

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh pemberian probiotik kapang *Chrysonilia crassa* dalam pakan terhadap bobot relatif organ limfoid dan usus halus ayam broiler” dilaksanakan pada tanggal 24 Juli – 28 Agustus 2017 di area kandang ayam Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Pengukuran dan penimbangan organ imun dan usus halus dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah 200 ekor DOC ayam broiler *strain* Lohman dengan rata-rata bobot awal $41,1 \pm 0,16$ g. Probiotik yang digunakan adalah *Chrysonilia crassa*. Kandang yang digunakan berjumlah 20 pen yang memiliki ukuran 1 x 1 x 1 m. Perlengkapan dan peralatan kandang pada tiap pen terdiri dari tempat pakan dan minum, lampu pemanas atau penghangat dan penerangan kandang. Termohigrometer dibutuhkan dalam kandang untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam kandang. Vaksinasi dilakukan selama tiga kali, vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah tetes mata dan air minum, vaksin tetes mata dilakukan pada vaksinasi ND dan IBD kemudian vaksin dengan metode air minum dilakukan pada vaksinasi gumboro dan ND La Sota. Bahan lain yang digunakan pada penelitian ini yaitu bubuk kapur untuk proses pengapuran kandang, kemudian kalium permanganat dan formalin digunakan untuk fumigasi

agar dapat mensucihamakan dalam kandang. Bahan pakan yang digunakan terdiri dari CPO (*Crude Palm Oil*), dedak, jagung, limbah tepung gandum, limbah tepung roti, MBM (*Meat Bone Meal*), CFM (*Chick Feather Meal*), CGM (*Corn Gluten Meal*), DDGS (*Dried Distiller Grain with Soluble*), SBM (*Soya Bean Meal*), L-Threonin, lisin, metionin, tepung tulang, garam, dan premix. Bahan pakan, persentase penggunaan ransum dan nutriennya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Ransum Penelitian

Bahan Pakan	Perlakuan			
	T1	T2	T3	T4
	------(%)-----			
CPO	3,5	3,5	3,5	3,5
Dedak	4,45	4,45	4,45	4,45
Jagung	45,5	45,5	45,5	45,5
Limbah Tepung Gandum	10	10	10	10
Limbah Tepung Roti	5	5	5	5
MBM	2,8	2,8	2,8	2,8
CFM	2	2	2	2
CGM	3,6	3,6	3,6	3,6
DDGS	3	3	3	3
SBM	17	17	17	17
Elthreonin	0,08	0,08	0,08	0,08
Lisin	0,55	0,55	0,55	0,55
Metionin	0,37	0,37	0,37	0,37
Tepung Tulang	1,5	1,5	1,5	1,5
Garam	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix	0,5	0,5	0,5	0,5
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Zink Bacitracin</i>	-	0,04	-	-
<i>Bacillus</i>	-	-	0,01	-
<i>Chrysonilia crassa</i>	-	-	-	1,00
Kandungan Nutrisi Pakan :				
Bahan Kering	89,64	89,64	89,64	89,64
Protein Kasar	21,93	21,93	21,93	21,93
Lemak Kasar	6,40	6,40	6,40	6,40
Serat Kasar	5,62	5,62	5,62	5,62
Abu	6,39	6,39	6,39	6,39
Energi Metabolis (kkal/kg)	3.300	3.300	3.300	3.300

Peralatan *sexio* berupa pisau dan gunting bedah untuk mengambil organ limfoid (*bursa fabricius*, *spleen*, dan *thymus*) dan usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) ayam broiler.

3.2. Metode

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan. Pertama yaitu kegiatan persiapan yang terdiri dari peremajaan kultur dan pembuatan kultur kering probiotik *Chrysonilia crassa*, persiapan kandang, dan penyediaan pakan. Kedua, pelaksanaan penelitian yakni pemeliharaan ayam broiler dan yang terakhir dilakukan pengambilan data.

3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan diawali dengan mempersiapkan bahan penyusun ransum, pembuatan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan pembuatan kultur kering *Chrysonilia crassa*. Medium PDA dibuat dengan filtrat kentang 350 ml, *dextrose* 7 g, dan serbuk agar 7 g, berikutnya dilakukan sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf dengan tambahan antibiotik *chloramphenicol*. Peremajaan isolat *Chrysonilia crassa* dilakukan untuk pembuatan starter kultur kering bekatul fermentasi. Isolat *Chrysonilia crassa* ditumbuhkan pada media PDA + *chloramphenicol* lalu diinkubasi selama 2 hari secara aerob pada temperatur 38°C secara aerob. Proses selanjutnya kapang *Chrysonilia crassa* selanjutnya diinokulasikan ke dalam bekatul yang telah disterilkan melalui *solid state fermentation* menggunakan 5 cawan petri dalam 500 g bekatul steril. Hasil

pencampuran tersebut diinkubasi selama 4 hari dan setiap 2 hari dilakukan pengadukan supaya kapang *Chrysonilia crassa* tumbuh merata pada medium bekatul, setelah kapang tumbuh merata pada bekatul selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah koloni kapang dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan hasil 1×10^{11} cfu/g. Bekatul hasil inkubasi kemudian dijemur untuk didapatkan kondisi kering udara.

Proses persiapan kandang dimulai sebelum DOC dipelihara yaitu terdiri dari sanitasi kandang dilakukan dengan cara membersihkan kandang dan lingkungan kandang selama satu minggu. Kegiatan berikutnya yaitu pembersihan peralatan seperti tempat pakan, minum, dan petak kandang dengan deterjen. Kegiatan selanjutnya dilakukan pengapuran pada dinding dan petak kandang, lalu desinfeksi ke seluruh bagian kandang, kemudian langkah terakhir yaitu dilakukan fumigasi dengan menggunakan kalium permanganat dan formalin.

3.2.2. Tahap pemeliharaan

Tahap pemeliharaan dimulai dengan *chick in* ayam broiler dengan membagi 10 DOC pada masing-masing pen. Ayam broiler dipelihara selama 35 hari, pada minggu pertama masuk pada fase *brooding* dilengkapi dengan lampu bohlam 60 watt sebagai sumber pemanas, *litter* menggunakan sekam dan dilapisi koran, tempat pakan menggunakan *chick feeder tray* dan tempat air minum. Minggu-minggu berikutnya, *litter* hanya menggunakan sekam dan dilakukan penggantian secara berkala. Pemberian ransum perlakuan diberikan dari awal masa pemeliharaan hingga akhir yang terdiri dari : T1 = pakan basal, T2 = pakan

basal + 0,04% *Zinc bacitracin*, T3 = pakan basal + 0,01% *Bacillus subtilis*, dan T4 = pakan basal + 1% *Chrysonilia crassa*. Pemberian air minum dilakukan secara *ad libitum*. Penimbangan sisa pakan dan ayam dilakukan rutin setiap minggu sekali.

3.2.3. Tahap pengambilan data

Pengambilan data dilaksanakan pada hari ke-36 dengan cara mengambil masing-masing 1 ekor dari 30 petak kandang secara acak. Berikutnya, ayam ditimbang untuk mendapatkan bobot hidup ayam broiler. Ayam broiler dipotong dan dilanjutkan dengan pengambilan organ limfoid (*spleen*, *thymus*, dan *bursa fabricius*) dan usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) serta dilakukan pembersihan digesta. Proses pengambilan organ menggunakan pisau dan gunting bedah dan pinset. Organ limfoid dan usus halus ditimbang menggunakan timbangan analitik dengan tingkat ketelitian seperseratus gram. Data hasil penimbangan diolah dan ditampilkan dalam bobot relatif dari bobot hidup ayam broiler.

3.3. Rancangan Percobaan Dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang dipergunakan pada penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dengan 5 ulangan. Data yang diperoleh lalu diolah dengan cara statistik dengan analisis ragam pada taraf 5% lalu apabila didapatkan hasil berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji

Duncan. Model linear aditif dan hipotesis statistik yang diterapkan adalah sebagai berikut (Steel dan Torrie, 1993) :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} ; \quad ; i = (1,2,3,4) ; j = (1,2,3,4,5)$$

Keterangan :

Y_{ij} : Bobot relatif organ limfoid dan usus halus ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan penggunaan bekatul yang difermentasi dengan kapang *Chrysonilia crassa* dalam ransum ke-i.

μ : Nilai tengah umum (rata-rata populasi) bobot relatif organ limfoid dan usus halus ayam broiler

τ_i : Pengaruh perlakuan penggunaan bekatul yang difermentasi dengan kapang *Chrysonilia crassa* dalam ransum ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat percobaan pada bobot relatif organ limfoid dan organ pencernaan ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan penggunaan bekatul yang difermentasi dengan fungi *Chrysonilia crassa* dalam ransum ke-i

Hipotesis Penelitian

H_0 : $\alpha = 0$: tidak ada pengaruh pemberian probiotik kapang *Chrysonilia crassa* terhadap bobot relatif organ limfoid dan usus halus ayam broiler

H_1 : $\alpha \neq 0$: ada pengaruh pemberian probiotik kapang *Chrysonilia crassa* terhadap bobot relatif organ limfoid dan usus halus ayam broiler

Kriteria Pengujian

Data yang telah diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam.

Adapun kriteria pengujian adalah sebagai berikut :

Jika $F_{hit} < F_{tab}$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Jika $F_{hit} \geq F_{tab}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.