

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Kapang *R. Oryzae* atau *C. Crassa* terhadap Populasi Bakteri dalam *Ileum* Ayam Broiler yang dipelihara pada Kondisi Panas” dilaksanakan bulan Agustus – September 2016 di kandang ayam, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis total bakteri, *enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

#### 3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Day Old Chicken* (DOC) ayam broiler sebanyak 192 ekor. Kandang yang digunakan berupa kandang *litter* dengan ukuran tiap petak sebesar 1m × 1m × 1m sebanyak 24 petak dengan alas sekam, tempat pakan sebagai wadah pakan, galon untuk wadah air minum, bohlam untuk penerangan, *termohigrometer* untuk mengukur suhu dan kelembaban, termostat sebagai pengatur suhu dengan batasan dingin ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dan panas ( $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), *air conditioner* (AC) dan blower untuk menurunkan suhu dan membuat suhu tetap nyaman, timbangan digital untuk menimbang pakan, vitastres dan kapang *R. oryzae* dan *C. crassa*, autoklaf untuk proses sterilisasi media, oven untuk proses sterilisasi alat kering, tabung reaksi untuk pengenceran sampel, *erlenmeyer* sebagai wadah media, pipet untuk memindahkan sampel,

cawan petri untuk tempat penumbuhan total bakteri, bakteri asam laktat, dan *Enterobacteriaceae*, inkubator untuk menginkubasi biakan, *colony counter* untuk menghitung jumlah koloni bakteri. Kentang, agar dan *dextrose* untuk pembuatan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan medium total bakteri, agar *MacConkey* sebagai medium untuk pembiakan *Enterobacteriaceae*, agar MRS sebagai medium untuk membiakkan bakteri asam laktat.

### 3.2. Metode

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa rancangan acak lengkap (RAL) pola searah dengan 2 kontrol yaitu kontrol positif (K1) dan kontrol negatif (K2) serta melibatkan satu faktor perlakuan dengan unit percobaan yang homogen (umur dan bobot badan awal sama). Rancangan acak lengkap pola searah terdiri dari 6 perlakuan dan 4 ulangan.

Prosedur penelitian meliputi tahap pembuatan kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* dan persiapan kandang. Pembuatan kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* diawali dengan peremajaan isolat *R. oryzae* dan *C. crassa* pada media PDA, kemudian diinkubasikan pada suhu 38°C selama 2 hari. Kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* dikultur pada media *potato dextrose broth* (PDB) setelah itu kapang ditumbuhkan pada media bekatul dengan metode *solid state fermentation*. Pemeraman dilakukan selama 4 hari dan tiap 2 hari dilakukan pengadukan. Bekatul yang telah ditumbuhi oleh kapang selanjutnya dikeringkan dan disimpan dalam suhu ruangan. kapang *R. oryzae* dan *C. crassa* terhitung memiliki jumlah koloni sebanyak  $1 \times 10^7$  cfu/g. Persiapan kandang dilakukan dengan membersihkan

kandang, melakukan pengapuran, fumigasi kandang dan peralatan, serta mendesinfeksi kandang dan peralatan yang digunakan selama proses pemeliharaan.

Tahap pelaksanaan penelitian meliputi tahap pemeliharaan ayam broiler selama 35 hari. Kegiatan tersebut diawali dengan penimbangan bobot awal ayam broiler saat *chick in* sebesar  $47,3 \text{ g} \pm 0,80 \text{ g}$  sebanyak 192 ekor dan ditempatkan pada tiap petak masing-masing sebanyak 8 ekor. Ayam dipelihara sesuai dengan standar pemeliharaan ayam broiler yang berlaku di Indonesia sampai dengan ayam berumur 20 hari. Ayam pada fase starter diberikan pakan komersial (BR1-CP 511) dengan kandungann tersaji pada Tabel 1 dan fase finisher diberikan pakan komersial Goldcoin (201C) secara *ad libitum* dengan kandungan nutrisi tersaji pada Tabel 2. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad libitum*. Pada umur 4 hari ayam di vaksin ND melalui tetes mata, umur 14 hari dilakukan vaksin IBD selanjutnya dilakukan vaksin ND pada umur 18 hari, serta pada umur 24 hari kembali dilakukan vaksin IBD dengan cara pemberian air minum.

Tabel 1. Kandungan nutrisi BR1-CP511 PT. Charoen Pokhpand Indonesia

Nutrisi <sup>1)</sup>	Kandungan
Kadar Air (%)	13,0
EM (kcal/kg) <sup>2)</sup>	3448
Protein (%)	23,0
Lemak (%)	5,0
Serat (%)	5,0
Abu (%)	7,0
Calcium (%)	0,9
Phosphor (%)	0,6

Keterangan:

- 1) : Label kandungan pakan BR1-CP511 PT. Charoen Pokhpand Indonesia
- 2) : Perhitungan dengan Rumus Balton (Siswohardjono,1982) Energi Metabolis  
 $ME = 40,81 [0,87(PK + 2,25LK + BETN) + k]$

Tabel 2. Kandungan nutrisi 201C PT. Goldcoin Indonesia

Nutrisi <sup>1)</sup>	Kandungan
Kadar Air (%)	13,00
EM (kcal/kg) <sup>2)</sup>	3412
Protein (%)	20,0
Lemak (%)	5,0
Serat (%)	5,0
Abu (%)	8,0
Calcium (%)	0,9
Phosphor (%)	0,6

Keterangan :

- 1) : Label kandungan pakan 201C PT. Goldcoin Indonesia  
 2) : Perhitungan dengan Rumus Balton (Siswohardjono,1982) Energi Metabolis  
 $ME = 40,81 [0,87(PK + 2,25LK + BETN) + k]$

Pada hari ke-20 ayam ditimbang, dan ayam dengan bobot badan yang relatif seragam kemudian ditempatkan ke dalam 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 4 ulangan. Pada tiap pen berisi 8 ekor ayam. Hari ke-21 ayam mulai dilakukan adaptasi terhadap perlakuan dan hari ke-22 ayam mulai diberi perlakuan. Keenam perlakuan tersebut meliputi,

- T0 : Suhu  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$  tanpa suplemen  
 T1 : Suhu  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  tanpa suplemen  
 T2 : Suhu  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  + suplemen anti stres (vita stres)  
 T3 : Suhu  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  + kapang *R. Oryzae* (10g/kg pakan)  
 T4 : Suhu  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  + kapang *C. Crassa* (10g/kg pakan)  
 T5 : Suhu  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  + bekatul (10g/kg pakan)

Pengaturan suhu pada T0, T1, T2, T3, T4, T5 telah diatur menggunakan termostat dengan batasan dingin ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dan batasan panas ( $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) sehingga suhu didalam kandang pada saat perlakuan stabil. Pada perlakuan T0 merupakan perlakuan kontrol negative sedangkan T1 sebagai kontrol positif.

Pada hari ke-35 dilakukan pengambilan data dengan parameter total bakteri, *Enterobacteriaceae*, dan bakteri asam laktat. Pada tiap unit percobaan ayam dipotong dan diambil digesta pada bagian *ileum* untuk di analisis total bakteri, *Enterobacteriaceae*, dan bakteri asam laktat. Analisis dimulai dengan sterilisasi alat dan pembuatan media (PDA, *MacConkey* dan MRS) menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media (PDA, *MacConkey* dan MRS) dituang kedalam cawan petri sebanyak 15 ml kemudian tunggu hingga memadat. Pengenceran total bakteri menggunakan tingkat pengenceran sampel  $10^{-9}$  dan  $10^{-10}$ , *Enterobacteriaceae* menggunakan tingkat pengenceran sampel  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$ , sedangkan bakteri asam laktat menggunakan tingkat pengenceran sampel  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ . Pada tiap masing-masing pengenceran untuk total bakteri, *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat diambil sebanyak 1 ml kemudian tuangkan ke dalam media. Selanjutnya biakan di inkubasi secara aerobik selama 24 jam dengan suhu 38°C untuk total bakteri dan total *Enterobacteriaceae* sedangkan untuk bakteri asam laktat di inkubasi secara anaerobik selama 48 jam dengan suhu 38°C. Perhitungan total bakteri, *Enterobacteriaceae*, dan bakteri asam laktat dihitung menggunakan rumus *Total Plate Count* yang diaplikasikan pada Ms. Excel.

### 3.3. Analisis Data

Analisis data pada penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan seperti yang tertera diatas. Tiap perlakuan terdiri dari 4 unit percobaan yang masing-masing terisi 8 ekor ayam broiler.

Data diolah secara statistik menggunakan ANOVA dengan taraf 5%. Apabila hasil F hitung menunjukkan pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan pada taraf 5% (Steel and Torrie, 1995).

Model linier rancangan percobaan adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

- $Y_{ij}$  : Jumlah total bakteri, *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat dalam *ileum* ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan panas dan pemberian kapang *R. oryzae* atau *C. crassa* pada ransum ke-i
- i : perlakuan ke 1,2,3,4,5,6
- j : ulangan ke 1,2,3,4
- $\mu$  : nilai tengah umum jumlah total bakteri, *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat pada *ileum* ayam broiler
- $\tau_i$  : pengaruh perlakuan panas dan pemberian kapang *R. oryzae* atau *C. crassa* pada ransum ayam broiler ke-i
- $\varepsilon_{ij}$  : pengaruh galat percobaan pada jumlah total bakteri, *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat dalam usus halus ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan panas dan pemberian kapang *R. oryzae* atau *C. crassa* pada ransum ke-i

Hipotesis statistik :

$H_0 : \tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = 0$  (semakin tinggi persentase pemberian kapang *R. oryzae* atau *C. crassa* dalam ransum tidak berpengaruh terhadap total bakteri, *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat pada ayam broiler).

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$  (semakin tinggi persentase pemberian kapang *R. oryzae* atau *C. crassa* dalam ransum berpengaruh terhadap total bakteri, *Enterobacteriaceae* dan bakteri asam laktat pada *ileum* ayam broiler).

Pengambilan hasil dari hipotesis adalah :

Apabila  $F_{hitung} < F_{tabel}$  dengan  $\alpha = 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Apabila  $F_{hitung} \geq F_{tabel}$  dengan  $\alpha = 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.