

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian tentang profil darah merah ayam broiler yang diberi ekstrak tomat dan diinfeksi bakteri *Escherichia coli* dilaksanakan pada bulan April – Juni 2018 di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

#### 3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 128 ekor *day old chicks* (DOC) ayam broiler (*unsex*) strain Lohman MB-202 yang diproduksi PT. Japfa Comfeed Indonesia dengan bobot awal rata-rata  $43,09 \pm 3,33$  g. Perlengkapan dan peralatan yang digunakan adalah kandang ayam yang dibagi menjadi 16 petak, tempat pakan, tempat minum, timbangan digital dan alat tulis. Bahan yang digunakan yaitu limbah tomat, *Avian Pathogenic Escherichia coli* (APEC), air minum, pakan ayam komersil B11S untuk fase *starter* dan S21 untuk fase *finisher* dengan rincian kandungan nutrisi seperti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Pakan (dalam 100% bahan kering)

Kandungan	Fase <i>Starter</i> <sup>a)</sup>	Fase <i>Finisher</i> <sup>b)</sup>
	----- (%) -----	
Protein	21,00-23,00	21,27
Lemak	5,00	3,96
Serat kasar	5,00	4,19
Abu	7,00	6,86
Kalsium	0,90	1,00
Fosfor	0,60	0,81

a)PT. Charoen Pokphand Indonesia; b)Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang

## **3.2. Metode**

### **3.2.1. Rancangan percobaan**

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dengan 4 ulangan, sehingga terdapat 16 unit percobaan dengan jumlah keseluruhan ayam 128 ekor. Setiap unit percobaan diisi dengan 8 DOC ayam broiler (*unsex*). Perlakuan yang diberikan yaitu :

T0 : Diberi minum ekstrak tomat 0 ml/hari, diinfeksi APEC

T1 : Diberi minum ekstrak tomat 40 ml/hari, diinfeksi APEC

T2 : Diberi minum ekstrak tomat 80 ml/hari, diinfeksi APEC

T3 : Diberi minum ekstrak tomat 120 ml/hari, diinfeksi APEC

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah profil darah merah meliputi total eritrosit, kadar hemoglobin dan persentase hematokrit serta bobot badan akhir.

### **3.2.2. Prosedur penelitian**

Persiapan penelitian diawali dengan pembuatan kandang petak berjumlah 16 unit. Melakukan pembersihan kandang, setelah itu dilakukan pengapuran diseluruh permukaan lantai dan dinding kandang. Fumigasi dilakukan pada kandang yang akan digunakan. Fumigasi menggunakan formalin 1,5 l dan  $\text{KMnO}_4$  sebanyak 2 kg. Formalin ditambahkan ke dalam  $\text{KMnO}_4$  kemudian dibiarkan menguap di dalam kandang yang tertutup. Desinfeksi dengan cara menyemprotkan desinfektan ke lingkungan dan bagian dalam kandang. Peralatan kandang yang

digunakan antara lain tempat pakan dan minum dicuci dengan menggunakan sabun kemudian membilas dengan air yang telah dicampur desinfektan.

Ekstrak tomat dipersiapkan dengan cara limbah tomat sayur dari Pasar Jimbaran dipilih dan dicuci dengan air sampai bersih. Tomat dipotong kecil-kecil menjadi 8 bagian, kemudian potongan tomat diblender hingga halus. Tomat yang sudah halus diberi air dengan perbandingan 1 kg : 300 ml dan disaring, kemudian tomat direbus dengan suhu 65 - 70°C selama 5 menit sambil diaduk terus menerus. Pemberian ekstrak tomat dilakukan dengan cara manual pada pagi hari sesuai dengan level perlakuan.

Metode pembiakan APEC dilakukan dengan melakukan sterilisasi alat yang akan digunakan menggunakan suhu 170°C selama satu jam, untuk bahan dilakukan sterilisasi basah menggunakan autoklaf pada tekanan 121 atm selama 15 menit. Alat dan bahan yang telah disterilisasi digunakan untuk memperbanyak/ mengembang biakan bakteri APEC. Bakteri yang dipaparkan pada ayam adalah fenotip 2. Bakteri diremajakan dengan medium *nutrient agar* (NA), masa inkubasi bakteri adalah satu hari dengan suhu 38°C menggunakan oven, setelah satu hari bakteri dipanen dengan cara mencampurkan 100 ml larutan *phosphate buffered saline* (PBS) pada setiap cawan. Jumlah bakteri yang dipanen adalah  $10^8$  cfu/ml, selanjutnya dipaparkan pada ayam melalui oral dengan dosis setiap ekor ayam 0,5 ml sebanyak 3 kali pada hari ke 24, 26 dan 28.

Pemeliharaan ayam broiler dimulai dengan tahap *chick in*. Pada tahap ini *day old chicken* (DOC) diambil sampel untuk ditimbang bobot badannya kemudian diberi pakan berupa komersial B11s dan s21 dan air minum yang ditambah dengan

ekstra energi untuk mengganti cairan dan energi yang hilang pada saat pengiriman. Pemberian pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Tahap perlakuan dilakukan sejak ayam umur 15 hari sampai ayam umur 35 hari. Pemberian ekstrak tomat dilakukan dengan cara memberikan secara langsung pada ayam broiler pada pagi hari sesuai dengan level masing-masing perlakuan ayam diberi air minum biasa setelah perlakuan habis.

Pelaksanaan vaksinasi dilakukan pada hari ke 3 untuk pemberian vaksin ND-IB melalui mata, hari ke 11 untuk pemberian vaksin Gumboro melalui air minum, dan pada hari ke-18 untuk pemberian vaksin ND *strain* La Sota melalui air minum. Konsumsi pakan dicatat setiap hari. Pengukuran pemberian air minum dan sisa air minum dilakukan setiap hari dengan tujuan untuk mengetahui konsumsi air minum ayam broiler per hari. Penimbangan bobot badan ayam juga dilakukan pada hari ke-35 untuk mengetahui produktivitas ayam broiler.

Pengambilan data profil darah merah dilakukan pada saat ayam umur 35 hari. Pengambilan data dilakukan dengan mengambil sampel darah ayam melalui vena *brachialis* pada bagian sayap sebanyak 2 - 3 ml dengan *sprit* ukuran 3 cc. Sampel diambil satu secara acak pada setiap unit percobaan. Sampel darah ditampung dalam tabung *vacutainer* yang sudah mengandung anti koagulan *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA). Selanjutnya darah dianalisis di Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang.

### 3.3. Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada profil darah merah meliputi total eritrosit, kadar hemoglobin dan persentase hematokrit. Analisis parameter menggunakan alat PRIMA fully-auto Hematology Analyzer dengan metode *Electrical Impedance* untuk total eritrosit dan persentase hematokrit, sedangkan kadar hemoglobin diukur menggunakan metode *Cyanide Free Hemoglobin Spechtrophotometry* (Widowati, 2018) dan bobot badan akhir diperoleh dengan cara melakukan penimbangan ketika umur ayam 35 hari.

### 3.4. Analisis Data

Model linear dari rancangan acak lengkap (Gomez dan Gomez, 1995) yaitu:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}; i = (1, 2, 3, 4) \text{ dan } j = (1, 2, 3, 4)$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = Profil darah merah ayam broiler ulangan ke-j akibat pengaruh pemberian ekstrak tomat dan diinfeksi bakteri *E. coli* dengan persentase pemberian ke-i ulangan ke-j

$\mu$  = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) profil darah merah ayam broiler

$T_i$  = Pengaruh penambahan ekstrak tomat dan infeksi bakteri *E. coli* persentase pemberian ke-i

Hipotesis statistik yang diuji yaitu :

$H_0 : \alpha = 0$  : tidak ada pengaruh pemberian ekstrak tomat dan infeksi bakteri *E. coli* terhadap profil darah merah ayam broiler

$H_1 : \alpha \neq 0$  : ada pengaruh pemberian ekstrak tomat dan infeksi bakteri *E. coli* terhadap profil darah merah ayam broiler

Kriteria pengambilan keputusan :

1. Jika F hitung lebih kecil dari F tabel, maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak dan
2. Jika F hitung lebih besar sama dengan F tabel, maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima  
maka dilanjut uji beda Duncan