

## **BAB II**

### **EVALUASI PAKAN**

#### **A. Deskripsi Singkat**

Evaluasi pakan dapat diartikan sebagai pengujian kualitas pakan yang bertujuan memberikan informasi tentang komposisi pakan atau bahan pakan serta kesesuaiannya untuk kebutuhan unggas. Pakan unggas terdiri dari banyak bahan, yang secara garis besar dikelompokkan menjadi penyedia energi (lemak, minyak dan karbohidrat), protein (asam amino), vitamin, dan mineral. Bijian seperti gandum, sorgum, dan jagung biasanya memberikan energi, ementara kedelai, dan kacang tanah menyediakan protein. Bahan-bahan pakan tersebut kemudian digabungkan sedemikian rupa untuk memenuhi kebutuhan energi, protein, vitamin dan mineral bagi unggas melalui proses formulasi pakan.

Untuk mengetahui berapa jumlah bahan-bahan ini yang harus dimasukkan dalam pakan, bahan-bahan tersebut harus dievaluasi terlebih dahulu, untuk melihat nutrisi apa yang dikandungnya dan dalam jumlah berapa. Setelah pakan disiapkan, mungkin juga perlu untuk mengevaluasi produk lengkap, untuk menentukan kesesuaiannya untuk jenis unggas yang akan diberi makan (seperti telur petelur, ayam pedaging atau breeder).

Evaluasi pakan adalah proses kunci dalam industri perunggasan. Bahan pakan perlu diuji untuk merumuskan pakan lengkap, dan pakan harus dievaluasi

untuk menentukan kesesuaiannya untuk unggas. Evaluasi pakan memberikan berbagai jenis informasi, seperti yang dipersyaratkan oleh ahli nutrisi dan peternak.

### **A. Petunjuk Belajar**

Pelajarilah materi modul ini dengan baik. Selanjutnya untuk mendapatkan pemahaman dan ketrampilan yang lebih baik, maka lakukan praktek ke laboratorium dan peternakan. Amati langkah yang dilakukan pada saat bahan pakan datang, bagaimana pengambilan sampel bahan dilakukan, evaluasi apa yang dilakukan pada sampel bahan, dan sampel pakan. Amati juga alat yang digunakan pada evaluasi tersebut.

### **INTI**

#### **A. Capaian Pembelajaran**

Mahasiswa memahami dan dapat melakukan proses pelaksanaan kegiatan evaluasi bahan pakan termasuk diantaranya adalah jenis evaluasi, prinsip evaluasi dan tujuan evaluasi bahan pakan.

#### **B. Pokok Pokok Materi**

1. Evaluasi Fisik
2. Evaluasi Kimia
3. Evaluasi Nilai Tabel
4. Evaluasi Prediksi Persamaan
5. Evaluasi NIRS
6. Evaluasi In Vivo
7. Evaluasi In Vitro

## **C. Uraian Materi**

### **Pengukuran Kualitas Pakan**

Pakan dan bahan pakan dapat dievaluasi secara fisik maupun kimia. Evaluasi fisik pakan sebagian besar memberikan informasi awal tentang kualitas bahan. Pengukuran ini melibatkan penilaian kualitas fisik seperti berat, warna, bau dan apakah bahan telah terkontaminasi oleh bahan lain. Secara kimiawi, pakan terdiri dari air dan bahan kering. Bahan kering mengandung senyawa organik dan anorganik. Bagian organik pakan terutama terdiri dari karbohidrat, protein, vitamin dan lemak dan minyak. Bagian anorganik terbuat dari unsur mineral, juga dikenal sebagai abu. Pakan atau bahan pakan dapat dianalisis untuk memberikan nilai dari masing-masing komponen tersebut. Selain mendapatkan nilai komposisi kimia, tingkat pemanfaatan komponen ini oleh unggas, yang disebut nutrient, juga diukur.

Kualitas pakan diukur dengan memecah komponen pakan secara kimiawi menjadi komponen-komponen yang telah disebutkan. Saat ini untuk kebutuhan dunia industri, komponen-komponen besar (karbohidrat, protein, lemak) dipecah lagi menjadi fraksi analitik yang lebih kecil, sehingga nilai pati dan komponen non-pati (disebut serat) dari karbohidrat dapat terukur. Nilai protein diukur berdasarkan dari asam amino penyusunnya, sepuluh diantaranya harus ada dalam pakan unggas (esensial), sehingga jumlahnya harus dapat diukur selama evaluasi pakan.

Evaluasi pakan paling akurat adalah respon unggas terhadap pakan tersebut. Nilai gizi tinggi tidak selalu diikuti dengan peningkatan pertumbuhan atau produksi telur. Evaluasi biologis memberikan informasi tentang berapa banyak masing-masing

fraksi dalam pakan, yaitu pati atau energi, protein (asam amino), lemak, mineral atau vitamin yang digunakan oleh unggas. Ketika pakan diberikan kepada unggas, mereka hanya mampu memecah sebagian kecil dari pakan dan menyerapnya ke dalam tubuh untuk pertumbuhan dan produksi telur. Sisanya dikeluarkan dalam feses dan urin, yang diekskresikan bersama oleh unggas. Jumlah nutrisi yang disimpan oleh unggas merupakan indikasi nilai nutrisi pakan.

Evaluasi pakan penting karena bahan-bahan yang termasuk dalam kelas yang sama mengandung nutrisi yang berbeda; misalnya, jagung menyediakan lebih banyak energi daripada gandum sementara kedelai mengandung lebih banyak protein daripada bahan sumber protein lain. Kualitas bahan pakan yang sama dapat bervariasi tergantung sumber (daerah, supplier), dan waktu. Standar pemberian pakan telah ditetapkan untuk berbagai jenis unggas, sehingga kebutuhan nutrisi yang berbeda harus dipenuhi dengan tepat.

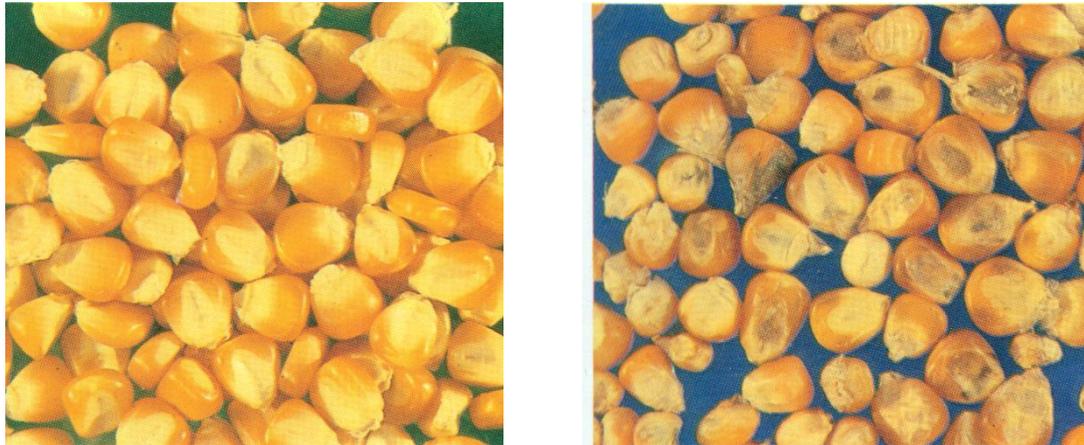
### **1. Evaluasi fisik**

Evaluasi fisik merupakan evaluasi paling mudah tetapi sifatnya kasar. Seseorang harus sangat terlatih untuk mengidentifikasi perubahan sifat bahan baku atau pakan. Evaluasi fisik pada bahan pakan dapat dilakukan dengan Uji Organoleptik atau uji indera atau uji sensori. Uji organoleptik adalah pengukuran pada kualitas bahan pakan dengan menggunakan indera manusia sebagai alat utama. Pengujian tersebut bersifat subjektif dan sangat tergantung dengan pengalaman dan kepekaan seseorang. Pengujian organoleptik mempunyai peranan penting sebagai penentu awal

penilaian mutu bahan pakan karena dapat memberikan indikasi kebusukan, penurunan mutu, dan kerusakan lainnya dari produk bahan pakan. Salah satu contoh evaluasi kualitas bekatul dengan cara diraba atau digosok dengan kedua telapak tangan. Apabila bekatul tersebut terlalu kasar, maka bisa disimpulkan bahwa kandungan serat kasarnya tinggi dan banyak campuran sekam. Perubahan kondisi fisik bahan pakan juga dapat sebagai indikasi awal apabila terjadi perubahan kandungan nutrisi (tengik, berjamur, berketu). Aspek yang dapat dilihat dari pengukuran fisik sebagai berikut :

**a. Warna**

Penampilan bahan pakan dapat mengungkapkan kualitasnya. Perubahan warna bahan pakan menunjukkan adanya kematangan, kondisi penyimpanan, adanya toksin, kontaminasi, kemungkinan penggunaan insektisida/fungisida yang memberikan penampakan kusam dan berdebu. Salah satu contoh perubahan warna jingga sampai merah pada sorgum menunjukkan kandungan tanin yang tinggi. Pencoklatan atau penghitaman karena panas pada penyimpanan yang tidak tepat mengurangi nilai gizi. Perubahan warna pada jagung dapat dilihat pada Gambar 1. Pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa terjadi perubahan warna biji jagung menjadi kecoklatan atau kehitaman karena mengalami kerusakan secara mikrobiologis .



Gambar 1. Jagung sebelum disimpan dan setelah dilakukan penyimpanan



Gambar 2. kedelai yang mengalami perubahan warna pada penyimpanan dan kedelai sebelum dilakukan penyimpanan (Tangendjadja, 2021)

### **b. Ukuran**

Ukuran bahan pakan dapat mengindikasikan kerusakan fisik dan terjadi penurunan kualitas. Contoh perubahan ukuran yang terjadi pada jagung yang menjadi patah (broken kernel) dapat disebabkan dari proses transportasi dan processing. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan penampilan jagung. Ukuran butir juga akan mempengaruhi nilai energinya karena penurunan atau peningkatan perbandingan

antara biji dan kulitnya. Semakin kecil butir, semakin rendah nilai metabolizable energy (ME) karena akan mempengaruhi proporsi pelapis yang lebih banyak. Untuk mengevaluasi bijian, berat sejumlah butir tetap biasanya diambil 100 butir atau volume tetap. Bobot yang lebih tinggi menunjukkan nilai ME yang lebih tinggi. Teknik ini disebut Bobot Uji.

**b. Homogenitas**

Uji Homogenitas pada bahan pakan bertujuan untuk melihat keseragaman pada bahan pakan terutama pada bahan pakan biji-bijian. Pengujian tersebut juga dapat digunakan untuk menentukan persentase butir utuh, butir pecah, butir rusak dan butir berjamur. Kehadiran kontaminan seperti biji-bijian lain, sekam, biji gulma, biji yang terkontaminasi jamur dapat diidentifikasi. Pada bungkil biji minyak pengamatan lebih dekat akan mengungkapkan adanya bahan berserat, terutama pada bungkil kacang tanah yang dihilangkan minyaknya. Dedak dapat terkontaminasi sekam.

**c. Bau**

Bau adalah indikator lainnya. Manajer pabrik harus membiasakan diri dengan bau normal dari bahan-bahannya; setiap perubahan dari bau normal dapat menunjukkan hal yang perlu dievaluasi. Bau apek menandakan awal dari kontaminasi jamur atau serangga. Kerusakan bahan pakan yang mengandung minyak dapat ditandai ketengikan. Penggunaan pestisida atau fungisida yang berlebihan juga akan mempengaruhi bau bahan pakan

**d. Rasa**

Setiap bahan memiliki rasa yang berbeda, setiap perubahan rasa seperti pahit pada biji-bijian, kedelai, tepung minyak bunga matahari dan bungkil kacang tanah menunjukkan adanya mikotoksin. Tingkat garam juga dapat dideteksi dengan mencicipi bahan dan pakan. Rasa pahit dari dedak menunjukkan ketengikan asam lemak.

**e. Tekstur**

Kandungan air bahan pakan dapat dievaluasi dari tekstur. Bahan pakan yang menggumpal menunjukkan kadar air yang tinggi, penyimpanan yang tidak tepat, atau kemasan yang kurang baik. Gumpalan yang terbentuk karena kelembaban yang berlebihan akan sangat keras. Untuk mengevaluasi semir beras, letakkan sekitar 25g semir beras di telapak tangan dan tutup jari dengan erat lalu buka jari, semir beras akan menjadi seperti massa padat jika kadar serat kasarnya di bawah 12 persen. Jika tingkat seratnya tinggi, massa akan hancur begitu jari dibuka. Tekanan lebih lanjut akan terasa ketika tangan ditutup dengan semir beras berserat tinggi.

**f. Suara**

Biji-bijian kering saat dituangkan atau digigit akan menghasilkan suara seperti koin yang tumpah.

**2. Evaluasi kimia**

Estimasi yang tepat dari kandungan nutrisi dan kontaminan dapat dilakukan melalui analisis kimia. Hasil analisis dapat menunjukkan apakah suatu bahan pakan

memiliki faktor pembatas untuk digunakan, misalnya kandungan serat kasar, lemak, atau abu total yang berlebihan. Kandungan protein kasar (PK) rendah dan serat kasar (SK) tinggi dari suatu bahan tepung bungkil menunjukkan bahan tersebut telah dicampuri dengan bahan berserat. Kandungan PK yang terlalu tinggi juga dapat menjadi indikasi pemalsuan/penambahan urea. Jumlah abu yang tidak larut dalam asam kuat menunjukkan keberadaan pasir atau kotoran lain yang mungkin ada.

Analisis proksimat merupakan metode yang banyak dan rutin digunakan untuk mengukur kandungan nutrisi bahan pakan dan pakan. Sistem ini, dirancang pada pertengahan abad kesembilan belas di Weende Experiment Station di Jerman (Damodaran et al., 2008), memberikan ukuran kasar kadar air, abu, lemak, protein dan serat, sementara bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) yang mewakili gula dan pati, dihitung dengan perbedaan bukan melalui analisis.

Sistem analisis ini dikembangkan pada saat kimia bahan pakan belum dipahami sepenuhnya. Namun demikian, analisis proksimat merupakan langkah pertama dalam analisis pakan. Dalam beberapa dekade terakhir, terminologi untuk menggambarkan serat kasar telah menjadi lebih akurat dengan kemajuan dalam sistem serat deterjen (van Soest, 1963) dan analisis polisakarida (Nielsen, 2010). Selama 50 tahun terakhir, banyak penelitian telah dikhususkan untuk pengembangan dan perbaikan persamaan prediksi berdasarkan analisis kimia (Carpenter dan Clegg, 1956; Fisher, 1982; Carr e et al., 2013). Namun, keterbatasan utama dalam penggunaan analisis kimia rutin adalah waktu yang dibutuhkan untuk analisis, biaya,

kebutuhan peralatan khusus untuk prosedur laboratorium dan penggunaan dan pembuangan bahan kimia berbahaya yang digunakan (Leeson, 1997; Noblet dan Jaguelin-Peyraud, 2007). Pada umumnya, analisis kimia hanya memberikan informasi tentang kandungan nutrisi bahan pakan atau pakan namun tidak dapat menggambarkan pencernaan nutrisi. Tidak ada bahan pakan yang 100% dapat dicerna dan potensi nilai gizi untuk unggas tidak sepenuhnya dipahami.

Sebagian substrat dari bahan pakan (10% hingga 20%) biasanya tidak tercerna dan dikeluarkan (Ravindran, 2013). Kandungan nutrisi yang dipasok dari bahan pakan tidak sama dengan jumlah yang tersedia bagi sel untuk metabolisme ternak. dan pemanfaatannya hanya dapat dievaluasi melalui uji menggunakan ternak (in vivo).

Tabel 1. Komponen Fraksi Hasil Analisis Proksimat

No	Fraksi	Komponen
1	Air	Air dan senyawa organik yang mudah menguap
2	Abu	Mineral
3	Protein Kasar	Protein, asam amino, NPN
4	Lemak Kasar	Lemak, minyak, asam organik, lilin, pigmen, vitamin ADEK
5	Serat Kasar	selulosa, hemiselulosa, lignin
6	BETN	Pati, gula, selulosa, hemiselulosa, lignin

Analisis proksimat pada umumnya dipergunakan untuk mengetahui kandungan air, protein, lemak, bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN), serat kasar dan abu dari bahan pakan maupun pakan. Jumlah BETN dengan serat kasar merupakan

total karbohidrat. Komponen Fraksi yang diperoleh dari hasil analisis proksimat dapat dilihat pada Tabel 1. Skema pembagian fraksi dari Analisis Proksimat dapat dijabarkan sebagai berikut :

a. Bahan Kering

merupakan salah satu bagian penting dalam analisis proksimat dan secara umum telah banyak dipergunakan dalam pengukuran analitik. Kadar bahan kering sering dipergunakan sebagai indeks kestabilan dan kualitas suatu bahan pakan. Prinsip Penetapan kadar bahan kering yaitu dengan pemanasan  $105^{\circ}\text{C}$ , air yang terkandung dalam suatu bahan pakan akan menguap seluruhnya. Bahan yang tertinggal setelah penguapan air disebut bahan kering. Secara umum terdapat tiga metode pengeringan untuk determinasi bahan kering pakan (Suparjo,2010) yaitu:

- Pengeringan temperatur rendah (*low-temperature drying*). Beberapa laboratorium melaksanakan pengeringan suhu rendah dengan menggunakan vacuum drying oven ( $30^{\circ}\text{C}$ , tekanan 16 mm Hg). Metode pengeringan ini akan membantu mengurangi hilangnya senyawa yang mudah menguap dan mengurangi kehilangan akibat aktivitas enzim.
- Pengeringan temperatur tinggi (*high-temperature drying*). Kebanyakan laboratorium melaksanakan pengeringan temperatur

tinggi dengan menggunakan oven pada suhu 105<sup>0</sup>C. Metode ini banyak menyebabkan kehilangan senyawa yang tidak tahan panas.

- Pengerinan beku (*freeze drying*). Dengan mempertimbangkan perubahan senyawa kimia menjadi sekecil mungkin saat pengerinan. Metode ini kurang dapat dijadikan patokan akhir dalam menentukan bahan kering sampel. Berdasarkan hasil pengamatan cukup banyak

Bahan Pakan (100%)	Air	Air	Air	Air	Air	
	Bahan Kering	Abu	Abu	Abu	Abu	
		Bahan Organik	PK	PK	PK	
			LK	LK	LK	
			Bahan Organik Tanpa Nitrogen	Karbohidrat	SK	Bahan
					Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen	

Gambar 3. Skema pembagian fraksi dari Analisis Proksimat

b. Kadar air

merupakan kandungan air dalam sel dari bahan baku. Semakin rendah kadar air dalam bahan pakan, semakin jauh terhindar dari aflatoksin. Sebaiknya bila kandungan airnya tinggi, dimungkinkan mudah rusak terkena aflatoksin. Prosedur pengujian kadar air sama dengan dengan pengujian kadar bahan kering atau BK.

c. Kadar Abu

Komponen abu pada analisis proksimat tidak memberikan nilai makanan yang penting karena abu tidak mengalami pembakaran sehingga tidak menghasilkan energi. Jumlah abu dalam bahan pakan hanya penting untuk menentukan perhitungan bahan ekstrak tanpa nitrogen. Meskipun abu terdiri dari komponen mineral, namun bervariasinya kombinasi unsur mineral dalam bahan pakan asal tanaman menyebabkan abu tidak dapat dipakai sebagai indeks untuk menentukan jumlah unsur mineral tertentu. Kadar abu suatu bahan pakan ditentukan dengan pembakaran bahan tersebut pada suhu tinggi (500-600°C). Pada suhu tinggi bahan organik yang ada akan terbakar dan sisanya merupakan abu.

d. Kadar Protein Kasar

Protein merupakan senyawa organik nitrogen kompleks yang esensial bagi proses kehidupan dan merupakan unsur pokok dalam makanan. Dengan menggunakan metode Kjeldahl, kadar protein dapat ditaksir dari hasil analisis

nitrogen dikalikan dengan faktor protein; 6.25. Angka 6.25 diperoleh dengan asumsi bahwa protein mengandung 16% nitrogen. Kelemahan analisis proksimat untuk protein kasar itu sendiri terletak pada asumsi dasar yang digunakan. Pertama, diasumsikan bahwa semua nitrogen bahan pakan merupakan protein, 1 kenyataannya tidak semua nitrogen berasal dari protein dan kedua, bahwa kadar nitrogen protein 16 persen, tetapi kenyataannya kadar nitrogen protein tidak selalu 16 persen. Penentuan kadar protein melalui metode Kjeldahl dilakukan melalui tahap sebagai berikut:

- Proses destruksi (oksidasi). Perubahan N-protein menjadi amonium sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ). Sampel dipanaskan dengan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pekat dan katalisator yang akan memecah semua ikatan N dalam bahan pakan menjadi amonium sulfat kecuali ikatan  $\text{N}=\text{N}$ ,  $\text{NO}$  dan  $\text{NO}_2$ .  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  terus menguap.  $\text{SO}_2$  yang terbentuk sebagai hasil reduksi dari sebagian asam sulfat juga menguap. Dalam reaksi ini digunakan katalisator selenium/Hg/Cu. Destruksi dihentikan jika larutan berwarna hijau jernih.
- Proses destilasi (penyulingan). Setelah larutan menjadi hijau jernih, labu destruksi didinginkan kemudian larutan dipindahkan ke labu destilasi dan diencerkan dengan aquades. Pengenceran dilakukan untuk mengurangi reaksi yang hebat jika larutan ditambah larutan alkali. Penambahan alkali ( $\text{NaOH}$ ) menyebabkan

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  akan melepaskan amoniak ( $\text{NH}_3$ ). Hasil sulingan uap  $\text{NH}_3$  dan air ditangkap oleh larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  yang terdapat dalam labu erlenmeyer dan membentuk senyawa  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  kembali. Peyulingan dihenti-kan bila semua N sudah tertangkap oleh asam sulfat dalam labu erlenmeyer.

- Proses titrasi. Kelebihan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  yang tidak digunakan untuk menangkap N dititrasi dengan  $\text{NaOH}$ . Titrasi dihentikan jika larutan berubah dari biru ke hijau.

e. Kadar Lemak Kasar

merupakan bahan yang tidak larut di dalam air, sangat sedikit larut di dalam alkohol dan larut di dalam pelarut organik seperti : karbon tetraoksida, karbon disulfida, ether anhydrase, atau petroleum ether, acetone. Metode yang dipergunakan untuk menentukan kadar lemak adalah dengan " ekstraksi soxhlet ". Pada umumnya dengan metode ini hasil akhirnya dinyatakan sebagai " Crude Fat " atau acetone/ether extract ".

f. Kadar Serat Kasar

Pakan ternak harus cukup kadar seratnya untuk memepertahankan dan memeperbaiki kesehatan saluran pencernaan hewan ternak. Pada ternak ruminansia, hijauan merupakan komponen utama yang didalamnya terdapat

kandungan serat yang cukup tinggi. Dalam pakan unggas, komponen serat terdapat pada bijian. Serat kasar merupakan residu dari bahan makanan atau pertanian setelah diperlakukan dengan asam atau alkali mendidih, dan terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin dan pentosan. Serat kasar adalah suatu indikator dari daya cerna bulkinos dari suatu bahan. Serat kasar adalah senyawa yang tidak larut jika direbus dalam larutan  $H_2SO_4$  dan  $NaOH$ . Tujuan penambahan  $H_2SO_4$  untuk menguraikan senyawa N dan lemak dalam bahan pakan agar mudah larut.

g. Kadar BETN

Kandungan BETN suatu bahan pakan sangat tergantung pada komponen lainnya, seperti abu, protein kasar, serat kasar dan lemak kasar. Hal ini disebabkan penentuan kandungan BETN hanya berdasarkan perhitungan dari zat-zat yang tersedia. Bias yang ditemukan pada perhitungan tergantung pada keragaman hasil yang diperoleh.

### **3. Evaluasi Nilai tabel**

Formulasi pakan di sebagian besar industri unggas bergantung pada dan menggunakan nilai-nilai yang telah ada pada tabel atau ditabulasi. Nilai tabel ini bersifat global dari rata-rata nilai kandungan nutrisi dari bahan pakan yang telah dipublikasikan baik berasal lokal dan sumber dari seluruh dunia. Jumlah database

tersebut tersedia dari berbagai organisasi dan negara; contoh termasuk WPSA (1986), NRC (1994), INRA (2002), CVB (2016), Evonik (2016), FEDNA (2017), Feedipedia (2017) dan Rostagno dkk. (2017). Terdapat inkonsistensi data dari sumber yang berbeda. Misalnya, nilai AME bungkil kedelai adalah 9,92, 9,71, 9,04, 9,80, 9,55 dan 9,71 MJ/kg di NRC (1994), INRA (2002), CVB (2016), Evonik (2016), Rostagno dkk. (2017) dan FEDNA (2017). Variasi nilai ini dapat dijelaskan antara lain oleh perbedaan dalam komposisi kimia, adanya faktor anti nutrisi (ANF), umur dan jenis ayam, dan dan metodologi penelitian yang digunakan (Mateos et al., 2018). Dalam penggunaan data tabel, biasanya data lokal dikombinasikan dengan data dari tempat lain, meskipun diakui bahwa iklim, kultivar, dan kondisi pertumbuhan yang spesifik untuk kondisi lokal dapat mempengaruhi kandungan nutrisi. Variabilitas menjadi lebih tinggi untuk bahan pakan non-konvensional (Mateos et al., 2018).

Sebagian besar perusahaan pakan saat ini menggunakan nilai tabel, tetapi seringkali memodifikasinya berdasarkan data analitik lokal, pengalaman praktis atau data NIRS.

#### **4. Evaluasi Prediksi Persamaan**

Beberapa literature metode ini dan hampir semuanya digunakan untuk estimasi energi metabolis (ME) atau AME, untuk unggas, dari pakan campuran berdasarkan komposisi kimianya (Carpenter dan Clegg, 1956; Sibbald, 1980; Carre et al., 1984, 2013). Persamaan ini terbatas dan hasilnya akan sedikit membingungkan ketika diekstrapolasi untuk memprediksi ketersediaan energi dari bahan pakan tunggal.

Beberapa persamaan tersedia untuk pakan lengkap, lebih sedikit persamaan yang tersedia untuk bahan pakan (tunggal). Janssen (1989) menerbitkan sebuah tabel dengan persamaan untuk bahan baku utama yang tersedia dan tetap menjadi sumber utama informasi sampai saat ini. Metode persamaan ini belum mengalami pembaruan dan, mengingat kemajuan dalam genetika tanaman dan industri unggas dari waktu ke waktu, validitasnya menjadi terbatas. Prediksi persamaan dianggap akurat untuk menghitung AME dan TME bahan pakan tertentu berdasarkan analisis proksimat (Batal dan Dale, 2006; Alvarenga et al., 2011; Meloche et al., 2013,2014). Meskipun persamaan ini berhasil memprediksi kandungan energi untuk sampel bahan pakan tertentu, akurasi bahan pakan lainnya belum dapat divalidasi.

Secara umum, penggunaan metode ini untuk evaluasi rutin dianggap tidak praktis karena beberapa alasan. Pertama, kebanyakan persamaan hanya didasarkan pada komposisi nutrisi bahan pakan. Ini membatasi kegunaannya untuk bahan-bahan dengan ANF yang tidak tahan panas seperti bungkil kedelai yang terlalu banyak atau kurang diproses (Mateos et al., 2018). Kedua, asumsi bahwa protein, pati dan lipid sama-sama dapat dicerna, dan kecernaannya konstan terbukti tidak benar (Cerrate et al., 2019).

Ketiga, seberapa tepatnya mereka dihitung, metode ini tidak berlaku umum terutama ketika memprediksi AME dari bahan pakan tunggal (Farrell, 1999). Keempat, nilai gizi bahan pakan, kebutuhan unggas, dan perubahan manajemen selama bertahun-tahun. Selain itu, kesalahan analitik dapat mempengaruhi keandalan persamaan.

Idealnya, konstituen variabel dari suatu persamaan harus datang dari prosedur analitis sederhana. Carre (1991) menemukan bahwa dimasukkannya parameter terkait dinding sel dapat meningkatkan akurasi persamaan prediksi untuk AME berdasarkan komponen analisis proksimat. Umumnya kandungan protein kasar, abu, lemak, pati, gula dan serat kasar merupakan parameter analitik yang penting. Cerrate dkk. (2019) menyarankan serangkaian persamaan untuk memprediksi nilai energi dari nutrisi yang dapat dicerna dan persamaan yang ditetapkan untuk AME dan NE dari pakan campuran.

#### **5. Near-infrared spectroscopy reflectance (NIRS)**

NIRS merupakan teknik yang sudah digunakan secara luas di pabrik pakan untuk mengukur kandungan nutrient (kelembaban, protein dan lemak) dan serat deterjen, dan juga untuk prediksi kasar kandungan asam amino (AA) dan fitat. Teknik ini berdasarkan penyerapan radiasi infra merah oleh ikatan kimia dalam bahan organik. Selain cepat, NIRS juga dianggap sebagai metode non-destruktif, membutuhkan persiapan sampel dan reagen kimia minimal, dengan akurasi hasil tinggi. Semua faktor ini menyebabkan metode ini menjadi salah satu yang paling banyak digunakan (van Kempen and

Bodin, 1998; Pujol dkk., 2007; Owens et al., 2009).

Meskipun NIRS pada dasarnya bergantung pada ikatan kimia, spektrum terkadang dapat dikaitkan dengan parameter yang lebih kompleks karena

hubungan antara parameter dan senyawa kimia tertentu (atau kimia-fisika) yang dikandung sampel. Hal tersebut menyebabkan NIRS juga dapat digunakan untuk memprediksi kandungan energi atau parameter pencernaan. Untuk prediksi ME dengan NIRS, dibutuhkan kalibrasi langsung dari berbagai nilai *in vivo* bahan pakan. Penelitian awal oleh Valdes dan Leeson (1992), mengkalibrasi ME dari 80 pakan unggas. Faktor utama variasi ME dalam penelitian mereka adalah kandungan lemak, yang diprediksi dengan baik oleh NIRS. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa metode NIRS dapat memprediksi nilai energi bahan konsentrat pati dan serat untuk ayam jantan (Losada et al., 2009) dan ayam broiler (Owens et al., 2009).

Sementara NIRS ekonomis, cepat dan banyak digunakan untuk memprediksi komposisi kimia pakan dan bahan pakan, menggunakan NIRS untuk prediksi pencernaan lebih rumit karena membutuhkan sejumlah besar data referensi. Garnsworthy dkk. (2000) melaporkan bahwa pencernaan nitrogen di ileum tidak dapat diprediksi dengan baik ( $r = 0,22$ ) oleh NIRS. Owens dkk. (2009) juga menemukan bahwa prediktabilitas pencernaan protein sangat bervariasi ( $r$  0,23-0,76) dalam gandum menggunakan metode NIRS.

Beberapa batasan yang terkait dengan penggunaan teknologi NIRS

(1) Sistem NIRS mahal, (2) membutuhkan kalibrasi yang akurat, hati-hati, dan berkelanjutan (Patience et al., 2009), (3) kualitas prediksi NIRS tergantung pada akurasi dan pengulangan dari nilai referensi yang digunakan untuk kalibrasi (Leeson

1997; Owens dkk., 2009). Data referensi ini harus berasal dari uji pencernaan *in vivo*, yang membuatnya bergantung pada penelitian pada ternak secara berkesinambungan (Jha dan Tiwari, 2016). (4) teknik ini membutuhkan keahlian statistik untuk mengkalibrasi dan memvalidasi hasilnya (Jha dan Tiwari, 2016). Selanjutnya, NIRS menembus jauh ke dalam sampel karena panjang gelombang dan kedalaman penetrasi tergantung pada ukuran partikel dan kerapatan partikel (De Thomas and Brimer, 2002). Jadi, tidak hanya bahan pakan atau pakan tetapi juga sifat fisik lainnya harus dipertimbangkan (Jha dan Tiwari, 2016). Meskipun, dalam teknik NIRS beberapa parameter kualitas dapat dianalisis secara bersamaan tetapi, tidak dapat menentukan distribusi senyawa kimia dalam sampel (Wu et al., 2008; Kumar et al., 2016).

Teknik baru yang menggabungkan sifat pencitraan dan spektroskopi disebut *hyperspectral imaging* (HSI) atau pencitraan spektroskopi. Teknik HSI mampu memberikan deteksi secara simultan dan kuantifikasi dan lokalisasi konstituen kimia sampel. Karena fitur gabungan dari pencitraan dan spektroskopi, HSI telah menjadi teknik yang menjanjikan untuk kualitas makanan tak rusak, serta, analisis keamanan, khususnya dalam industri daging.

Secara umum, metode NRIS lebih cepat dan mampu memperkirakan beberapa konstituen masing-masing sampel dalam satu pengukuran secara real-time dibandingkan dengan metode analisis lainnya. Keuntungan lainnya dari metode ini adalah bahwa kalibrasi dikembangkan dalam satu Instrumen NIRS dapat ditransfer ke instrumen NIRS lainnya melalui proses yang disebut transfer kalibrasi

(FernandezAhumada et al., 2008; van Kempen dan Simmins, 1997). Namun, perlu dicatat bahwa metode NIRS masih memerlukan data dari analisis kimia, in vivo dan studi in vitro, sehingga metode ini mungkin tidak dipertimbangkan secara independen dalam evaluasi pakan.

## **6. Evaluasi in vivo**

Metode in vivo dilakukan dengan mengukur respons ternak langsung terhadap pemberian pakan dan merupakan metode terbaik untuk menentukan nilai nutrisi bahan pakan.

### **6.1. Evaluasi energi**

Pengukuran energi yang ideal harus mudah diukur, dapat diprediksi melalui performans ayam, aditif dalam formulasi pakan dan tidak bergantung pada faktor ternak. Namun, metabolisme energi terlalu kompleks untuk memenuhi semua kondisi ideal tersebut. Sejak 1950-an, AME telah menjadi sistem pilihan untuk menggambarkan energi yang tersedia untuk unggas (Hill and Anderson, 1958). Energi sesungguhnya yang dapat dimetabolisme (TME) menjadi populer di 1980-an tetapi sejak itu kehilangan dukungan karena masalah animal welfare. Saat ini, AME adalah sistem yang diterima secara luas untuk menggambarkan energi yang tersedia dan akan tetap menjadi sistem yang dipilih di masa mendatang. Pengukuran AME bukan sistem yang sempurna dan memiliki sejumlah keterbatasan (Mateos et al., 2018; Wu et al., 2020), namun mudah diukur, dan universal.

Masalah utama dengan data AME yang tersedia adalah terdapat variabilitas yang tinggi. Variabilitas terutama disebabkan dua faktor yaitu, (1) variabilitas bawaan bahan baku, dan (2) perbedaan yang timbul dari metodologi yang digunakan oleh peneliti. Sebagai konsekuensinya adalah bahwa pengukuran AME perlu ditingkatkan dengan menstandarisasi metodologi dan kemudian variasi bahan yang sebenarnya dapat diukur

dan AME di seluruh laboratorium akan menjadi sebanding. Sebagai contoh,

Hitam dkk. (2005) menggunakan metodologi standar, dalam hal:

Pakan yang diuji, usia dan strain ayam, pemrosesan biji-bijian dan analisis laboratorium, untuk menguji sejumlah besar sampel dari 5 biji-bijian sereal untuk menggambarkan perbedaan sampel yang sebenarnya. Baru-baru ini, Wu et al. (2020) mengusulkan standarisasi prosedur yang digunakan dalam percobaan *in vivo*.

Sistem *Nett Energy* (NE), penyempurnaan dari konsep AME, terus mendapat perhatian dari waktu ke waktu (Swick et al., 2013; Wu et al., 2020). Secara teori, NE akan lebih menggambarkan energi yang tersedia dalam bahan untuk fungsi metabolisme ayam dan lebih memprediksi performans ayam. Namun, pengukuran NE merupakan pengujian yang sulit, mahal dan memakan waktu.

## 6.2 Evaluasi protein

Seabad yang lalu, pakan unggas dicampur berdasarkan kebutuhan protein kasar. Dengan kemajuan dalam analisis kimia, sejak abad ke-20 terjadi pergeseran ke

kandungan asam amino (Elwinger et al., 2016). Selama 30 tahun terakhir, dasar formulasi pakan secara bertahap bergeser ke sistem AA yang dapat dicerna, yang memungkinkan memenuhi persyaratan AA dengan lebih tepat dan untuk meningkatkan jangkauan dan tingkat inklusi bahan alternatif, dengan tetap mempertahankan produktivitas. Awalnya, pengukuran daya cerna AA didasarkan pada analisis excreta. Selama tahun 1980-an, uji ayam yang diberi makan secara presisi (Likuski dan Dorrell, 1978) sangat populer karena lebih mudah dan cepat dilakukan. Namun sehubungan dengan 'animal welfare' pengujian tersebut mulai ditinggalkan, karena ternak harus dipuaskan berkepanjangan. Kekhawatiran lain dengan pengujian ini adalah perubahan fisiologis dan perubahan sekresi pencernaan enzim karena puasa tidak mewakili perilaku pemberian makan "normal" perilaku (Lemme et al., 2004).

Meskipun memberikan ukuran sebenarnya dari nilai gizi, percobaan *in vivo* memiliki keterbatasan yang jelas; mahal, membutuhkan banyak bahan pakan dan ternak, jumlah bahan pakan yang dapat dievaluasi terbatas, membutuhkan waktu, untuk beberapa pengukuran perlu dilakukan pembedahan dan muncul issue terkait kesejahteraan hewan percobaan.

## **7. Evaluasi *in vitro***

Konsep uji pencernaan *in vitro* awalnya dikembangkan untuk pakan ternak ruminansia sebagai alternatif dari penelitian *in vivo* yang mahal, membutuhkan ternak

dalam jumlah banyak, memakan waktu untuk memprediksi pencernaan nutrisi, dan selanjutnya secara aktif dilakukan dalam penelitian babi. Sebuah buku yang diedit oleh Fuller (1991) memberikan cakupan yang sangat baik dari awal penelitian tentang metode uji *in vitro* pada babi dan unggas. Tilley dan Terry (1963) adalah pionir dari penelitian *in vitro* dengan teknik cairan-pepsin rumen 2 tahap untuk prediksi pencernaan bahan organik hijauan untuk ruminansia. Sejak itu, metode *in vitro* telah berkembang dan berhasil diterapkan pada babi (Boisen dan Eggum, 1991; Boisen dan Fernandez, 1997; Noblet dan Jaguelin-Peyraud, 2007) dan pada tingkat yang lebih rendah dalam pakan unggas. Pada unggas, metode *in vitro* telah digunakan untuk mengevaluasi baik energi (Clunies et al., 1984; Valdes dan Leeson, 1992; Losada dkk., 2009, 2010; Pali c et al., 2012) atau protein (Sakamoto et al., 1980; Clunies and Lesson, 1984; Fru-Nji et al., 2011).

Beberapa keuntungan menggunakan metode pencernaan *in vitro* atas metode *in vivo* dapat disebutkan. Pertama, metode pencernaan *in vitro* cepat dan lebih murah. Kedua, efek variabilitas ternak dapat dihilangkan. Ketiga, metode pencernaan *in vitro* memungkinkan simulasi segmen saluran pencernaan (GIT) dan akhirnya, metode pencernaan *in vitro* mengatasi masalah etika berkaitan dengan penelitian ternak. Faktor-faktor lain yang mempengaruhi seperti manajemen, lingkungan, penyakit dan genotipe juga dapat dihilangkan pada evaluasi *in vitro*.

Metode *in vitro* harus dirancang untuk mensimulasikan sedekat mungkin proses pencernaan di GIT ternak, (Boisen dan Eggum, 1991; Longland, 1991; Huang et al.,

2000).Seperti yang ditunjukkan sebelumnya, hampir semua model in vitro saat ini untuk monogastrik didasarkan pada babi (Furuya et al., 1979; Boisen and Fernandez, 1995, 1997 ) dan umumnya digunakan untuk digunakan secara sebagai data in vitro data unggas (Sakamoto et al., 1980; Clunies dan Leeson, 1984; Clunies dkk., 1984; Losada dkk., 2009, 2010). Babi dan unggas adalah spesies monogastrik dan, fisiologi pencernaan, penyerapan dan transportasi nutrisi di usus kecil pada dasarnya mirip. Perbedaan anatomi yang jelas adanya perbedaan GIT, dengan adanya tembolok dan ampela di unggas, dan usus belakang yang berkembang dengan baik pada babi. Perbedaan ini menyebabkan perbedaan waktu transit dan pH digesta sepanjang saluran pencernaan dan, memodifikasi pencernaan usus depan di unggas dan fermentasi di usus babi. Sehingga perbedaan waktu retensi digesta dan pH dalam pengembangan yang sesuai harus dipertimbangkan pada uji in vitro pada unggas.

Kondisi in vivo tidak dapat sepenuhnya disimulasikan dalam kondisi in vitro, karena kompleksitas pencernaan in vivo. Metode in vitro yang ideal harus sederhana, cepat, akurat dan dapat direproduksi untuk memprediksi respons in vivo. Data secara in vitro harus divalidasi dengan membandingkan dengan data dari studi in vivo menggunakan sampel yang sama. Dalam teknik in vitro yang benar, akan ada korelasi yang kuat diantara nilai tersebut, dan analisis statistik yang tepat harus digunakan untuk menentukan akurasi dan presisi persamaan prediksi data in vitro relatif terhadap hasil in vivo. Analisis statistik ini dapat memberikan informasi seperti koefisien determinasi ( $R^2$ )

), simpangan baku residual (RSD), dan galat baku nilai prediksi (SEP). Secara umum, persamaan prediksi dengan tinggi R<sup>2</sup> dan nilai RSD atau SEP yang rendah dapat diandalkan (Furuya et al., 1979; Clunies dkk., 1984; Regmi et al., 2008, 2009), karena nilai-nilai ini dianggap sebagai ketepatan prediksi nilai *in vivo* dari hasil *in vitro*.

Metode pencernaan *in vitro* pada unggas telah dilaksanakan dari tahun ke tahun. Semua metode didasarkan pada pengukuran bahan yang tidak larut dan tidak tercerna dikumpulkan setelah penyaringan atau sentrifugasi, yang dapat dikategorikan menjadi sistem pencernaan 1-, 2- atau 3- tahap.

Model pencernaan satu tahap umumnya digunakan untuk mensimulasikan pencernaan nutrisi pada fase lambung (Ehle et al., 1982; Holzgraefe et al., 1985) dan model 2 tahap digunakan untuk mensimulasikan fase lambung dan usus kecil (Furuya et al., 1979; Clunies dkk., 1984; Clunies dan Leeson, 1984). Model 3 tahap meniru pencernaan dan fermentasi di fase lambung, usus kecil dan usus besar, yang menyebabkan hilangnya nutrisi di seluruh saluran pencernaan (Boisen dan Fernandez, 1997; Regmi dkk., 2008, 2009). Model ini lebih berlaku untuk babi dan tidak untuk unggas, di mana hindgut lebih pendek, dan keberadaan mikroba fermentasi kurang signifikan. Dalam pencernaan *in vitro* 3 tahap, karbohidrat yang tidak dapat dicerna didegradasi menggunakan salah satu dari enzim pendegradasi serat murni atau inokulum yang mengandung mikroba hidup (Williams et al., 2005). Penggunaan enzim pendegradasi serat diterapkan dalam pengujian kecernaan bahan organik atau energi, dan penggunaan inokulum diterapkan dalam pengujian untuk pengukuran

produksi gas atau produksi asam lemak rantai pendek hasil fermentasi, atau hilangnya bahan organik atau non-pati polisakarida (NSP) (Wang, 2014).

Pada hewan monogastrik, serat tidak dicerna oleh enzim endogen menjadi tersedia untuk fermentasi mikroba, terutama di usus besar dan menghasilkan metabolit seperti asam lemak terbang (asetat, propionat, butirrat). Namun, unggas merupakan pengecualian, karena waktu retensi di caeca hanya sekitar 20 - 30 menit (Ravindran, 2013). Inokulum mikroba untuk memulai

fermentasi *in vitro* pada babi dapat diperoleh baik dari sekum,

rektum, atau feses, dan cecal dapat diterapkan sebagai inokulum untuk

studi fermentasi unggas secara *in vitro* (Jha dan Tiwari, 2016). Inokulum feses babi juga telah digunakan untuk mensimulasikan pencernaan serat dalam pakan ayam pedaging (Marrero et al., 1998). Diasumsikan bahwa gas dan metabolit yang dihasilkan selama fermentasi *in vitro* mencerminkan hal yang sama dalam kinetika dan produksi metabolit seperti fermentasi *in vivo* serat dalam usus besar ternak. Validasi hasil dari teknik fermentasi *in vitro* dengan studi *in vivo* adalah penting.

#### 7.1 Penerapan metode *in vitro* untuk unggas

Model pencernaan 2 langkah yang menggunakan enzim menunjukkan nilai lebih baik dibandingkan analisis kimia untuk memprediksi nutrisi nilai dengan akurasi yang lebih besar pada babi. Namun pada unggas, data berdasarkan teknik *in vitro* masih terbatas dan kontradiktif (Losada dkk., 2009, 2010). Penggunaan metode *in vitro* pencernaan 2 tahap (pepsin diikuti oleh pankreatin, garam empedu dan enterokinase)

untuk memprediksi AME pakan unggas telah dilakukan dan menunjukkan akurasi yang tinggi ( $r$  0,84) untuk prediksi. Namun, metode pencernaan yang diterapkan dalam penelitian masih terbatas dan tidak dapat digunakan secara universal untuk memperkirakan AME dalam senyawa pakan. Losada dkk. (2009) menemukan bahwa akurasi prediksi AME, berdasarkan pencernaan bahan kering dan bahan organik secara *in vitro*, lebih rendah dibandingkan dengan persamaan prediksi berdasarkan metode NIRS. Sebaliknya, Clunies dan Leeson (1984) menemukan bahwa pencernaan BK dan pencernaan protein sangat berkorelasi ( $r$  0,99 dan 0,93, masing-masing) dengan pencernaan ileum *in vivo* pada broiler umur 7 minggu. ayam pedaging. Juga dicatat bahwa data

Pakan unggas komersial adalah campuran dari beberapa bahan dengan tingkat inklusi yang berbeda, setiap bahan memiliki karakteristik yang berbeda dan oleh karena itu pH optimum, konsentrasi enzim dan lama inkubasi tidak dapat dicapai secara *in vitro*. Metode pencernaan *in vitro* terus disempurnakan, tetapi belum dilengkapi atau divalidasi terhadap data *in vivo* pada unggas. Untuk mencapai ini, beberapa persyaratan utama perlu diteliti antara lain; pencocokan enzim *in vitro* dengan *in vivo* enzim, rasio enzim- substrat, pH, suhu, inkubasi waktu untuk setiap fase pencernaan, ukuran sampel, ukuran dan distribusi partikel. Setiap upaya harus dilakukan untuk mensimulasikan, sedekat mungkin proses pencernaan di GIT unggas.

## 7.2. Prediksi *in vitro* AME

Sistem pencernaan 2 tahap untuk prediksi AME ini, dikembangkan oleh Valdes dan Leeson (1992) melibatkan pengukuran energi bruto sampel pakan dan residu yang tidak tercerna. Singkatnya, setengah gram sampel pakan diinkubasi dengan larutan pepsin (mengandung 20 mg pepsin, 11.400 unit) pada 37 C dan pH 4,13 selama 4 jam dalam shaker water bath. Setelah menyelesaikan tahap pencernaan ini, pH diatur antara 7,0 dan 7,1 dengan larutan natrium hidroksida. Larutan enzim yang mengandung pankreatin, garam empedu dan enterokinase ditambahkan. Tahap pencernaan selanjutnya berlangsung selama 6 jam pada 37 C. Pada akhir tahap kedua inkubasi, sampel disentrifugasi (1.500g selama 15 menit) dan supernatan dibuang. Endapan yang tidak tercerna dicuci dengan air suling, disentrifugasi lagi, dan supernatan dibuang. Residunya adalah dianggap sebagai bahan yang tidak dapat dicerna. Residu ini dikeringkan dalam oven pada suhu 65 C selama 48 jam dan ditimbang. Residu dan sampel pakan dianalisis untuk energi bruto dan in vitro yang dapat dicerna energi dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Kecernaan in vitro energy (kcal/g)} = ((\text{GE pakan} \times \text{F}) - (\text{GE residu} \times \text{R}))/\text{F}$$

Dimana:

GE = gross energy, F = berat sampel pakan, R = berat residu

### 7.3. Prediksi in vitro pencernaan protein

Sebuah prosedur, dimodifikasi dari Furuya et al. (1979), digunakan oleh Clunies dan Leeson (1984) untuk prediksi pencernaan bahan kering dan protein kasar pada unggas. Setengah gram sampel diinkubasi dengan larutan pepsin (mengandung 20 mg pepsin, 11.400 unit) pada 37 C dan pH 4,13 selama 4 jam dalam shaker water bath. Setelah menyelesaikan tahap pertama pencernaan, pH adalah disesuaikan antara 7,0 dan 7,1 dengan larutan natrium hidroksida dan cairan usus babi. Tahap kedua pencernaan kemudian berlangsung selama 4 jam pada 37 C. Pada akhir inkubasi tahap kedua, sampel disentrifugasi (1.250g selama 10 menit pada suhu 5 C) dan supernatan dibuang. Endapan yang tersisa dicuci dengan air suling, disentrifugasi kembali dan supernatan dibuang lagi. Residu dianggap sebagai bahan yang tidak dapat dicerna. Endapan yang tidak tercerna kemudian ditransfer ke kertas saring kering yang telah ditimbang sebelumnya untuk penentuan BK dan protein. Kecernaan in vitro BK dan pencernaan protein ditentukan menggunakan rumus berikut:

Kecernaan in vitro BK (%)

$$= ((\text{BK pakan} - \text{BK tidak tercerna}) / \text{BK pakan}) \times 100$$

Kecernaan in vitro PK (%)

$$= ((\text{PK pakan} - \text{PK tidak tercerna}) / \text{PK pakan}) \times 100$$