

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Pemeliharaan di kandang Produksi Ternak Unggas. Penelitian dimulai pada bulan Oktober sampai Desember 2017. Bahan penyusun ransum dianalisis proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, sedangkan jumlah bakteri asam laktat dan *Escherichia coli* usus halus dianalisis di Bagian Mikrobiologi, Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro.

3.1. Ternak, Ransum dan Peralatan Penelitian

Ternak yang digunakan dalam penelitian adalah 160 ekor DOC strain CP 707, diberikan perlakuan pada umur 15 hari dengan BB awal 413 ± 11 g. Bahan penyusun ransum terdiri dari jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, tepung ikan, tepung cangkang telur, *acidifier*, CaCO_3 , vitamin dan mineral dengan 2 level kandungan protein kasar yaitu 18% dan 21%, serta energi metabolis 2.900 – 3.000 kkal/kg (Tabel 1). *Acidifier* yang digunakan merupakan asam sitrat sintetik, sebanyak 1,2% dari total pemberian ransum. Bahan pendukung lain yang digunakan antara lain desinfektan, kapur, vaksin ND dan vaksin gumboro. Media Agar *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) untuk BAL dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk *E. coli*.

Peralatan penelitian meliputi timbangan digital merk Gewinn kapasitas 5 kg ketelitian 0,001 kg untuk menimbang ransum yang diberikan, sisa ransum, dan

bahan ransum yang disusun. Nampan untuk mencampur ransum dan asam sitrat. Tempat minum dan tempat ransum sesuai dengan perlakuan yang diberikan. *Brooder gasolec* sebagai penghangat DOC pada fase *starter*, *thermohygrometer* untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam dan luar kandang. *Laminar flow*, oven, *autoclave*, tabung reaksi, gelas ukur, *colony counter*, *aluminium foil*, *magnetic stirrer*, kapas serta cawan petri untuk analisis jumlah bakteri.

Tabel 3. Formulasi Ransum Penelitian

Bahan Pakan	Komposisi				
	T0	T1	T2	T3	T4
	----- (%) -----				
Jagung Giling	46,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Bekatul	16,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Bungkil Kedelai	27,00	23,50	23,50	23,50	23,50
Tepung Ikan	10,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Tp. Cangkang Telur Non Mikropartikel	-	2,00	-	2,00	-
Tp. Cangkang Telur Mikropartikel	-	-	2,00	-	2,00
CaCO ₃	0,50	-	-	-	-
Premiks	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100	100	100	100	100
Kandungan Nutrien ¹⁾	----- (%) -----				
Energi Metabolis (kcal/kg) ²⁾	2962,55	2907,68	2907,68	2907,68	2907,68
Protein Kasar	21,30	18,18	18,18	18,18	18,18
Lemak Kasar	2,87	2,14	2,14	2,14	2,14
Serat Kasar	4,57	4,45	4,45	4,45	4,45
Kalsium	1,03	1,29	1,29	1,29	1,29
Fosfor	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Metionin ³⁾	0,45	0,35	0,35	0,35	0,35
Lisin ³⁾	1,37	1,05	1,05	1,05	1,05
Arginin ³⁾	1,52	1,26	1,26	1,26	1,26

¹⁾Dianalisis di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro (2017).

²⁾Energi Metabolis (kcal/kg) dihitung dengan rumus $40,81 [0,87 (\text{protein kasar} + 2,25 \times \text{lemak kasar} + \text{BETN}) + k]$ (Balton, 1967)

³⁾Berdasarkan Tabel Komposisi Bahan Makanan Ternak untuk Indonesia (Hartadi *et al.*, 2005).

3.2. Prosedur Penelitian

Penelitian dibagi dalam dua tahap meliputi persiapan dan perlakuan. Tahap persiapan dimulai dari pembuatan tepung cangkang telur mikropartikel, pembuatan ransum, persiapan kandang, persiapan peralatan dan bahan, serta pembelian DOC. Pembuatan Ca mikropartikel dari cangkang telur dimulai dengan cangkang telur dicuci dan dihilangkan dari sisa membran yang menempel, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama 1 - 2 hari, sebelum dihaluskan. Tepung cangkang telur kemudian disonifikasi dan dikeringkan kembali sebelum digunakan. Bahan penyusun ransum lainnya dicampur sesuai komposisi dan dibentuk menjadi *crumble*. Persiapan kandang meliputi penyiapan litter, kandang baterai, pembersihan, pengapuran serta fumigasi kandang.

Pemeliharaan ayam broiler selama 42 hari dengan sistem kandang baterai agar konsumsi dapat diukur secara tepat. Selama 7 hari pertama ayam diberikan ransum komersial dengan kandungan protein kasar 21%. Selanjutnya, pada umur 8 hingga 14 hari ayam diadaptasikan dengan ransum basal dengan protein kasar 18%. Proses adaptasi secara bertahap dengan perbandingan, 25% ransum perlakuan : 75% ransum komersial (umur 8 - 10 hari) , 50% ransum perlakuan : 50 % ransum komersial (umur 10 - 12 hari), 75% ransum perlakuan : 25% ransum komersial (umur 12 - 14 hari). Ayam broiler pada umur 15 hari dipindah dari kandang koloni ke kandang baterai (individu), dan mulai diberikan (100%) ransum perlakuan (T0, T1, T2, T3, dan T4). Penempatan ayam broiler pada baterai sesuai dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang telah ditentukan, dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

3.3. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati meliputi pH digesta, populasi bakteri asam laktat (BAL) dan *Escherichia coli*, laju digesta, dan pertambahan bobot badan (PBB). Laju digesta diukur pada umur 38 - 42 hari dengan menambahkan indikator Fe_2O_3 (berwarna merah) sebanyak 0,5% dari pemberian ransum, kemudian diukur waktu mulai dari pemberian ransum dengan indikator sampai waktu ekskreta berwarna merah pertama keluar. Prosedur perhitungan populasi BAL (de Mann *et al.*, 1960) dan *E. coli* (Dufour *et al.*, 1981) diuraikan pada alenia berikut.

Sampel digesta diambil pada saat ayam berumur 42 hari. Ayam diambil secara acak (1 ekor) dari tiap ulangan pada masing-masing perlakuan, kemudian disembelih dan diambil bagian usus halus. Keasaman (pH) keseluruhan isi usus halus (digesta) diukur menggunakan pH indikator. Selanjutnya, digesta dimasukkan dalam tabung yang sudah disterilisasi dan ditutup rapat. Semua alat selain medium dan tabung reaksi meliputi aluminium foil, sendok sampel dan cawan petri disterilisasi menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam, sedangkan sterilisasi medium dan tabung reaksi menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

Medium untuk BAL menggunakan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Agar sebanyak 66,24 g dalam 1000 ml, sedangkan *E. coli* menggunakan *Eosin-Methylene Blue Agar* (EMBA) sebanyak 37,5 g dalam 1000 ml. Kedua media yang telah ditambahkan air tersebut dipanaskan sampai suhu 100°C pada *magnetic stirrer*. Media didinginkan pada suhu 45 sampai 55°C sebelum dituangkan pada cawan petri. Sampel diencerkan dengan mengambil 1 g digesta

dimasukkan ke dalam tabung reaksi pertama yang berisi 9 ml aquades kemudian dihomogenkan dan diperoleh pengenceran 10^{-1} , 1 ml dari tabung pertama kemudian dimasukkan ke tabung kedua, tabung tersebut digojog hingga homogen dan diperoleh pengenceran 10^{-2} , 1 ml dari tabung kedua kemudian dimasukkan ke tabung ketiga, tabung tersebut dikocok dan diperoleh pengenceran 10^{-3} , selanjutnya diencerkan sampai 10^{-8} untuk BAL dan 10^{-5} untuk *E. coli*. Tiap pengenceran dimasukkan dalam cawan petri sebanyak 1 ml kemudian dituangkan media agar sebanyak 15 ml. Sampel dan media ditunggu sampai agak padat kemudian dipindah ke dalam inkubator anaerob pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk *E. coli* dan 48 jam untuk BAL. Penghitungan koloni menggunakan *colony counter* dan jumlah populasi bakteri dihitung menggunakan rumus Fardiaz (1993) sebagai berikut.

$$\text{Total bakteri} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Pertambahan bobot badan (PBB) diukur dari selisih bobot badan akhir dan bobot awal

3.4. Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik

Perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, masing-masing terdiri dari 8 ekor ayam broiler. Perlakuan yang diberikan meliputi :

T0 = ransum dengan protein kasar 21 %

T1 = ransum dengan protein kasar 18 % menggunakan Ca non mikropartikel 2%

T2 = ransum dengan protein kasar 18 % menggunakan Ca mikropartikel 2%

T3 = ransum protein kasar 18 % menggunakan Ca non mikropartikel 2% dan asam sitrat 1,2%

T4 = ransum protein kasar 18 % menggunakan Ca mikropartikel 2% dan asam sitrat 1,2%

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistika menggunakan analisis ragam (Anova). Uji wilayah ganda (Duncan) pada taraf probabilitas 5%, dilakukan jika data berpengaruh nyata (Gasperz, 1991). Model matematika yang digunakan diuraikan sebagai berikut :

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

Keterangan :

i = Jumlah perlakuan (0,1,2,3,4)

j = Ulangan (1, 2, 3, 4)

Y_i = Jumlah bakteri dan pertambahan bobot badan ke-j ransum ayam broiler yang memperoleh perlakuan penambahan kalsium mikropartikel dan *acidifier* ke-i

μ = Rataan jumlah bakteri dan pertambahan bobot badan

τ_i = Pengaruh penambahan kalsium mikropartikel dan *acidifier* pada ransum ayam broiler ke-i

E_{ij} = Perlakuan galat percobaan pada ransum ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i