

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Onggok yang difermentasi dengan Kapang *A. charticola* dan Antibiotik pada Ransum terhadap Profil Darah Merah Ayam Broiler” dilakukan pada bulan April – Juni 2016. Pemeliharaan ayam broiler dilakukan di Kandang Unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis profil darah merah dilakukan di Rumah Sakit Hewan (RSH) Prof. Soeparwi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.1. Materi

Materi yang digunakan pada penelitian adalah *day old chick* (DOC) ayam broiler strain *Lohmann* sebanyak 160 ekor dengan bobot rata-rata $41,30 \pm 2,68$ g. Kandang yang digunakan adalah kandang koloni yang berukuran $1 \times 1 \times 1,5$ m dengan jumlah 20 petak. Peralatan dan perlengkapan yang digunakan meliputi termohigrometer, tempat pakan, tempat minum, lampu penghangat (25 watt), timbangan dan *blower*. Peralatan dan perlengkapan yang digunakan untuk pengambilan darah meliputi spuit 3cc, *vacutainer* yang berisi antikoagulan *Ethylen diamine tetra aceticacid* (EDTA) dan *ice box*. Bahan pakan, persentase penggunaan dan kandungan nutrisi ransum disajikan pada Tabel 2. Antibiotik sintetik yang digunakan adalah *neomycin*.

Tabel 2. Bahan Pakan, Persentase Penggunaan Serta Kandungan Nutrisi Ransum.

Bahan Pakan	Persentase Kandungan Nutrisi Ransum			
	T0	T1	T2	T3
	----- (%) -----			
Bekatul	6,75	6,75	1,25	1,25
Jagung Kuning	54,00	54,00	45,00	45,00
Tepung Ikan	9,00	9,00	10,60	10,60
Bungkil Kedelai	27,00	27,00	23,50	23,50
DL – Methionine 990 g	0,23	0,23	0,25	0,25
L – Lysine 780 g	0,06	0,06	0,15	0,15
Limestone	1,01	1,01	0,80	0,80
Dicalcium Phosphate	0,20	0,20	0,20	0,20
Premix	0,50	0,50	0,50	0,50
NaCL	0,25	0,25	0,25	0,25
Menir	1,00	1,00	1,50	1,50
Onggok yang difermentasi dengan <i>A. charticola</i>	0,00	0,00	16,00	16,00
Antibiotik (neomycin)	0,00	0,0003	0,0003	0,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Energi Metabolis (kkal/kg)	2892,00	2892,00	2873,00	2873,00
Protein Kasar (%)	22,05	22,05	21,97	21,97
Serat Kasar (%)	3,52	3,52	5,67	5,67
Calcium (%)	1,03	1,03	1,03	1,03
Pospor (%)	0,56	0,56	0,54	0,54
Lysine (%)	1,43	1,43	1,43	1,43
Metionin (%)	0,66	0,66	0,66	0,66

3.2. Metode

Metode dilakukan dengan 3 tahap yaitu tahap persiapan, tahap pemeliharaan dan tahap pengambilan data.

3.2.1. Tahap persiapan

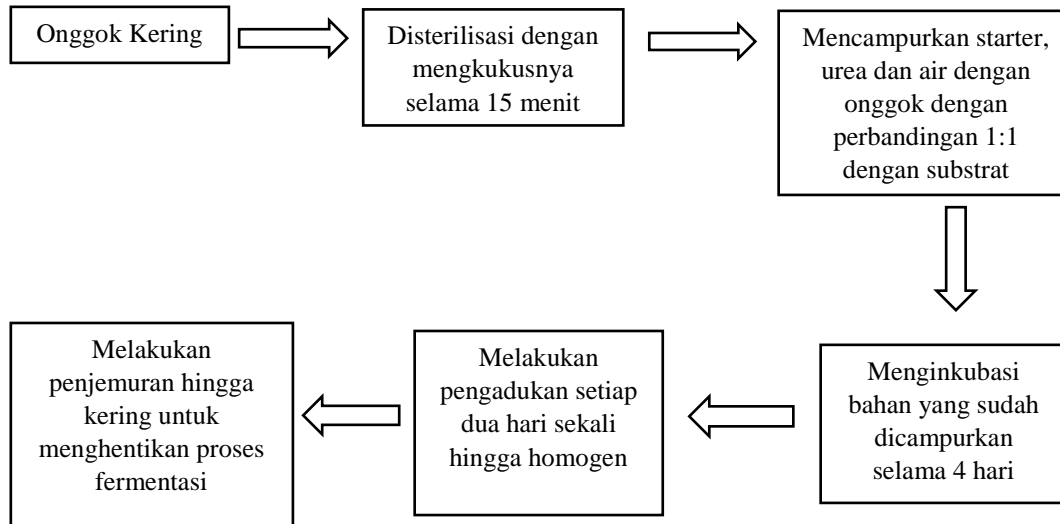
Tahap persiapan diawali dengan mempersiapkan kandang. Persiapan kandang diawali dengan membersihkan kandang dan lingkungan sekitarnya, dilanjutkan

fumigasi atau pensucian hama yaitu dengan melakukan pengapuran pada seluruh bagian kandang dan melakukan desinfeksi menggunakan Destan.

Pembuatan starter juga dilakukan pada tahapan ini, yaitu dengan menginokulasikan isolat *A. charticola* pada onggok yang sebelumnya sudah disterilkan. Sebelum membuat starter, diawali dengan meremajakan kapang *A. charticola* dengan tahapan membuat medium *potato dextrose agar* (PDA). Pembuatan medium PDA terdiri dari filtrat kentang 500 g, *dextrose* 10 g dan serbuk agar 10 g. Medium PDA disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Isolat *A. charticola* ditanamkan pada medium PDA yang sudah steril dan diinkubasi pada suhu 38°C selama 2 hari secara aerob. Setelah inkubasi melakukan inokulasi pada onggok steril sebanyak 10 cawan petri dan menambahkan *aquadest* dengan perbandingan 1 L *aquades* dalam 1 kg onggok. Dilakukan inkubasi selama 4 hari dan setiap 2 hari sekali dilakukan pencampur adukan. Setelah *A. charticola* tumbuh dilakukan perhitungan jumlah koloni dengan metode *total plate count* (TPC) dengan hasil $3,6 \times 10^{10}$ cfu/g.

Tahap lanjutan dalam pembuatan onggok fermentasi, diawali dengan mensterilkan onggok yang sebelumnya sudah dikemas dalam plastik dengan mengukusnya. Sterilisasi dilakukan selama 15 menit. Fermentasi dilakukan dengan mencampurkan starter ($3,6 \times 10^{10}$ cfu/g) sebanyak 110 g/kg substrat (onggok steril) yang ditambahkan urea sebanyak 41 g/kg substrat dan air steril dengan dosis 1:1 air dan substrat. Menginkubasi bahan yang sudah tercampur selama 4 hari pada suhu ruangan dengan melakukan pengadukan setiap 2 hari sekali sampai homogen. Akhir dari proses fermentasi yaitu menjemurkan hingga

onggok fermentasi kering. Diagram Alur proses pembuatan onggok fermentasi dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alur Pembuatan Onggok Fermentasi (Sugiharto dkk., 2016).

3.2.2. Tahap pemeliharaan

Pemeliharaan ayam broiler dilakukan selama 28 hari. Kandang yang digunakan adalah tipe koloni dengan ukuran $1 \times 1 \times 1,5$ m berjumlah 20 petak. Ransum perlakuan diberikan sejak pemeliharaan hari pertama dengan menyesuaikan kebutuhan konsumsi ayam per ekor per hari. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Sebagai kontrol lingkungan, juga dilakukan pengukuran suhu dan kelembaban di dalam maupun di luar kandang. Perlakuan diberikan dari awal pemeliharaan.

3.2.3. Tahap pengambilan data

Tahap ini dilakukan ketika ayam berumur 28 hari. Pengambilan data diawali dengan mengambil secara acak satu ekor ayam broiler dari setiap unit percobaan. Ayam-ayam tersebut selanjutnya diambil darahnya melalui *vena brachialis* sebanyak 3 ml dengan menggunakan spuit ukuran 3 cc. Darah yang sudah diambil selanjutnya dimasukkan ke dalam *vacutainer* yang berisi antikoagulan *Ethylen diamine tetra aceticacid* (EDTA) dan memasukkannya pada *box* pendingin. Melakukan analisis profil darah merah yang meliputi total eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit, *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular haemoglobin* (MCH) dan *mean corpuscular haemoglobin concentration* (MCHC) yang dilakukan di RSH Prof. Soeparwi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.2.3.1. Total eritrosit, diukur dengan menggunakan metode *Improved Neubauer*. Darah yang tersimpan pada *vacutainer* dihisap menggunakan pipet eritrosit hingga skala 1, menghisap larutan hayem menggunakan pipet yang sama hingga skala 101, menghomogenkannya selama 2 menit, meneteskan (tetes kedua) pada bilik hitung untuk dihitung total eritrositnya pada kamar bilik hitung (*Improved Neubauer*). (Arfah, 2015; Santoso, 2016). Rumus menghitung total eritrosit yaitu:

$$TE = E \times 50 \times 1000 = 5000 E/\text{mm}^3$$

3.2.3.2. Kadar hemoglobin, diukur dengan menggunakan metode sahli. Mengisi tabung hemometer dengan larutan HCL 0,01 N sampai skala 2 dan ditambahkan dengan sampel darah yang dihisap menggunakan pipet sahli. Darah dan HCL

yang sudah tercampur akan membentuk asam hematin (berwarna coklat), mengencerkannya dengan aquades sampai warnanya sesuai dengan standar alat hemoglobinometer dan kadar hemoglobin dapat dihitung. (Arfah, 2015; Santoso, 2016).

3.2.3.3. Persentase hematokrit, diukur dengan menggunakan metode mikropipiler. Memasukkan darah yang sudah ada dalam *vacutainer* pada tabung mikropipiler untuk disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen darah seperti plasma, trombosit, leukosit dan eritrosit. Mikropipiler yang sudah disentrifugasi dibaca menggunakan skala mikrohematokrit yang dinyatakan dalam persen untuk mengetahui tingginya eritrosit. (Arfah, 2015; Santoso, 2016).

3.2.3.4. Indeks darah merah (MCV, MCH dan MCHC), indeks darah merah diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Soeharsono dkk., 2010):

1. *Mean corpuscular volume* (MCV)

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hematokrit} \times 10}{\text{Total Eritrosit}}$$

2. *Mean corpuscular haemoglobin* (MCH)

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hemoglobin} \times 10}{\text{Total Eritrosit}}$$

3. *Mean corpuscular haemoglobin concentration* (MCHC)

$$\text{MCHC (\%)} = \frac{\text{Hemoglobin} \times 100}{\text{Hematokrit}}$$

3.3. Rancangan Percobaan

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan sesuai petunjuk Mas (2009). Setiap ulangan terdiri dari 8 ekor ayam broiler. Perlakuan yang diujikan:

T0 = Ayam mendapat pakan kontrol

T1 = Ayam mendapat pakan kontrol + antibiotik

T2 = Ayam mendapat pakan kontrol + antibiotik + onggok fermentasi
dengan persentase 16% dalam ransum

T3 = Ayam mendapat pakan kontrol + onggok fermentasi dengan
persentase 16% dalam ransum

Analisis data dengan uji ragam (uji F) dan yang dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Mas, 2009).

Model linear aditif rancangan acak lengkap penambahan onggok yang difermentasi adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

Y_{ij} : Hasil pengamatan ke-i yang memperoleh perlakuan ke-j

i : Perlakuan ke 1, 2, 3 dan 4

j : Ulangan ke 1, 2, 3, 4 dan 5

μ : Nilai tengah umum (rata-rata populasi) hasil pengamatan

τ_i : Pengaruh penambahan onggok yang difermentasi dari perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i ulangan ke-j

Hipotesis statistik :

H_0 : $\tau = 0$, (tidak ada pengaruh pemberian onggok yang difermentasi menggunakan kapang *A. charticola* dan antibiotik pada ransum terhadap profil darah merah ayam broiler).

H_1 : $\tau \neq 0$, (ada pengaruh penggunaan onggok yang difermentasi menggunakan kapang *A. charticola* dan antibiotik pada ransum terhadap profil darah merah ayam broiler).

Kaidah penarikan hasil :

Apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak dan jika $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.