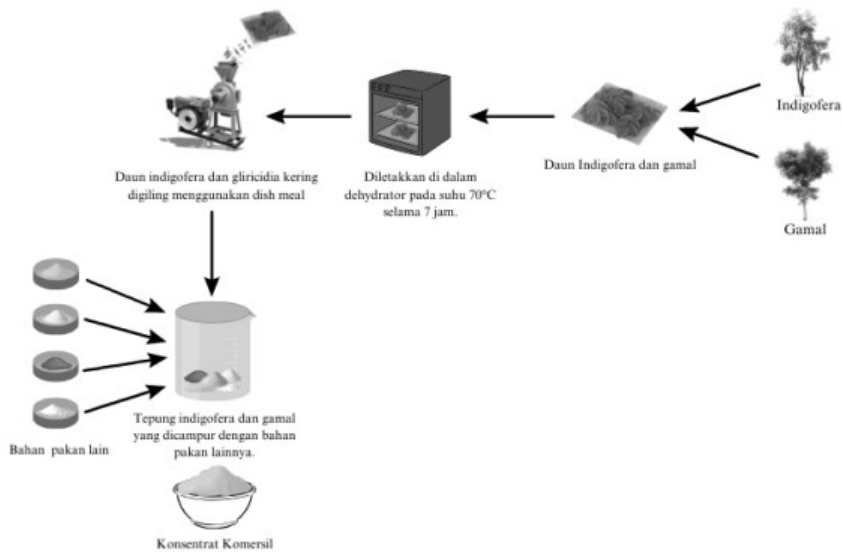
Pakan konsentrat komersial bersumber dari CV. Sarana Nutrisi Sembilan, yang dipasarkan dengan merek Rumfeed. Formulasi untuk GC terdiri dari bahan-bahan seperti indigofera, gliricidia, bungkil sorgum, jagung giling, bungkil kelapa, molases, dan dedak. Pembuatan tepung indigofera dan gamal dimulai dengan memanen tanaman, yang kemudian dikeringkan menggunakan dehidrator selama 7 jam pada suhu 70°C. Bahan baku digiling menjadi tepung dengan menggunakan *disc mill* (Gambar 1.). Kandungan nutrisi konsentrat komersial dan GC yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut:

**Tabel 3.** Kandungan Nutrisi Pakan Konsentrat (Analisis proksimat)

Kandungan nutrisi pakan konsentrat*	P0	P1	P2
PK (%)	15,12	16,12	17,06
LK (%)	2,90	6,17	4,97
SK (%)	12,96	4,73	5,39
BETN (%)	61,57	66,88	67,07
Air (%)	5,09	11,17	10,93
Abu (%)	7,44	5,81	5,64
	2668	4078	3981



\*Laboratorium Nutrisi Ternak Perah, IPB University; P0=Konsentrat komersil; P1=Green concentrate formula 1; P2= Green concentrate formula 2; PK= Protein kasar; LK= Lemak kasar; SK= Serat kasar; BETN=Bahan ekstrak tanpa nitrogen.

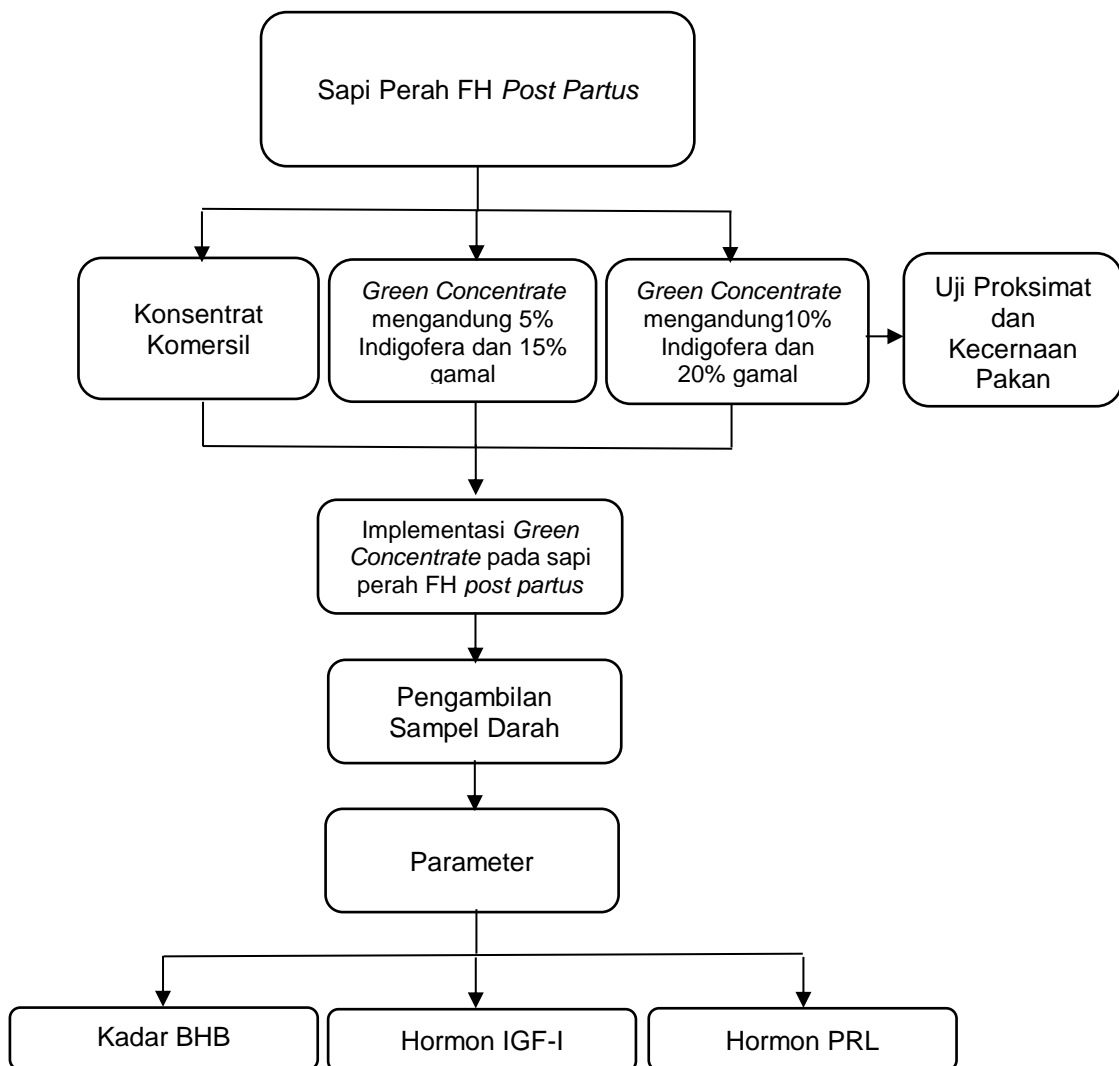


Gambar 1. Pembuatan *Green Concentrate*

## 2.5 Pelaksanaan Penelitian

Sapi perah yang digunakan pada penelitian ini diberi pakan dengan kandungan bahan kering (BK) sebesar 3% dari bobot badan (BB), yang terdiri dari 75% hijauan, khususnya rumput gajah (*Pennisetum purpureum*), dan 25% konsentrat. Penelitian ini dimulai dengan menyiapkan GC dan melaksanakan uji coba pakan konsentrat pada sapi perah FH *post partus*. GC yang telah diformulasikan diberikan pada sapi perah FH *post partus* selama 30 hari, termasuk fase adaptasi selama 7 hari. Sapi tersebut ditempatkan di kandang perawatan dan diberi makan tiga kali sehari pada pukul 6:00 wita, 11:00 wita, dan 16:00 wita. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini:





Gambar 2. Diagram Alir Penelitian

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke 30 penelitian untuk mengukur kadar BHB Darah, hormon IGF-1 dan PRL. Pengambilan darah dilakukan pada pukul 06.00 wita. Sampel darah diambil sebanyak 3 ml melalui vena jugularis dengan jarum *venoject* dan *venoject holder* dimasukkan ke dalam tabung



diletakkan dalam *cooler box*. Pengoleksian plasma dilakukan pada sampel darah selama 30 menit. Kemudian dilakukan centrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm guna pemisahan plasma. Plasma darah dipindahkan ke dalam *microtube* dan disimpan di suhu dingin. Setelah semua sampel terkumpul, sampel kemudian dikirim ke Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Jalan Tamalanrea Km. 10, Tamalanrea, Makassar.

## 2.6 Parameter

### 2.6.1 Kadar BHB Darah

Pengukuran kadar BHB darah dilakukan dengan metode *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). Pengukuran dimulai dengan menyiapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk. Pastikan semua reagen berada pada suhu kamar sebelum digunakan. Tambahkan 50µl larutan standar ke dalam *well* standar, tetapi jangan menambahkan *biotinylated antibody* ke dalam *well* ini. Tambahkan 40µl sampel ke dalam *well* sampel, diikuti dengan 10µl *antibody* anti-BHB dan 50µl *streptavidin*-HRP ke dalam *well* sampel serta *well* standar. Setelah itu inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, melakukan pencucian sebanyak 5 kali dengan *wash buffer*. Jumlah *wash buffer* yang digunakan pada setiap *well* sebanyak 300µl lalu didiamkan selama 1 menit. Meringkakan *well* dengan menggunakan *tissue*. Kemudian menambahkan 50µl larutan substrat A dan 50µl larutan substrat B ke setiap *well*, lalu inkubasi *well* yang selama 10 menit pada suhu 37°C. Lalu menambahkan 50µl *Stop Solution* ke setiap *well* dan amati perubahan warna dari biru menjadi kuning. Tentukan densitas optik (nilai OD) setiap *well*, setelah itu memasukkan *well* kedalam *mikroplate reader* untuk menentukan BHB yang disetel 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan larutan penghenti (BT Lab).

### 2.6.2 Kadar Hormon IGF-1

Pengukuran hormon IGF-1 dilakukan menggunakan metode ELISA. Dimulai dengan menyiapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk, serta pastikan bahwa semua reagen telah mencapai suhu kamar sebelum digunakan. Menambahkan 50 µL larutan standar ke dalam *well* yang telah disiapkan. Tanpa menambahkan *antibody*. Selanjutnya, tambahkan 40 µL sampel ke dalam *well* sampel, diikuti dengan penambahan 10 µL *antibody bovine* IGF-1 ke dalam *well* sampel. Setelah itu, tambahkan 50 µL *streptavidin*-HRP ke dalam *well* sampel dan *well* standar (kecuali *well* kontrol kosong), aduk hingga merata. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, lepaskan sealer dan melakukan pencucian sebanyak 5 kali dengan menggunakan *wash buffer*. Jumlah *wash buffer* yang digunakan pada setiap *well* sebanyak 300µl lalu didiamkan selama 1 menit. Meringkakan *well* dengan menggunakan *tissue*. Kemudian menambahkan 50µl larutan substrat A dan 50µl larutan substrat B ke setiap *well*, lalu inkubasi *well* selama 10 menit pada suhu 37°C. Menambahkan 50µl *Stop Solution* ke setiap *well* dan amati perubahan warna dari biru menjadi kuning. Tentukan densitas optik (nilai OD) setiap *well*, setelah itu memasukkan *well* ke dalam *reader* untuk menentukan BHB yang disetel 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan larutan penghenti (BT Lab).



### 2.6.3 Kadar Hormon Prolaktin

Pemeriksaan kadar hormon PRL dilakukan dengan *Prolactin ELISA Kit (Wuhan Fine Biotech Co. Ltd, China)*. Pertama-tama menyiapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai instruksi, serta biarkan semua reagen mencapai suhu ruangan sebelum digunakan, karena uji dilakukan pada suhu ruangan. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk uji, masukkan strip ke dalam frame, dan simpan strip yang tidak terpakai pada suhu 2–8°C hingga satu bulan. Untuk sumur blanko, hanya tambahkan larutan substrat A, larutan substrat B, dan larutan penghenti sebagai kontrol blanko. Tambahkan 50 µl larutan standar yang telah diencerkan ke well standar, tambahkan 50 µl sampel (disarankan pengenceran 2–5 kali jika diperlukan) ke well sampel, lalu tambahkan 50 µl antigen berbiotin ke setiap well, campur dengan baik, tutup dengan sealer, dan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Lepaskan sealer, buang cairan dalam sumur, dan cuci lima kali dengan 300 µl larutan pencuci secara manual dengan membalikkan pelat setiap kali, kemudian tepuk-tepuk di atas bahan penyerap untuk menghilangkan cairan sepenuhnya; untuk pencucian otomatis, aspirasi semua sumur dan cuci lima kali dengan larutan pencuci, lalu keringkan pelat di atas bahan penyerap. Tambahkan 50 µl avidin-HRP ke sumur standar dan sumur sampel, tutup pelat dengan sealer, dan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Lepaskan sealer dan cuci seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Tambahkan 50 µl larutan substrat A ke setiap sumur, lalu tambahkan 50 µl larutan substrat B ke setiap sumur, tutup dengan sealer baru, dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam kondisi gelap. Tambahkan 50 µl larutan penghenti ke setiap sumur, di mana warna biru akan segera berubah menjadi kuning. Tentukan nilai densitas optik (OD) dari setiap sumur menggunakan *mikroplate reader* yang disetel pada panjang gelombang 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan larutan penghenti (BT LAB).

### 2.7 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Apabila berpengaruh akan dilanjutkan dengan Uji Duncan (Gaspersz, 2012). Model statistik yang digunakan yaitu :

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

Keterangan :

i = Perlakuan (1,2, dan 3)

j = Pengulangan(1,2,3,dan 4)



an pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

ta hasil pengamatan

erlakuan ke-i

icak perlakuan ke-i dalam pengulangan ke-j