

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Penambahan Probiotik Kapang *Chrysonilia crassa* terhadap Profil Darah Merah Dan Bobot Badan Akhir Ayam Broiler” dilakukan pada bulan Juli – Agustus 2017. Pemeliharaan ayam broiler dilakukan di Kandang Unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis profil darah merah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan pada penelitian adalah *day old chick* (DOC) ayam broiler strain *Lohmann* sebanyak 200 ekor dengan bobot rata-rata $41,11 \pm 0,16$ g. Kandang yang digunakan adalah kandang koloni yang berukuran 1×1 m dengan jumlah 20 petak. Peralatan dan perlengkapan yang digunakan meliputi termohigrometer untuk mengukur suhu dan kelembaban, tempat pakan, tempat minum, lampu penghangat (60 watt), timbangan, dan *blower* untuk pendingin ruangan. Peralatan dan perlengkapan yang digunakan untuk pengambilan darah meliputi spuit 3 cc, *vacutainer* yang berisi antikoagulan *Ethylen diamine tetra aceticacid* (EDTA) dan *ice box*.

Bahan yang digunakan yaitu kapang *Chrysonilia crassa*, antibiotik *zinc bacitracin*, probiotik *Bacillus sp.* dan pakan. Bahan pakan, persentase penggunaan dan kandungan nutrisi ransum disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan Pakan, Persentase Penggunaan Serta Kandungan Nutrisi Ransum.

Bahan Pakan	Kandungan Nutrisi Ransum
	-----%-----
CPO	3,50
Dedak	4,45
Jagung	45,5
Tepung Gandum	10,0
Tepung Roti	5,00
MBM	2,80
CFM	2,00
CGM	3,60
DDGS	3,00
SBM	17,0
L-threonin	0,08
Lisin	0,55
Metionin	0,37
Tepung Tulang	1,50
Garam	0,15
Premix	0,50
Total	100
Kandungan Nutrisi Pakan	
Energi Metabolis (kkal/kg)	3300
Bahan Kering (%)	89,64
Protein Kasar (%)	21,93
Lemak Kasar (%)	6,40
Serat Kasar (%)	5,62
Abu (%)	6,39

3.2. Metode

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi penentuan rancangan percobaan, pelaksanaan penelitian, serta analisis data.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 10 ekor ayam broiler yang terbagi atas:

- T0 : Pakan basal
- T1 : Pakan basal + antibiotik *Zinc Bacitracin* 0,04%
- T2 : Pakan basal + probiotik *Bacillus sp.* 0,01%
- T3 : Pakan basal + probiotik *Chrysonilia crassa* 1%

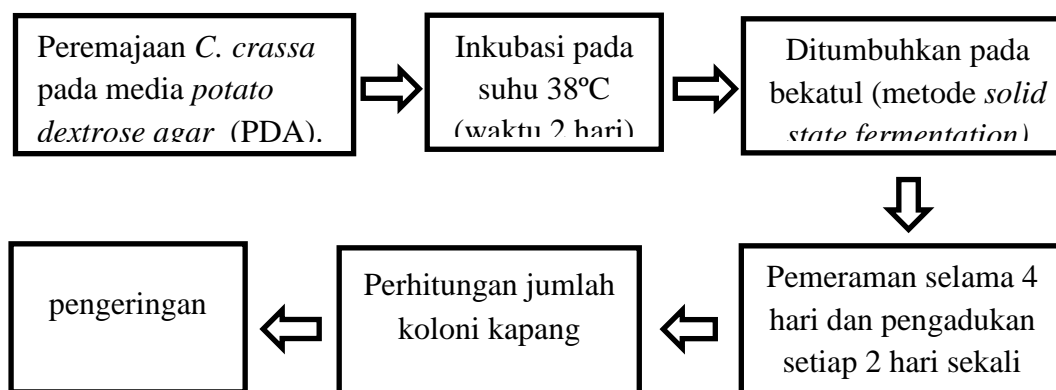
3.2.2. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dibagi menjadi 3 tahap yaitu tahap persiapan, tahap pemeliharaan dan tahap pengambilan data.

3.2.2.1. Tahap persiapan, diawali dengan mempersiapkan kandang. Persiapan kandang diawali dengan membersihkan kandang dan lingkungan sekitarnya, dilanjutkan fumigasi menggunakan Formalin dan KMnO_3 dan pensucian hama yaitu dengan melakukan pengapuran pada seluruh bagian kandang dan melakukan desinfeksi menggunakan Destan.

Tahap pembuatan kultur *Chrysonilia crassa* diawali dengan peremajaan isolat *Chrysonilia crassa* menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA). Pembuatan medium PDA terdiri dari filtrat kentang 500 g, *dextrose* 10 g dan agar 10 g. Medium PDA disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Isolat *Chrysonilia crassa* ditanam pada medium PDA yang sudah steril dan diinkubasi pada suhu 38°C selama 2 hari secara aerob. Kapang *Chrysonilia crassa* kemudian ditumbuhkan pada bekatul steril (sebagai media tumbuh/*carrier*) menggunakan metode *solid state fermentation*. Pemeraman dilakukan selama 4 hari dan pengadukan dilakukan setiap 2 hari. Selanjutnya sampel bekatul yang telah ditumbuhi kapang *Chrysonilia crassa* dihitung jumlah koloni dengan metode *total*

plate count (TPC) sebelum dikeringkan. Jumlah koloni pada masing-masing probiotik *Chrysonilia crassa* adalah 1×10^{11} cfu/g. Proses pembuatan kultur kapang *Chrysonilia crassa* disajikan pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Proses peremajaan kapang *Chrysonilia crassa*

3.2.2.2. Tahap pemeliharaan, Pemeliharaan ayam broiler dilakukan selama 35 hari. Kandang yang digunakan adalah tipe koloni dengan ukuran 1×1 m berjumlah 20 petak. Pemeliharaan dimulai dari penimbangan bobot awal DOC pada saat *chick in* kemudian dimasukkan ke dalam petak kandang masing-masing terdiri dari 10 ekor ayam. Pemberian extra energi dilakukan pada awal kedatangan ternak. Ayam diberikan vaksin ND pada umur 4 hari melalui tetes mata, vaksin gumboro pada umur 14 hari melalui air minum, sedangkan pemberian vaksin IBD dilakukan pada umur 18 hari melalui air minum. Ransum perlakuan diberikan sejak pemeliharaan hari pertama dengan menyesuaikan kebutuhan konsumsi ayam per ekor per hari. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Sebagai basal lingkungan, juga dilakukan pengukuran suhu dan kelembaban di dalam maupun di luar kandang.

3.2.2.3. Tahap pengambilan data, Tahap ini dilakukan ketika ayam berumur 35 hari. Pengambilan data diawali dengan mengambil secara acak satu ekor ayam broiler dari setiap unit percobaan. Pengambilan darah melalui *vena brachialis* sebanyak 3 ml dengan menggunakan spuit ukuran 3 cc. Darah yang sudah diambil selanjutnya dimasukkan ke dalam *vacutainer* yang berisi *Ethylen diamine tetra aceticacid* (EDTA), kemudian *vacutainer* tersebut disimpan pada *coller box*. Darah selanjutnya dianalisis menggunakan PRIMA[®] fully-auto Hematology Analyzer yang meliputi total eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit.

Pengukuran total eritrosit dan hematokrit diukur dengan menggunakan metode *Electrical Impedance*, sedangkan kadar hemoglobin diukur dengan menggunakan metode *Cyanide Free Hemoglobin Spectrophotometry* dengan menggunakan alat Hematology Analyzer, sedangkan indeks eritrosit diperoleh melalui perhitungan dan data bobot badan akhir dilakukan dengan cara menimbang bobot badan ketika ayam berumur 35 hari (g/ekor).

Pengukuran Indeks darah merah (MCV, MCH dan MCHC diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Fitrohadin dkk., 2014) :

Mean corpuscular volume (MCV)

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

Mean corpuscular haemoglobin (MCH)

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

Mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC)

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

3.3. Analisis Data

Data diuji keragamannya dengan analisis ragam (ANOVA), dan apabila terdapat pengaruh nyata maka untuk mengetahui perbedaan rata masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan. (Sastrosupadi, 2000).

Model statistik rancangan acak lengkap adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

Y_{ij} : Hasil pengamatan darah merah ke-i (1,2,3,4) yang memperoleh ulangan ke-j (1,2,3,4,5)

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

τ_i : Pengaruh perlakuan dari perlakuan ke-i (1,2,3,4)

ε_{ij} : Pengaruh galat percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i ulangan ke-j (1,2,3,4,5).

Hipotesis statistika sebagai berikut :

$H_0 \rightarrow \tau = 0$, (tidak ada pengaruh penambahan probiotik kapang *Chrysonilia crassa* terhadap profil darah merah dan bobot badan akhir ayam broiler).

$H_1 \rightarrow \tau \neq 0$, (ada pengaruh penambahan probiotik kapang *Chrysonilia crassa* terhadap profil darah merah dan bobot badan akhir ayam broiler).

Kaidah penarikan hasil :

F hitung < F tabel maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

F hitung \geq F tabel maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian diperoleh data profil darah merah yang meliputi total eritrosit, hemoglobin, hematokrit ayam broiler yang diberi penambahan probiotik kapang *Chrysonilia crassa* seperti tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Jumlah Total Eritrosit, Kadar Hemoglobin dan Persentase Hematokrit Darah Ayam Broiler

Variabel	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Total Eritrosit (juta/mm ³)	2,17	2,27	2,42	2,33
Hemoglobin (g/dl)	9,36	9,68	10,04	9,88
Hematokrit (%)	30,36	30,62	31,32	31,02

4.1. Total Eritrosit

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa rerata jumlah total eritrosit berkisar antara 2,17 – 2,42 juta/mm³ yang mengindikasikan bahwa ternak dalam kondisi normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Rosmalia (2008), Putriani dkk. (2012) dan Natalia (2008) bahwa kadar hemoglobin ayam broiler secara umum adalah 7,0 – 13 g/dl. Perhitungan analisis statistika pada Lampiran 1. menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap total eritrosit ayam broiler pada pemberian *Chrysonilia crassa* maupun *additive* lain. Data dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses metabolisme di dalam tubuh ayam berlangsung baik, serta kecukupan nutrisi dalam tubuh untuk pembentukan sel darah merah terpenuhi. Sugiharto dkk. (2016) menyatakan bahwa eritrosit dapat menjadi