

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Penambahan Kapang *Rhizopus oryzae* dan *Chrysonilia crassa* dalam Ransum terhadap Profil Darah Merah Ayam Broiler yang Dipelihara Pada Kondisi Panas” dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan Oktober 2016 di kandang ayam Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

#### 3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah *day old chick* (DOC) ayam broiler *strain* Lohman sejumlah 192 ekor dengan bobot awal rata-rata  $47,33 \pm 0,80$  g (CV 13,29%). Ayam dipelihara di dalam kandang *litter* berukuran 1x1x1 m sebanyak 24 unit. Peralatan dan perlengkapan kandang yang digunakan berupa tempat pakan, tempat minum, timbangan digital, lampu pijar 60 *watt*, sekam, termohigrometer untuk mengukur suhu dan kelembaban, *thermostat* untuk menstabilkan suhu, *blower* dan *air conditioner* (AC) sebagai pendingin ruangan. Peralatan yang digunakan untuk mengambil darah yaitu *sputit* 3 cc, kapas, alkohol, *vacutainer* dan *ice box*.

Bahan yang digunakan yaitu kapang *R. oryzae*, *C. crassa*, *vita stress*, bekatul dan pakan komersial yang diproduksi PT. Charoen Pokhpand dengan merk dagang “BR1-CP511” dan “201-C” dengan kandungan pakan yang tertera pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Kandungan nutrisi BR1-CP511

Analisa	Kandungan
Kadar Air (%)	13,0
EM (kcal/kg)	3.448
Protein (%)	23
Lemak (%)	5,0
Serat (%)	5,0
Abu (%)	7,0
Kalsium (%)	0,9
Fosfor (%)	0,6

Tabel 2. Kandungan nutrisi 201C

Analisa	Kandungan
Kadar Air (%)	13,0
EM (kcal/kg)	3.448
Protein (%)	20
Lemak (%)	5,0
Serat (%)	5,0
Abu (%)	8,0
Kalsium (%)	0,9
Fosfor (%)	0,6

### 3.2. Metode Penelitian

#### 3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan sehingga terdiri atas 24 unit percobaan. Parameter yang diamati meliputi jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, persentase hematokrit, MCV, MCH dan MCHC. Perlakuan yang diterapkan meliputi :

- T0 : Suhu  $28 \pm 2$  °C tanpa suplemen anti stres
- T1 : Suhu  $35 \pm 2$  °C tanpa suplemen anti stres
- T2 : Suhu  $35 \pm 2$  °C + suplemen anti stres (*vita stress*)

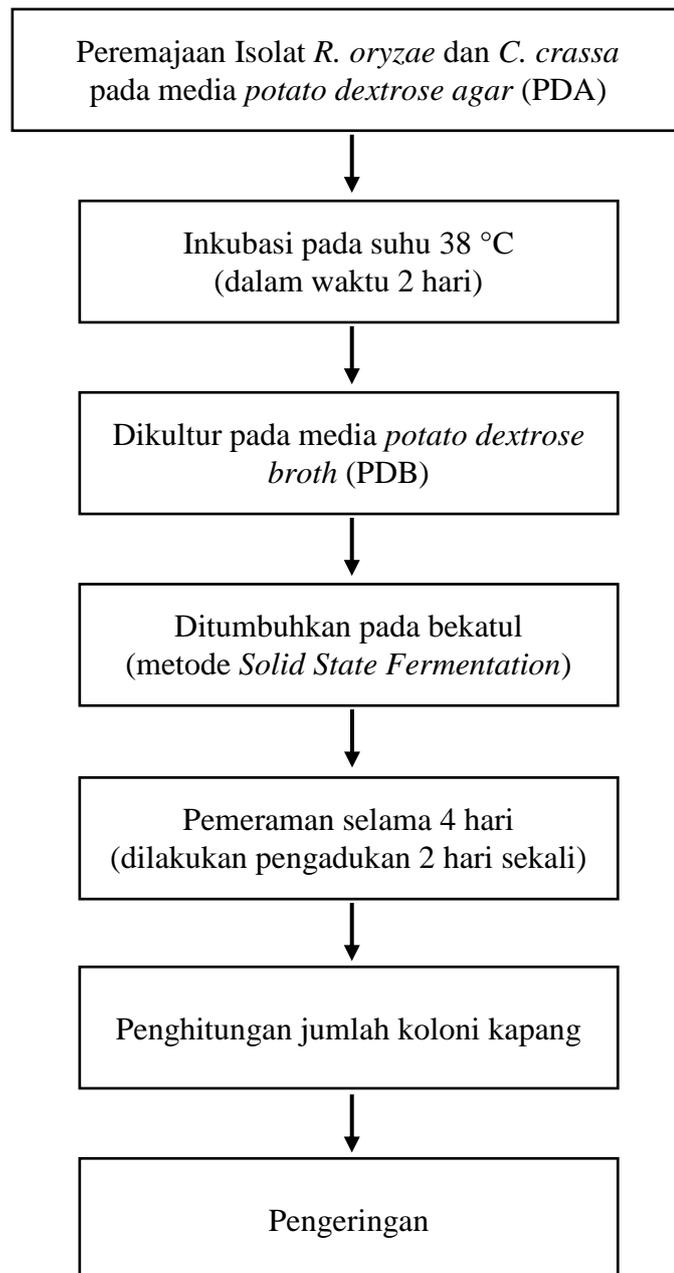
T3 : Suhu  $35\pm 2$  °C + *R. oryzae* (10g/kg pakan)

T4 : Suhu  $35\pm 2$  °C + *C. crassa* (10g/kg pakan)

T5 : Suhu  $35\pm 2$  °C + bekatul (10g/kg pakan)

### 3.2.2. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan terdiri atas tiga tahap yaitu tahap persiapan, tahap pemeliharaan dan tahap pengumpulan data. Tahap persiapan meliputi persiapan kandang, persiapan peralatan dan pembuatan suplemen *R. oryzae* dan *C. crassa*. Tahap persiapan kandang dimulai dengan membersihkan kandang, pembuatan *flock*, pemasangan instalasi listrik, pemasangan tempat pakan dan minum. Selanjutnya dilakukan pengapuran, fumigasi serta desinfeksi kandang dan segala peralatan yang digunakan selama pemeliharaan. Tahap pembuatan suplemen *R. oryzae* dan *C. crassa* diawali dengan peremajaan isolat *R. oryzae* dan *C. crassa* menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA) kemudian diinkubasi selama 2 hari dengan suhu 38 °C. Kapang tersebut selanjutnya dikultur pada media *potato dextrose broth* (PDB) kemudian ditumbuhkan pada bahan pakan bekatul menggunakan metode *solid state fermentation*. Pemeraman dilakukan selama 4 hari dan dilakukan pengadukan setiap 2 hari sekali. Selanjutnya sampel bekatul yang telah ditumbuhi kapang tersebut dihitung jumlah koloni kapangnya sebelum dikeringkan. Jumlah koloni pada masing-masing probiotik *R. oryzae* dan *C. crassa* adalah  $1 \times 10^7$  cfu/g.



Ilustrasi 1. Proses pembuatan isolat kapang *R. oryzae* dan *C. crassa*

Tahap pemeliharaan DOC selama 35 hari dimulai dengan penimbangan bobot awal DOC pada saat *chick in* kemudian dimasukkan ke dalam *flock* masing-masing terdiri atas 8 ekor ayam. Pemberian air gula dilakukan untuk menekan

stres pada awal kedatangan ternak. Ayam diberikan vaksin ND sebanyak dua kali pada umur 4 hari melalui tetes mata dan 14 hari melalui air minum, sedangkan pemberian vaksin IBD dilakukan pada umur 18 dan 24 hari melalui air minum. Pemberian pakan dan pemeliharaan dilakukan sesuai standar pemeliharaan di Indonesia sampai ayam umur 20 hari dan pada umur 21 hari dilakukan adaptasi pakan. Selanjutnya diberikan perlakuan yang telah ditentukan mulai umur 22 hari hingga panen. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad libitum*. Pakan yang diberikan berupa pakan komersial dengan merk dagang “BR1-CP511” diberikan pada umur 1-21 hari dan “201-C” diberikan pada umur 22-35 hari. Pengaturan suhu pada perlakuan kontrol (T0) menggunakan *air conditioner* (AC) dan 2 buah *blower*. Sedangkan pengaturan suhu pada T1, T2, T3, T4 dan T5 diatur menggunakan termostat yang bekerja secara otomatis. Pengukuran suhu dan kelembaban kandang dilakukan setiap pagi, siang, sore dan malam hari.

Tahap pengumpulan data dilakukan pada akhir penelitian, terdiri dari pengambilan darah dan analisis nilai hematologi darah yang meliputi perhitungan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, nilai hematokrit, *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular haemoglobin* (MCH) dan *mean corpuscular haemoglobin concentration* (MCHC). Proses pengambilan darah dilakukan pada umur 32 hari. Satu ekor ayam diambil secara acak dari masing-masing unit percobaan. Darah diambil melalui *vena brachialis* yang terletak di bawah sayap menggunakan *sputit* sebanyak 2 cc kemudian ditampung ke dalam *vacutainer* yang berisi *ethylene diamine tetra acid* (EDTA), digojok secara perlahan membentuk angka delapan kemudian dimasukkan ke dalam *ice box*. Analisis laborat dilakukan

di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Metode yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Metode perhitungan jumlah eritrosit

Perhitungan jumlah eritrosit menggunakan metode kamar hitung (*Improved Neubauer*) dengan pipet penghisap. Ujung pipet terlebih dahulu dibersihkan menggunakan tisu kemudian darah dari *vacutainer* dihisap sampai batas skala 1,0. Menggunakan pipet yang sama larutan hayem juga dihisap sampai dengan skala 101. Kedua ujung pipet ditutup kemudian digojok membentuk angka 8 agar larutan homogen. Larutan pada ujung pipet yang tidak tercampur terlebih dahulu dibuang di atas tisu. Kemudian larutan ditetaskan ke dalam kamar hitung dengan menempelkan ujung pipet pada tepi gelas penutup kemudian diamati dengan perbesaran 100 kali. Perhitungan dilakukan dengan mengambil 5 kotak kecil yang terdapat di bagian tengah kamar hitung. Bagian yang biasa dihitung meliputi bagian pojok kanan atas, pojok kiri atas, tengah, pojok kanan bawah dan pojok kiri bawah.

Rumus jumlah eritrosit per  $\text{mm}^3$  darah = eritrosit  $\times 10^4$

2. Metode perhitungan kadar hemoglobin

Metode perhitungan kadar hemoglobin menggunakan metode Sahli yaitu dengan cara memasukkan larutan HCl ke dalam pipet sahli sampai angka 2. Kemudian darah di dalam *vacutainer* dihisap menggunakan pipet sahli sebanyak 20  $\mu\text{l}$ . Darah yang telah tercampur dengan HCl tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam hemometer dan amati perubahan warnanya hingga terjadi pembentukan asam hematin (warna coklat). Perubahan tersebut dibandingkan dengan standar

warna pada alat sahari. Tetesi *aquadest* secara perlahan dan terus menerus hingga menghasilkan warna sesuai dengan standar hemoglobinometer dan hitung kadar hemoglobin.

### 3. Metode perhitungan persentase hematokrit

Persentase hematokrit dihitung dengan menggunakan metode manual atau sering disebut metode mikrohematokonsentrasi dengan sentrifugasi. Darah dalam *vacuitaner* dihisap dengan menempelkan ujung mikrokapiler sehingga darah masuk ke dalam 4/5 bagian tabung. Salah satu ujung tabung disumbat dengan *crestaseal*. Darah tersebut kemudian disentrifuse selama 4-6 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Apabila telah terjadi pemisahan antara plasma dan sel darah, maka persentase hematokrit siap dihitung menggunakan skala mikrohematokrit.

### 4. Perhitungan *mean corpuscular volume* (MCV)

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hematokrit} \times 10}{\text{Eritrosit (juta}/\mu\text{l)}}$$

### 5. Perhitungan *mean corpuscular haemoglobin* (MCH)

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hemoglobin} \times 10}{\text{Eritrosit (juta}/\mu\text{l)}}$$

### 6. Perhitungan *mean corpuscular hemoglobin volume* (MCHC)

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

## 3.3. Analisis Statistik

Data yang diperoleh dianalisis ragam menggunakan uji F dengan signifikansi 5%, apabila menunjukkan hasil yang nyata selanjutnya dilanjutkan dengan Uji jarak berganda Duncan (UJBD) (Steel dan Torie, 1993).

Metode linear aditif yang diterapkan :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}; \quad \begin{array}{l} i = \text{perlakuan (1,2,3,4,5,6)} \\ j = \text{ulangan (1,2,3,4)} \end{array}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = jumlah eritrosit ayam broiler, kadar hemoglobin, nilai hematokrit, MCV, MCH dan MCHC ke-j yang memperoleh perlakuan kapang ke-i

$\mu$  = nilai tengah umum (rata-rata populasi) jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, MCV, MCH dan MCHC dan nilai hematokrit ayam broiler

$\tau_i$  = pengaruh additif dari perlakuan penambahan kapang ke-i

$\epsilon_{ij}$  = perlakuan galat percobaan pada ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

Hipotesis Statistik

$H_0 = \tau = 0$ ; tidak ada pengaruh perlakuan penambahan kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* terhadap jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH dan MCHC ayam broiler.

$H_1 = \tau \neq 0$ ; minimal ada satu perlakuan kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* terhadap jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH dan MCHC ayam broiler.

Kriteria Pengujian

Jika  $F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}} (5\%)$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

Jika  $F_{\text{hitung}} \geq F_{\text{tabel}} (5\%)$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.