

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian yang berjudul “Jumlah Eritrosit, Hematokrit dan Kadar Hemoglobin Ayam Kampung Persilangan akibat Penggunaan Tepung *Azolla microphylla* difermentasi pada Pakan” dilaksanakan pada bulan Desember 2016 – Februari 2017. di Kandang Unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis sampel darah dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Day Old Chick* (DOC) ayam kampung persilangan unsex (persilangan antara ayam Bangkok dan ayam Lohman 202) yang berasal dari peternakan rakyat desa Danurejo, kecamatan Kedu, Temanggung sebanyak 80 ekor dengan bobot badan rata-rata $38 \text{ g} \pm (CV = 3,33\%)$ Bahan pakan yang digunakan adalah jagung, bungkil kedelai, bekatul, tepung ikan, pollard, CaCO_3 , premix dan tepung *Azolla microphylla* terfermentasi. Ransum finisher (protein 17% dan EM 2800 kkal/kg).

Tepung *Azolla microphylla* diberikan pada ayam kampung persilangan dengan cara difermentasi menggunakan EM4. Kandungan tepung *Azolla microphylla* dapat dilihat pada Tabel 3. Susunan ransum dan kandungan nutrisi bahan pakan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Nutrisi Bahan Pakan

| Bahan Pakan | EM (kkal/kg) | PK (%) | LK (%) | SK (%) | Ca (%) | P (%) |
|-------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| Jagung | 2785,32 ^f | 10,92 ^a | 4,85 ^a | 2,20 ^a | 0,37 ^e | 0,23 ^e |
| Bekatul | 2752,27 ^f | 11,93 ^a | 9,95 ^a | 11,07 ^a | 0,37 ^e | 1,27 ^e |
| Tepung Ikan | 2091,40 ^f | 38,55 ^a | 5,18 ^a | 2,31 ^a | 5,28 ^d | 2,00 ^b |
| Pollard | 2587,10 ^f | 13,46 ^a | 0,70 ^a | 4,48 ^a | 0,39 ^e | 0,60 ^e |
| Bungkil Kedelai | 2985,05 ^f | 50,02 ^a | 3,00 ^a | 1,90 ^a | 0,32 ^e | 0,29 ^e |
| Premix | | | | | 3,30 ^c | 3,50 ^c |
| CaCO ₃ | | | | | 38,00 ^d | |

- a. Hasil Analisis Proksimat Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, 2016.
- b. Hasil Analisis bahan pakan Universitas Muhammadiyah Malang, 2014.
- c. Hasil Analisa Laboratorium Kimia, Universitas Negeri Semarang 2015.
- d. Hasil Analisis Proksimat di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, 2012
- e. Hasil Analisis Proksimat di Laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, 2016
- f. EM dihitung menggunakan rumus Gross Energy (GE) :EM (kkal/kg) = 72% x GE

Peralatan yang digunakan pada saat pemeliharaan ayam kampung persilangan, yaitu kandang kayu dengan ukuran 70 x 120 cm diisi 5 ekor ayam kampung persilangan, lampu 15 watt sebagai penerangan kandang, timbangan digital dengan ketelitian 0,001 gram digunakan untuk menimbang pakan ayam kampung persilangan pada saat pemberian dan sisa pakan, termometer digital digunakan untuk mengukur suhu dalam maupun luar kandang secara bersamaan, gentong plastik digunakan untuk menampung air minum selama pemeliharaan ayam kampung persilangan, cairan desinfektan untuk membersihkan peralatan kandang, seperti tempat air minum dan tempat pakan, ember kecil digunakan untuk menimbang bahan pakan yang akan diberikan pagi maupun sore hari, gelas ukur untuk mengukur pemberian EM4 pada tepung *Azolla microphylla*, plastik bening digunakan untuk membungkus *Azolla microphylla* yang difermentasi. Susunan ransum dan kandungan nutrisi ransum periode finisher pada Tabel 4.

Tabel 4. Susunan Ransum dan Kandungan Nutrisi Ayam Kampung Persilangan Periode Finisher

| Bahan Pakan | Ransum Perlakuan | | | |
|---------------------------------|------------------|---------|---------|---------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 |
| Jagung (%) | 55 | 54,4 | 54,6 | 54,7 |
| Bekatul (%) | 15,3 | 12,5 | 12 | 9,1 |
| Tepung Ikan (%) | 5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Pollard (%) | 11 | 7,7 | 4 | 3 |
| Bungkil Kedelai (%) | 12 | 10,2 | 9,2 | 8 |
| CaCO ₃ | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,7 |
| Premix | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Tepung <i>Azolla</i> fermentasi | 0 | 10 | 15 | 20 |
| Total (%) | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Kandungan Nutrien : | | | | |
| Protein kasar (%) | 17,24 | 17,44 | 17,66 | 17,85 |
| EM (kkal/kg) | 2709,97 | 2730,68 | 2739,39 | 2743,15 |
| Serat kasar (%) | 5,00 | 6,02 | 6,64 | 7,25 |
| Lemak Kasar(%) | 4,94 | 4,69 | 4,70 | 4,48 |
| Ca (%) | 0,90 | 0,96 | 1,02 | 1,08 |
| P (%) | 0,56 | 0,52 | 0,52 | 0,50 |

3.2. Metode

Metode penelitian meliputi menentukan rancangan percobaan, prosedur penelitian, dan analisis data.

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga keseluruhan ada 16 unit percobaan. Setiap unit diisi 5 ekor ayam kampung persilangan. Perlakuan yang diberikan terdiri atas:

T0 : Ransum basal tanpa tepung *A. microphylla* fermentasi

- T1 : Ransum mengandung tepung *A. microphylla* fermentasi 10%
- T2 : Ransum mengandung tepung *A. microphylla* fermentasi 15%
- T3 : Ransum mengandung tepung *A. microphylla* fermentasi 20%

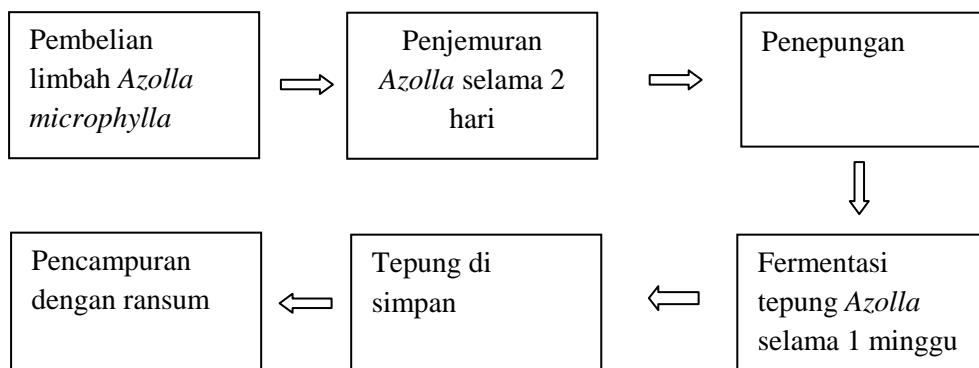
3.2.2. Prosedur penelitian

Tahap persiapan dimulai dengan pembuatan kandang dibagi menjadi 16 unit percobaan dan setiap unit percobaan diisi 5 ekor ayam kampung persilangan. Pembelian *Azolla microphylla* yang berada di daerah Magelang, kemudian dibudidayakan selama penelitian berlangsung, setelah beberapa minggu, kemudian *Azolla microphylla* diambil dan dikeringkan sampai kadar airnya hilang, serta benar-benar kering selama 2 hari. Setelah itu, dilakukan fermentasi *Azolla microphylla* dengan EM4 yang dilakukan 1 minggu. Analisis proksimat bahan pakan dan hasil fermentasi *Azolla microphylla* yang dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi Ternak Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang, sedangkan analisis Kalsium dan Fosfor dilakukan di Laboratorium Nutrisi Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang (Tabel. 2). Persiapan selama 3 minggu di kandang Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.

Prosedur pembuatan tepung *Azolla microphylla* fermentasi dimulai dengan mencari sebanyak 3 kg bahan segar, kemudian 2 kg dijemur di bawah sinar matahari selama 2 hari dan 1 kg untuk dibudidayakan sendiri. Setelah kering, *Azolla microphylla* kemudian dihaluskan dengan cara diblender sampai mendapatkan tepung yang kering. Tepung *Azolla microphylla* difermentasi

menggunakan EM4, kemudian dibungkus rapat dengan plastik dan disimpan selama 1 minggu pada suhu 29⁰C. Untuk proses fermentasi berikutnya mengambil hasil dari *Azolla microphylla* yang dibudidayakan.

Cara untuk membuat cairan fermentasi yaitu dengan mencampurkan EM4 ke dalam air dengan perbandingan 1:100. Setelah itu, tepung *Azolla microphylla* fermentasi dicampurkan secara homogen dengan pakan lain sehingga membentuk ransum yang sudah disusun sesuai kandungan masing-masing perlakuan, selanjutnya ditimbang dan dibagi kedalam wadah untuk dicampurkan pada pakan perlakuan masing-masing. Pembuatan tepung *Azolla microphylla* difermentasi dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Pembuatan Tepung *Azolla microphylla* difermentasi

Sumber : Saenab, A dan Retnani, 2011.

Tahap pemeliharaan dilaksanakan selama 10 minggu, pemberian pakan akan dilakukan setiap 2 kali sehari, yaitu pada pagi hari pukul 07.00 WIB sebanyak 50% dan pada sore hari pukul 16.00 WIB sebanyak 50%. Penimbangan sisa pakan dilakukan setiap hari pada waktu pagi hari. Air minum selama pemeliharaan diberikan secara *ad libitum*.

Program vaksin dilakukan dengan pemberian vaksin ND melalui tetes mata saat ayam umur 2 hari, kemudian pemberian vaksin Gumboro A pada ayam umur 14 hari dan Gumboro B saat ayam umur 21 hari. Vaksin Gumboro A dan B diberikan lewat tetes mulut. Pemberian vaksin bertujuan untuk menjaga kekebalan tubuh ayam sehingga tidak mudah terserang penyakit. Tahap pengambilan data dilakukan pada minggu ke - 8. Tiap unit diambil 2 sampel. Sampel darah kemudian dibawa ke Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Tahap pengambilan data dilakukan pada minggu ke - 8. Ayam dipuasakan terlebih dahulu selama ± 6 jam sebelum sampel darah diambil. Sampel darah diambil sebanyak ± 1 ml untuk tabung EDTA. Sampel darah dimasukkan ke dua tabung yang berbeda, yaitu *tabung reaksi* yang berisi antikoagulan *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) (Mushawwir dan Latipudin, 2011).

Parameter yang diamati untuk mengetahui pengaruh penggunaan tepung *Azolla microphylla* dalam ransum terhadap status darah ayam kampung persilangan ayam Bangkok dan Lohman 202.

1. Menghitung jumlah eritrosit

Eritrosit diperoleh dari pengambilan darah menggunakan spuit yang disuntikan ke *vena brachialis*, kemudian diambil perlahan sebanyak 1 ml, lalu dimasukan kedalam tabung yang berisi cairan EDTA, dan di kocok dengan membentuk angka 8, ambil sampel darah menggunakan pipet, kemudian meneteskan pada bilik hitung Neubauer, dan mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x.

2. Menghitung jumlah hematokrit

Nilai hematokrit ditentukan dengan cara metode mikrohematokrit. Tabung mikropiler hematokrit diisi dengan darah ayam kampung persilangan sampai setengah bagian tabung dan ditutup. Tabung yang ditempatkan dalam sentrifuse hematokrit, kemudian diputar dengan kecepatan 500-1.000 rpm selama 3-4 menit. Alat lainnya seperti *General Purpose Centrifuge*, *Speciality Centrifuge*. Nilai hematokrit dihitung dengan grafik alat baca mikrohematokrit.

3. Menghitung kadar hemoglobin

Kadar hemoglobin ditentukan dengan cara metode spektrofotometer yang diperoleh dari sampel darah 0,02 ml yang dimasukkan dalam tabung uji yang mengandung larutan *drabkins* 5 ml, dikocok hingga homogen, lalu diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer.

3.2.3. Analisis data

Setelah semua data terkumpul, data diolah secara statistik analisis ragam *analyze of variance* (anova) dengan uji f untuk mengetahui pengaruh perlakuan, jika pengaruh perlakuan nyata dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Steel and Torrie, 1993).

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

Dimana :

$i = (0, 1, 2, 3)$ dan $j = (1, 2, 3, 4)$

Y_{ij} = nilai hasil pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum (rata-rata populasi) dari perlakuan

- τ_i = pengaruh aditif dari penambahan tepung *A. microphylla* ke-i
 ϵ_{ij} = pengaruh galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
 i = perlakuan (0, 1, 2 dan 3)
 j = ulangan (1, 2, 3 dan 4)

Hipotesis statistik:

$H_0 : \tau_i = 0 \rightarrow$ tidak terdapat pengaruh perlakuan penggunaan *Azolla microphylla* fermentasi pada pakan terhadap performa ayam kampung persilangan

$H_1 : \tau_i \neq 0 \rightarrow$ paling tidak ada satu perlakuan ke-i yang memberikan pengaruh berbeda terhadap hasil pengamatan Y_{ij}

Kriteria pengujian 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