

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE PENELITIAN**

Penelitian tentang “Perkembangan Organ Limfoid dan Rasio Heterofil Limfosit Ayam Broiler yang Diberi Ransum Menggunakan Kalsium Mikropartikel dengan Suplementasi Asam Sitrat” dilaksanakan di Kandang Produksi Ternak Unggas, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang pada bulan Oktober sampai Desember 2017. Analisis ransum dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Universitas Diponegoro, Semarang dan analisis darah di Laboratorium Kesehatan Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

#### **3.1. Materi Penelitian**

Ternak yang digunakan dalam penelitian adalah 160 ekor ayam broiler *strain* CP 707 (*unsex*) dengan bobot badan  $52 \pm 5$  g. Bahan penyusun ransum meliputi jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, tepung ikan, tepung cangkang telur reguler (non mikropartikel) dan yang diolah mikropartikel,  $\text{CaCO}_3$ , vitamin dan mineral. Asam sitrat ditambahkan sebanyak 1,2% dari total pemberian ransum. Peralatan penelitian yang digunakan yaitu timbangan analitik untuk menimbang bobot organ limfoid, *thermohyrometer* untuk mengukur suhu dan kelembapan kandang, tempat pakan dan minum, *brooder gasolec*, *sputit* ukuran 3 ml untuk mengambil darah ayam, tabung *ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA) sebagai tempat sampel darah, dan *cooling box* untuk menyimpan sampel

darah. Susunan ransum penelitian dan kandungan nutrisi tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Formulasi Ransum Penelitian dan Kandungan Nutrisi

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	-	2,00	-	2,00	0,00
Tp. Cangkang Telur Mikropartikel	-	-	2,00	-	2,00
CaCO <sub>3</sub>	0,50	-	-	-	-
Premiks	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Kandungan Nutrien<sup>1)</sup> : (%)</b>					
Energi Metabolis <sup>2)</sup> (kkal/kg)	2.962,55	2.907,68	2.907,68	2.907,68	2.907,68
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 <sup>3)</sup>	0,45	0,35	0,35	0,35	0,35
Lisin <sup>3)</sup>	1,37	1,05	1,05	1,05	1,05
Arginin <sup>3)</sup>	1,52	1,26	1,26	1,26	1,26

<sup>1)</sup>Dianalisis Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro (2017); <sup>2)</sup>Dihitung menurut rumus Balton (1967); <sup>3)</sup>Dihitung menurut Tabel Hartadi *et al.* (2005).

T0 (ransum protein 21%) , T1 (ransum protein 18% menggunakan kalsium non mikropartikel, T2 (ransum protein 18% menggunakan kalsium mikropartikel), T3 (ransum protein 18% menggunakan kalsium non mikropartikel + asam sitrat 1,2%), T4 (ransum protein 18% menggunakan kalsium mikropartikel + asam sitrat 1,2%)

## 3.2. Metode Penelitian

### 3.2.1. Persiapan

Tahap persiapan meliputi pembersihan kandang, pengapuran, fumigasi dan

pembuatan tepung cangkang telur. Cangkang telur yang didapat dari limbah pabrik roti dicuci bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 1 - 2 hari, selanjutnya dihaluskan. Tepung cangkang telur kemudian diayak, selanjutnya ditambah aquades dengan perbandingan 1 : 3 (b/v) dan dibuat mikropartikel menggunakan *sonificator*, sehingga diperoleh ukuran partikel sebesar 1,064  $\mu\text{m}$ .

### **3.2.2. Pemeliharaan ayam percobaan**

Penelitian dilaksanakan selama 42 hari, selama 7 hari pertama ayam dipelihara pada kandang postal dan diberi ransum komersial dengan kandungan protein kasar 21% (pakan *starter* 511). Selanjutnya, mulai umur 8 hingga 14 hari ayam diadaptasikan dengan ransum basal secara bertahap, yaitu 25% ransum basal (T0) : 75% ransum komersial pada umur 8 - 9 hari, 50% ransum basal (T0) : 50% ransum komersial pada umur 10 - 11 hari, 75% ransum basal (T0) : 25% ransum komersial pada umur 12 - 14 hari dan 100% ransum perlakuan mulai umur 15 hari. Ayam mulai umur 15 hari (bobot badan  $413 \pm 11$  g) dipindahkan ke kandang *battery* dan diberi ransum perlakuan sampai umur 42 hari.

### **3.2.3. Parameter penelitian**

Parameter yang diamati meliputi bobot relatif organ limfoid, rasio heterofil limfosit dan pertambahan bobot badan harian. Sampel darah untuk pengamatan rasio heterofil limfosit diambil pada umur 40 hari melalui *vena brachialis* sebanyak 0,5 - 1 ml. Sampel darah ditampung dalam *vacuum tube* yang diberi

EDTA (1 mg/tabung). Jumlah heterofil dan limfosit dihitung menurut prosedur Post *et al.* (2003), yaitu jumlah heterofil dan limfosit diukur dengan menggunakan preparat ulas darah dan pewarnaan *giems*. Preparat ulas darah kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Jumlah dari jenis leukosit dihitung dengan menggunakan alat penghitung sel darah (*blood cell counter*) sampai didapatkan jumlah 100 sel.

Bobot badan ayam yang akan diambil data bobot relatif organ limfoid terlebih dahulu ditimbang. Data bobot relatif organ limfoid meliputi bobot bursa fabrisius, limpa dan timus ditimbang pada umur 42 hari setelah dilakukan pemotongan untuk memperoleh karkas, dengan rumus sebagai berikut:

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

Data pertambahan bobot badan harian diperoleh dengan menimbang bobot badan akhir ayam pada umur 42 hari, kemudian dikurangi bobot badan awal pada saat ayam diberi ransum perlakuan (umur 15 hari), selanjutnya dibagi dengan jumlah hari pemeliharaan (28 hari). Rumus penghitungan pertambahan bobot badan harian sebagai berikut:

$$\text{Pertambahan bobot badan harian (g)} = \frac{\text{bobot badan akhir} - \text{bobot badan awal (g)}}{\text{jumlah hari pemeliharaan (g)}}$$

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

Penelitian disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Masing-masing ulangan berisi 8 ekor ayam broiler. Ransum yang diuji sebagai perlakuan sebagai berikut:

T0 = ransum dengan protein 21%, sebagai kontrol

T1 = ransum dengan protein 18% menggunakan Ca non mikropartikel

T2 = ransum dengan protein 18% menggunakan Ca mikropartikel

T3 = ransum dengan protein 18% menggunakan Ca non mikropartikel + asam sitrat 1,2%

T4 = ransum dengan protein 18% menggunakan Ca mikropartikel + asam sitrat 1,2%

Data dianalisis dengan menggunakan sidik ragam berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) pada taraf signifikansi 5%, dan dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Gasperz, 1997). Model matematika sebagai berikut:

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

Keterangan :

$Y_{ij}$  = Bobot relatif organ limfoid dan rasio heterofil limfosit ayam broiler ke-j yang memperoleh perlakuan penggunaan kalsium mikropartikel dan asam sitrat ke-i

$\mu$  = Rata-rata umum bobot relatif organ limfoid dan rasio heterofil limfosit

$\tau_i$  = Pengaruh penggunaan kalsium mikropartikel dan asam sitrat pada ransum ayam broiler ke-i

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