

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang pengaruh penambahan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral terhadap profil lemak darah broiler dilaksanakan pada Mei – Juni 2017 di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian adalah *day old chick* (DOC) broiler *unsex* dari *strain* Lohman MB 202 P berjumlah 240 ekor dengan bobot badan awal rata-rata $45,90 \pm 3,24$ g yang diproduksi oleh PT. Japfa Comfeed Indonesia. Probiotik menggunakan bakteri *Bacillus* yaitu *Bacillus cereus strain* SIIA_Pb_E3, *Bacillus licheniformis strain* FJAT-29133, *Bacillus megaterium strain* F4-2-27 dan *Bacillus sp.* 11CM31Y12 yang diperoleh dari isi rumen sapi, vitamin terdiri dari vitamin A 0,100 mg, vitamin D 0,018 mg, vitamin E 0,100 mg, dan mineral meliputi Ca 1200 mg, 750 mg P, 0,08 mg Mg, 0,006 mg Co, 0,045 mg Cu, 0,015 mg Se, 0,180 mg S, 0,010 mg Zn, 0,060 mg KCl, 0,030 mg I, 0,060 mg Fe, 0,100 mg Mn. Probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral ini berbentuk bubuk, pakan yang digunakan yaitu pakan ayam komersial jenis BR11 berasal dari PT. Charoen Pokphand Indonesia dengan rincian kandungan nutrien pada Tabel 1, dan air bersih.

Bahan yang digunakan adalah vaksin, sekam, desinfektan, kapur, formalin dan KMnO₄. Perlengkapan dan peralatan yang digunakan yaitu kandang postal, tempat pakan, tempat minum, *blower*, lampu pijar 70 watt, termohigrometer, dan timbangan digital.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Pakan Komersial Jenis BR11

Kandungan Nutrien*	
Energi Metabolis (kkal/kg)**	3.610,87
Kadar Air (%)	10,00
Protein Kasar (%)	19,80
Lemak Kasar (%)	3,39
Serat kasar (%)	2,09
Abu (%)	3,32

*Hasil analisis di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro (2017)

**Hasil perhitungan menggunakan rumus Balton (Siswohardjono, 1982) Energi metabolis (kkal/kg) = 40,81 [0,87 (protein kasar + 2,25 x lemak kasar + BETN) + k]

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan penelitian

Metode penelitian meliputi penentuan rancangan percobaan, prosedur penelitian dan analisis data. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola searah dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan, setiap unit percobaan diisi 12 ekor DOC broiler (*unsex*), perlakuan yang diterapkan yaitu :

T0 : pakan komersial tanpa tambahan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral

T1 : pakan komersial + probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral 0,1%

T2 : pakan komersial + probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral 0,5%

T3 : pakan komersial + probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral 1%

Model linear statistik yang diterapkan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}; i$$

Keterangan :

i = Perlakuan ke 1,2,3 dan 4

j = Ulangan ke 1,2,3,4 dan 5

Y_{ij} = Kadar kolesterol, HDL, LDL, dan trigliserida pada serum darah broiler ulangan ke-j akibat pengaruh probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral ke-i

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) kadar kolesterol, HDL, LDL, dan trigliserida pada serum broiler

τ_i = Pengaruh penambahan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral dengan presentase pemberian ke-i yang berbeda

ϵ_{ij} = Galat percobaan pada kadar kolesterol, HDL, LDL, dan trigliserida serum darah broiler ulangan ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

3.2.2. Prosedur penelitian

Prosedur penelitian dibagi menjadi tiga tahap yaitu tahap persiapan, tahap pemeliharaan, dan tahap pengambilan data. Tahap persiapan dimulai dengan membersihkan kandang dan lingkungan di sekitar kandang kemudian membagi kandang menjadi 20 petak, menyiapkan tempat pakan dan minum, memasang instalasi lampu, pemasangan tirai, pengapuran lantai dan dinding kandang, desinfeksi lalu proses fumigasi menggunakan $KMnO_4$ dan formalin. Pakan disiapkan dengan menambahkan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral yang sudah berbentuk bubuk ke dalam pakan komersial ayam sesuai perlakuan yang digunakan. Proses penambahan dan pencampuran dilakukan secara manual dan

diaduk hingga homogen. Jumlah koloni *Bacillus* sp. yang digunakan adalah 10^{12} cfu/g.

Tahap pemeliharaan dimulai dengan *chick in*, kemudian mengambil sampel DOC untuk ditimbang bobot badannya kemudian DOC dibagi rata dengan jumlah 12 ekor setiap petak. Pemeliharaan dilakukan selama 28 hari. Pemberian probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral dilakukan dengan cara mencampurkan ke dalam pakan sesuai dengan perlakuan yang digunakan. Pakan yang diberikan merupakan pakan komersial jenis BR 11 yang sudah dicampurkan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral yang diberikan secara terukur sesuai kebutuhan. Air minum diberikan secara *ad libitum* dan sisa pakan serta penimbangan bobot badan ayam ditimbang setiap minggu. Kontrol suhu dan kelembaban dilakukan setiap hari pada pukul 06.00, 12.00, 18.00 dan 24.00. Vaksinasi yang dilakukan adalah ND-IB, Gumboro, dan ND La Sota. Vaksin ND-IB dilakukan pada hari ke-4 dengan tetes mata, vaksin Gumboro dilakukan pada hari ke-14 melalui air minum, dan vaksin ND La Sota dilakukan pada hari ke-18 melalui air minum.

Tahap pengambilan sampel dilakukan pada akhir penelitian 28 hari dan setiap unit percobaan diambil satu ekor ayam secara acak. Sampel berupa darah ayam yang diambil melalui vena *brachialis* menggunakan spuit, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2.000 rpm, setelah serum terpisah kemudian dimasukkan *plain tube* dan disimpan dalam *freezer*. Sampel serum darah selanjutnya dianalisis di Laboratorium Kesehatan Dinas Kesehatan Pemerintah Provinsi Jawa Tengah untuk mengetahui profil lemaknya meliputi kolesterol, trigliserida, LDL, dan HDL.

3.2.3. Analisis data

Data yang diperoleh selanjutnya diolah secara statistik dengan analisis ragam pada taraf 5% dan apabila terdapat pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji wilayah Ganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

3.2.4. Parameter

Parameter yang diamati yaitu profil lemak broiler meliputi kadar kolesterol, trigliserida, LDL, dan HDL dalam darah. Kadar kolesterol dianalisis dengan metode *cholesterol oxidase-p-aminophenozone* (CHOD-PAP) (Boehringer, 1993), kadar trigliserida darah dengan metode *glyserol phosphatase oxidase-p-aminophenozone* (GPO-PAP) dan kadar LDL serta HDL darah dianalisis dengan metode *Homogeneous enzymatic colorimetric assay* (Hasanuddin *et al.*, 2013).

3.2.5. Hipotesis

$H_0 : \alpha = 0$: tidak ada pengaruh penambahan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral terhadap kadar kolesterol, HDL, LDL, dan trigliserida serum darah broiler

$H_1 : \alpha \neq 0$: ada pengaruh penambahan probiotik *Bacillus*, vitamin dan mineral terhadap kadar kolesterol, HDL, LDL, dan trigliserida serum darah broiler

3.2.6. Kriteria penerimaan dan penolakan hipotesis

Kriteria penerimaan dan penolakan adalah sebagai berikut:

Jika $F_{hitung} < F_{tabel}$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Jika $F_{hitung} \geq F_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.