

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 24 Juli – 28 Agustus 2017. Lokasi pemeliharaan ayam kampung berada di kandang unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis total leukosit dan diferensial leukosit dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Hewan, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan adalah *day old chick* (DOC) ayam broiler sebanyak 200 ekor dengan rata – rata bobot awal yaitu $41,11 \pm 0,16$ g. Probiotik yang digunakan adalah jenis kapang yaitu *Chrysonilia crassa*. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *zinc bacitracin*. Perlengkapan dan peralatan kandang yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tempat pakan, tempat minum, lampu bohlam, timbangan digital dan termohigrometer. Komposisi bahan pakan dan kandungan nutrisi ransum disajikan pada Tabel 2.

Perlengkapan dan peralatan yang digunakan dalam proses pengambilan darah meliputi *sputit*, tabung darah *vacutainer* yang berisi dengan antikoagulan *ethylen diamine tetra aceticacid* (EDTA) dan kotak pendingin (*ice box*). Peralatan analisis total leukosit dan diferensial leukosit meliputi *Hematology Analyzer* dan pipet hisap.

Tabel 2. Bahan Pakan, Persentase Penggunaan Serta Kandungan Nutrisi Ransum

Bahan Pakan	Presentase Kandungan Nutrisi Ransum			
	T0	T1	T2	T3
	------(%)-----			
CPO	3,50	3,50	3,50	3,50
Dedak	4,45	4,45	4,45	4,45
Jagung	45,5	45,5	45,5	45,5
Tepung Gandum	10,0	10,0	10,0	10,0
Tepung Roti	5,00	5,00	5,00	5,00
MBM	2,80	2,80	2,80	2,80
CFM	2,00	2,00	2,00	2,00
CGM	3,60	3,60	3,60	3,60
DDGS	3,00	3,00	3,00	3,00
SBM	17,0	17,0	17,0	17,0
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	1,50	1,50	1,50	1,50
Garam	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100	100	100	100
<i>Zinc Bacitracin</i>	-	0,04	-	-
<i>Bacillus sp.</i>	-	-	0,01	-
<i>Chrysonilia crassa</i>	-	-	-	1
Kandungan Nutrisi Pakan				
Energi Metabolis (kkal/kg)	3300	3300	3300	3300
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

3.2. Metode

Prosedur yang dilakukan pada penelitian terdiri dari 3 tahap yaitu: tahap persiapan, tahap pemeliharaan dan tahap pengambilan data.

3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi penyediaan pakan dan peremajaan kultur probiotik kapang *Chrysonilia crassa*. Peremajaan isolat *Chrysonilia crassa* menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA) yang diinkubasi selama 2 hari dengan suhu 38°C. Kapang selanjutnya ditumbuhkan pada bekatul menggunakan metode *solid state fermentation*. Pemeraman dilakukan selama 4 hari, serta dilakukan pengadukan setiap 2 hari sekali.

3.2.2. Tahap pemeliharaan

Tahap Pemeliharaan dimulai dari penerimaan DOC dan penimbangan bobot badan awal DOC. Ayam dibagi secara acak ke dalam 4 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 5 kali sehingga terdapat 20 unit percobaan, setiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor ayam. Pakan perlakuan diberikan sejak ayam berumur 1 hari - 35 hari. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Penimbangan sisa pakan dilakukan setiap pagi hari untuk menghitung konsumsi pakan. Penimbangan bobot badan dilakukan setiap minggu untuk menghitung pertambahan bobot badan harian (PBBH). Pengukuran suhu dan kelembaban kandang setiap pagi, siang dan sore.

3.2.3. Tahap pengambilan data

3.2.3.1. Preparasi darah

Pengambilan darah dilakukan melalui *vena brachialis* pada umur 35 hari. Satu ekor ayam secara acak dari tiap ulangan diambil darahnya sebanyak ± 2 cc, darah kemudian dimasukkan ke dalam *vacutainer* yang berisi antikuagulan EDTA

(*Ethylen Diamine Tetra Aceticacid*) dan diletakan pada kotak (*box*) pendingin untuk menghindari rusaknya sampel darah

3.2.3.2. Pengukuran parameter

Parameter yang diukur meliputi total leukosit dan diferensial leukosit yang terdiri dari heterofil, eosinofil dan limfosit. Adapun prosedur pengukuran parameter dilakukan dengan cara meletakkan sampel darah dalam adaptor pada *Hematology Analyzer*, kemudian menutup tempat sampel dilanjutkan dengan menekan tombol “*Run*”. Hasil analisis berupa total leukosit dan diferensial leukosit akan muncul pada layar monitor secara otomatis.

3.3. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dengan 5 ulangan. Data yang terkumpul selanjutnya diolah secara statistik dengan analisis ragam pada taraf 5% dan apabila ditemukan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji wilayah Ganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993). Adapun model matematis dan hipotesis statistik yang diterapkan adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

Y_{ij} : Hasil pengamatan ke-i yang memperoleh perlakuan ke-j

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

τ_i : Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i ulangan ke-j

Adapun kriteria pengujian yang diterapkan yaitu, jika F hitung $<$ F tabel maka H_0 diterima dan H_1 ditolak dan jika F hitung \geq F tabel maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

H_0 : $\tau = 0$, tidak ada pengaruh perlakuan penambahan probiotik kapang *Chrysonilia crassa* dalam ransum terhadap parameter yang diukur.

H_1 : $\tau \neq 0$, terdapat pengaruh perlakuan penambahan probiotik kapang *Chrysonilia crassa* dalam ransum terhadap parameter yang diukur.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data rata – rata leukosit dan diferensial leukosit ayam broiler yang diberi penambahan probiotik kapang *Chrysonilia crassa* dalam ransum ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Total Leukosit, Heterofil, Eosinofil dan Limfosit Ayam Broiler

Variabel	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Leukosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	16,94 \pm 4,52 ^b	25,48 \pm 6,65 ^a	19,72 \pm 1,06 ^{ab}	20,06 \pm 3,43 ^{ab}
Heterofil (%)	0,54 \pm 0,26	0,54 \pm 0,18	0,46 \pm 0,21	0,60 \pm 0,31
Eosinofil (%)	0,86 \pm 0,36	0,98 \pm 0,22	0,96 \pm 0,21	0,92 \pm 0,25
Limfosit (%)	15,54 \pm 3,99 ^b	23,96 \pm 6,33 ^a	18,30 \pm 0,84 ^b	18,54 \pm 3,12 ^b

Superskrip (a-b) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

4.1. Total Leukosit

Berdasarkan hasil uji sidik ragam dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh nyata perlakuan terhadap total leukosit ($P < 0,05$) ayam broiler. Jumlah leukosit hasil penelitian ini berada pada kisaran 16,94 – 25,48 $\times 10^3/\text{mm}^3$. Jumlah tersebut tergolong masih dalam kondisi normal, dimana jumlah leukosit ayam berkisar antara 12 – 30 $\times 10^3/\text{mm}^3$ (Komalasari, 2014; Hartoyo dkk., 2015). Perlakuan T0 berbeda nyata dengan T1, tetapi keduanya tidak berbeda nyata dengan perlakuan T2 dan T3. Dibandingkan dengan perlakuan T0, nilai leukosit pada T1 relatif lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa *Zinc Bacitracin* memiliki sistem perlindungan lebih baik dari kontrol. Pada penelitian ini nilai leukosit pada T2 dan T3 tidak berbeda dengan T1. Hal tersebut menunjukkan bahwa probiotik memiliki