

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2015 – Desember 2015 di kandang Laboratorium Produksi Ternak Unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang dan uji kadar heterofil dan limfosit di Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

3.1. Materi Penelitian

Materi penelitian meliputi 120 ekor itik Peking dengan bobot badan $750,56 \pm 15,28$ g umur 3 minggu (*unsex*) CV= 4,072. Bahan penyusun pakan meliputi jagung, bekatul, bungkil kedelai, tepung ikan dan mineral mix. Kandungan nutrisi bahan pakan dapat dilihat pada Lampiran 1 dan komposisi bahan pakan dan nutrisi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Nutrien Bahan Pakan Penyusun Ransum

Bahan Pakan	Kandungan Nutrien					EM ³ (kkal/kg)
	PK	LK	SK	Ca	P	
Jagung ¹	7,377	0,699	0,730	0,001	0,105	3.350
Bekatul ¹	11,813	10,274	11,875	0,009	1,051	2.980
Bungkil Kedelai ¹	44,118	0,320	2,314	0,151	0,551	2.230
Tepung Ikan ¹	41,126	11,819	8,180	7,515	3,135	2.820
Mineral Mix ²	0,000	0,000	0,000	32,000	1,000	0,000

¹ Kandungan nutrisi berdasarkan analisis proksimat Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2016)

² Sesuai label kemasan

³ Sesuai tabel NRC (1994)

Kandang yang digunakan berupa kandang slat dengan ukuran 100 x 85 x 80 cm yang terbuat dari kayu dan bambu. Kandang sebanyak 24 unit, setiap unit berisi 5 ekor itik. Alat yang digunakan meliputi tempat ransum, tempat minum, nampan, lampu bohlam, timbangan digital, termometer, tabung antikogulan EDTA, gunting, pisau, pipet tetes, kaca preparat, mikroskop dan tabel ethogram.

Tabel 3. Komposisi dan Kandungan Nutrien Ransum

Bahan Ransum	Komposisi
Jagung (%)	60
Bekatul (%)	20
Bungkil kedelai (%)	9
Tepung ikan (%)	10
Mineral (%)	1
Jumlah (%)	100
Kandungan nutrien:	
Protein kasar (%) ¹	14,87
Lemak kasar (%) ¹	3,68
Serat kasar (%) ¹	3,84
Ca (%) ¹	1,08
P (%) ¹	0,65
EM (kkal/kg) ²	3.088,70

Tabel 4. Jenis Mikroba pada Probiotik *

Jenis Mikroba	Jumlah (CFU)
Proteolitik	6×10^9
Lignolitik	6×10^9
Selulolitik	8×10^8
Amilolitik	4×10^8
Lipolitik	5×10^8
Mikroba nitrogen fiksasi non simbiotik	4×10^9
Mikroba pengurai fospat	3×10^8
Mikroba pengurai sulfur	3×10^8

*) Berdasarkan label kemasan Probiotik Starbio®

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 3 dengan 4 ulangan.

Faktor A : Ransum kering dan basah

B : Level probiotik

3.2.2. Parameter penelitian

Parameter penelitian yang diamati adalah bobot bursa fabrisius, timus, limpa dan rasio heterofil limfosit.

3.2.3. Prosedur penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu tahap persiapan, pelaksanaan dan pengambilan data.

3.2.3.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi penyiapan dan pembuatan kandang, penyediaan pembelian *day old duck* (DOD) dan penyediaan ransum. Penyiapan dan pembuatan kandang meliputi pembersihan kandang, sanitasi menggunakan deterjen, pemberian kapur dan fumigasi. Bibit DOD dibeli dari penetasan itik mandiri Payung Asri, Banyumanik, Semarang, Provinsi Jawa Tengah. Pembuatan ransum setiap 2 hari sekali.

3.2.3.2. Tahap pelaksanaan

Tahap perlakuan dilakukan pada minggu ke 3 dimulai dengan penimbangan bobot badan itik Peking. Setiap unit terdapat tempat pakan dan tempat minum. Pemeliharaan itik dilakukan didalam kandang slate dengan ukuran 100 x 85 x 80 cm. DOD itik Peking umur 1 – 14 hari diberi ransum komersial BR 511[®] PT. Charoen Pokphand. Ransum adaptasi diberikan pada umur 15 – 21 hari. Perbandingan ransum komersial dengan perlakuan yang diberikan yaitu 75 : 25, 50 : 50, dan 25 : 75 (masing-masing 2 hari pemberian), hari terakhir 100% ransum. Ransum penelitian diberikan kering dan basah dengan penambahan probiotik Starbio[®] (0, 9 dan 12 g/kg ransum). Pemberian pakan dilakukan 3 kali sehari pada pagi, sore dan malam hari sedangkan air minum diberikan secara *add libitum*. Pengukuran suhu ruang kandang dan kelembaban kandang dilakukan setiap hari pada pukul 06.00, 12.00, 18.00, dan 24.00 WIB.

3.2.3.3. Pengambilan data

Pengambilan data dilakukan dengan pengamatan profil organ limfoid dan rasio heterofil limfosit. Akhir penelitian dilakukan pengambilan data dengan sampel 2 ekor itik secara acak dari setiap unit percobaan. Metode yang dilakukan melalui proses pengambilam sampel organ limfoid (Bursa fabrisius, limpa, dan timus). Bursa fabrisius diperoleh dengan cara mengambil 2 ekor itik (betina dan jantan) dari setiap unit percobaan kemudian di puasakan selama 8 jam lalu ditimbang bobot hidupnya dan dipotong dalam bentuk karkas lalu mengambil

bagian bursa fabrisiusnya pada bagian dorsal kloaka untuk dilakukan penimbangan bobot organ bursa fabrisius.

Timus diperoleh dengan cara mengambil 2 ekor itik (betina dan jantan) dari setiap unit percobaan kemudian dipuasakan selama 8 jam lalu ditimbang bobot hidupnya dan dipotong dalam bentuk karkas lalu mengambil bagian timus pada sisi kanan dan kiri saluran pernafasan (trakea) selanjutnya timus ditimbang untuk mengetahui bobotnya. Limpa diperoleh dengan cara mengambil 2 ekor itik secara (betina dan jantan) dari setiap unit percobaan kemudian dipuasakan selama 8 jam lalu ditimbang bobot hidupnya dan dipotong dalam bentuk karkas lalu mengambil bagian limpa pada bagian sebelah kanan abdomen setelah mendapatkan bagian limpa langkah selanjutnya dilakukan penimbangan untuk mengetahui bobot limpa.

Parameter data rasio heterofil limfosit diperoleh dengan mengambil sampel darah dari 1 ekor itik secara acak dari setiap unit percobaan. Metode yang dilakukan melalui proses pengambilan sampel darah yang dilakukan pada pembuluh vena sayap kanan pada hari ke-42, dengan menggunakan *diposible syringe*. Darah ditampung ke dalam tabung yang telah berisi antikoagulan EDTA, lalu dikocok secara perlahan dan disimpan di dalam lemari es untuk menghindari lisis. Pengambilan data rasio heterofil limfosit dengan membuat preparat darah yaitu darah diambil dengan menggunakan pipet tetes, meneteskan darah pada ujung kaca preparat dan darah didorong dengan kaca preparat lainnya, setelah apus darah kering dilakukan pewarnaan dengan giemsa lalu fiksasi dengan

methanol dan keringkan kemudian diamati dibawah mikroskop perbesaran 100 kali.

3.2.4. Analisis data

Analisis data yang digunakan adalah analisis ragam dengan uji F pada taraf ketelitian 5%. Model linier aditif pada penelitian yang digunakan sesuai Dwiloka dan Srigandono (2006) sebagai berikut:

$$Y_{tak} = \mu + \alpha_t + \beta_a + (\alpha\beta)_{ta} + \epsilon_{tak} ; t = (1, 2) \quad a = (1, 2, 3) \quad k = (1, 2, 3, 4)$$

Keterangan :

Y_{tak} = profil bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik pada percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ke-t dari jenis ransum dan ke-a dari level probiotik.

μ = nilai tengah umum (rata-rata populasi) profil bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik.

A_t = pengaruh aditif dari jenis ransum ke-t.

B_a = pengaruh aditif dari level probiotik ke-a.

$(\alpha\beta)_{ta}$ = pengaruh interaksi antara jenis ransum ke-t dan level probiotik ke-a.

E_{tak} = pengaruh galat pada itik percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan jenis ransum ke-t dengan level probiotik ke-a.

Nilai F hitung \geq F Tabel, maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan untuk mengetahui pengaruh antara percobaan.

3.2.5. Pengambilan keputusan

- a. $H_0 : (\alpha\beta)_{ta} = \alpha_1\beta_2 \dots \dots = \alpha_2\beta_3 = 0$; tidak ada pengaruh interaksi antara ransum basah dan kering dengan level probiotik terhadap profil bobot organ limfoid dan rasio-heterofil itik.

H_1 : minimal ada satu $(\alpha\beta)_{ta} \neq 0$; ada pengaruh interaksi antara ransum basah dan kering dengan level probiotik terhadap profil bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik.

b. $H_0 : \alpha_t = \alpha_1 = \alpha_2 = 0$; tidak ada pengaruh ransum kering dan basah terhadap profil bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik.

H_1 : minimal ada satu $\alpha_t \neq 0$; ada pengaruh ransum kering dan basah terhadap profil bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik.

c. $H_0 : \beta_a = \beta_1 \dots \dots = \beta_3 = 0$; tidak ada pengaruh level probiotik terhadap profil bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik.

H_1 : minimal ada satu $\beta_a \neq 0$; ada pengaruh level probiotik terhadap bobot organ limfoid dan rasio heterofil limfosit itik.