

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian tentang pengaruh penggunaan *Lactobacillus sp.* dan mikropartikel cangkang telur terhadap bobot relatif organ limfoid, rasio heterofil-limfosit dan bobot akhir dilaksanakan pada tanggal 19 Desember 2017 sampai 31 Januari 2018 di Kandang Digesti dan Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang. Sampel darah dianalisis di Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Bagian Patologi Klinik Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta untuk mengetahui rasio heterofil-limfosit.

#### 3.1. Ternak dan Ransum Penelitian

Ternak yang digunakan dalam penelitian yaitu ayam broiler *strain* MB New Lohman yang diperoleh dari PT. Japfa Comfeed, Salatiga Jawa Tengah sebanyak 160 ekor umur 14 hari dengan bobot badan rata-rata  $407,65 \pm 16,51$  g, dipelihara dalam kandang *battery* yang telah diberi tanda perlakuan secara acak. Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu *Lactobacillus sp.* 1,2 ml yang diperoleh dari Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, cangkang telur mikropartikel, desinfektan, vaksin ND untuk umur 3 hari dan vaksin Gumboro untuk umur 14 hari. Ransum penelitian tersusun dari jagung, bekatul, tepung ikan, bungkil kedelai, premix dan tepung cangkang telur sebagai sumber Ca organik dengan protein *step down* (21 menjadi 18%) (Tabel 3).

Tabel 3. Formulasi Ransum Penelitian

Bahan Ransum	Komposisi				
	T0	T1	T2	T3	T4
	----- (%) -----				
Jagung Giling	44,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Bekatul	17,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Bungkil Kedelai	31,00	23,00	23,00	23,00	23,00
Tepung Ikan	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
Tp. Cangkang Telur	2,00	2,00	0,00	2,00	0,00
Tp. Cangkang Telur					
Mikropartikel	0,00	0,00	2,00	0,00	2,00
Premiks	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100	100	100	100	100
Kandungan Nutrien* (%)					
Energi Metabolis** (kkal/kg)	2914,51	2915,67	2915,67	2915,67	2915,67
Protein Kasar	21,21	18,13	18,13	18,13	18,13
Lemak Kasar	2,16	2,22	2,22	2,22	2,22
Serat Kasar	4,31	4,45	4,45	4,45	4,45
Kalsium	1,22	1,20	1,20	1,20	1,20
Fosfor	0,55	0,57	0,57	0,57	0,57
Metionin***	0,38	0,36	0,36	0,36	0,36
Lisin***	1,25	1,06	1,06	1,06	1,06
Arginin***	1,48	1,26	1,26	1,26	1,26

\* Berdasarkan hasil analisis proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang (2017)

\*\* Dihitung berdasarkan rumus Balton

\*\*\* Dihitung berdasarkan kandungan asam amino bahan pakan berdasar Tabel National Research Council (1994).

T<sub>0</sub> : Ransum protein kasar 21% dengan Ca non-mikropartikel (reguler)

T<sub>1</sub> : Ransum protein kasar 18% dengan Ca non-mikropartikel (reguler)

T<sub>2</sub> : Ransum protein kasar 18% dengan Ca mikropartikel

T<sub>3</sub> : Ransum protein kasar 18% dengan Ca non-mikropartikel (reguler) ditambah *Lactobacillus sp.* 1,2 ml

T<sub>4</sub> : Ransum protein kasar 18% dengan Ca mikropartikel ditambah *Lactobacillus sp.* 1,2 ml

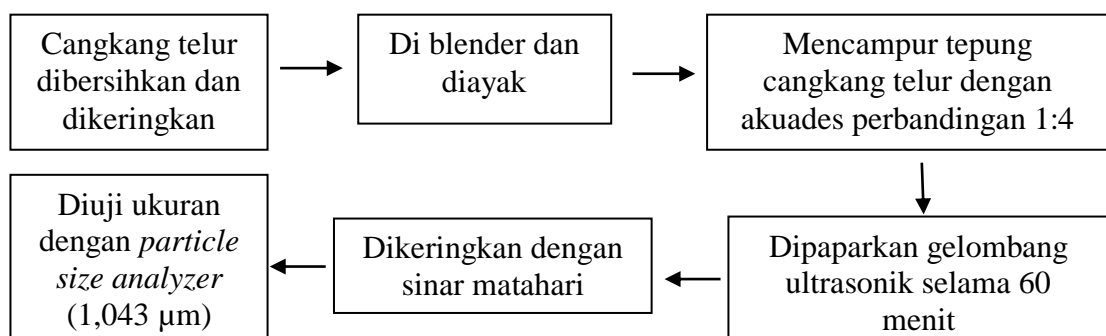
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender untuk membuat tepung cangkang telur, *ultrasonic transducer* dengan merk Power Sonic 405 untuk memperkecil ukuran partikel cangkang telur, *pelleter* untuk membuat pakan bentuk pellet, tempat ransum, tempat minum, lampu 60 watt sebagai

penerang dan penghangat kandang, timbangan digital, tirai plastik, *hygrometer* dan *thermometer*.

## 3.2 Prosedur Penelitian

### 3.2.1. Pembuatan cangkang telur mikropartikel

Cangkang telur diperoleh dari limbah peternakan yang kemudian dibersihkan dan mengeringkannya. Cangkang telur yang telah kering kemudian dibuat menjadi tepung. Sebagian tepung cangkang telur kemudian dibuat menjadi mikropartikel dengan menggunakan sonifikator di laboratorium dengan akuades perbandingan 1:4 dan dikeringkan kembali. Tepung cangkang telur tanpa mikropartikel dan dengan mikropartikel kemudian dianalisis proksimat untuk mengetahui kandungan nutriennya. Tepung cangkang telur mikropartikel diuji dengan *particle size analyzer* (PSA) di Laboratorium Kimia Anorganik, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Negeri Semarang. Cara pembuatan cangkang telur mikropartikel seperti Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Prosedur Pembuatan Mikropartikel Tepung Cangkang Telur

### 3.2.2. Pemeliharaan ayam

Tahap ini dimulai dengan pemeliharaan ayam dari *day old chicken* (DOC) yaitu ayam umur 1 – 14 hari diberikan ransum BR, selanjutnya mulai umur 15 – 42 hari diberi ransum perlakuan. Selama 1 – 14 hari ayam diberi adaptasi dengan pemberian ransum secara bertahap yaitu mulai umur 1 – 7 hari diberi ransum komersial 100%, umur 8 hari pemberian ransum berupa ransum komersial 75% : 25% ransum buatan sendiri (T0), umur 9 hari berupa ransum komersial 50% : 50% ransum buatan sendiri (T0), umur 10 hari berupa ransum komersial 25% : 75% ransum buatan sendiri (T0), umur 11 – 14 hari berupa ransum buatan sendiri (T0) 100% dan umur 15 - 42 hari diberi ransum perlakuan. *Lactobacillus sp.* 1,2 mL dicampur dengan sedikit ransum ( $\pm$  20 g) diberikan setiap pagi dan ditunggu sampai habis, selanjutnya ditambah ransum tanpa *Lactobacillus sp.* untuk memenuhi kebutuhan ransum per hari (T3 dan T4). Vaksinasi menggunakan vaksin ND IB melalui tetes mata pada umur 4 hari dan vaksin gumboro pada ayam umur 8 hari sampai 14 hari.

### 3.2.3. Parameter penelitian

Parameter yang diamati meliputi bobot organ limfoid dan rasio heterofil-limfosit. Sampel darah untuk analisis rasio heterofil-limfosit diambil pada hari ke 42 sebelum *carcassing* dengan cara membersihkan sayap bagian dalam dengan alkohol, kemudian *syringe* disuntikkan pada pembuluh darah *vena brachialis*. Darah diambil sebanyak  $\pm$  2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang

telah diberi antikoagulan berupa EDTA untuk menghindari pembekuan darah, selanjutnya disimpan di dalam *cooling box* sampai analisis.

Organ limfoid meliputi bursa fabrisius, limpa, dan timus diperoleh dari ayam yang telah di dekapitasi (sembelih) kemudian dipisahkan secara teliti dan bersih dari daging-daging atau lemak-lemak. Bobot organ limfoid ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan selanjutnya dihitung bobot relatif dengan menggunakan rumus:

$$\text{Bobot relatif organ limfoid} = \frac{\text{bobot organ limfoid}}{\text{bobot hidup}} \times 100\%$$

Bobot badan akhir diperoleh dari penimbangan ayam pada umur 42 hari sebelum dekapitasi, menggunakan timbangan analitik kapasitas 10 kg dengan ketelitian 0,01 g.

#### **3.2.4. Rancangan percobaan dan analisis statistik**

Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, masing-masing ulangan terdiri 8 ekor ayam broiler.

Perlakuan yang diberikan pada ayam broiler sebagai berikut:

T<sub>0</sub>: Ransum protein kasar 21% dengan Ca non-mikropartikel (reguler)

T<sub>1</sub>: Ransum protein kasar 18% dengan Ca non-mikropartikel (reguler)

T<sub>2</sub>: Ransum protein kasar 18% dengan Ca mikropartikel

T<sub>3</sub>: Ransum protein kasar 18% dengan Ca non-mikropartikel (reguler) ditambah *Lactobacillus sp.* 1,2 ml

T<sub>4</sub>: Ransum protein kasar 18% dengan Ca mikropartikel ditambah *Lactobacillus sp.* 1,2 ml

Data hasil penelitian diuji secara statistik berdasarkan prosedur analisis ragam (uji F). Apabila terdapat pengaruh perlakuan yang nyata ( $P < 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan pada taraf 5% (Steel *et al.*, 1997). Model matematis dari rancangan acak lengkap yang digunakan adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

i = Perlakuan (1,2,3,4,5)

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

$Y_{ijk}$  = Rasio heterofil-limfosit dan bobot relatif organ limfoid ke-j yang memperoleh perlakuan pemberian *Lactobacillus sp.* dan mikropartikel cangkang telur

$\mu$  = Nilai tengah umum rasio heterofil-limfosit dan bobot relatif organ limfoid

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan pemberian *Lactobacillus sp.* dan mikropartikel cangkang telur ke-i

$\epsilon_{ij}$  = Galat percobaan pada rasio heterofil-limfosit dan bobot relatif organ limfoid ke-j yang memperoleh perlakuan pemberian *Lactobacillus sp.* dan mikropartikel cangkang telur.

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

$H_0$  :  $\tau = 0$ ; tidak ada pengaruh perlakuan pemberian *Lactobacillus sp.* dan mikropartikel cangkang telur terhadap rasio heterofil-limfosit dan bobot relatif organ limfoid

$H_1$  : maksimal ada satu  $\tau \neq 0$ ; minimal ada satu perlakuan pemberian *Lactobacillus sp.* dan mikropartikel cangkang telur terhadap rasio heterofil-limfosit dan bobot relatif organ limfoid

Kriteria pengujian sebagai berikut :

1. Apabila  $F_{hitung} < F_{tabel\ 5\%}$ , maka pengaruh perlakuan tidak berbeda nyata sehingga  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.
2. Apabila  $F_{hitung} \geq F_{tabel\ 5\%}$ , maka pengaruh perlakuan berbeda nyata sehingga  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.