

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Profil Leukosit Ayam Broiler yang Diberi Pakan Onggok yang Diferementasi dengan *Chrysonilia crassa* dan *Bacillus subtilis*” dilaksanakan pada April – Juni 2018. Pemeliharaan dilakukan di kandang C Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang. Analisis profil leukosit darah dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang.

#### 3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *day old chick* (DOC) ayam broiler (*unsex*) *strain* Lohmann berjumlah 160 ekor ayam dengan bobot rata-rata  $36,02 \pm 1,07$  g dan pakan onggok yang difermentasi dengan *Chrysonilia crassa* dan *Bacillus subtilis*. Ayam broiler dikandangan dalam 16 petak ukuran  $1 \times 1$  meter dengan alas sekam padi. Setiap petak dilengkapi tempat pakan, tempat minum dan instalansi listrik dengan lampu penghangat. Peralatan yang digunakan yaitu termohigrometer yang dipasang di dalam kandang untuk mengetahui kondisi suhu dan kelembaban kandang. Timbangan digital digunakan untuk menimbang komposisi ransum dan bobot ayam setiap minggunya. Perlengkapan untuk mengetahui profil hematologis ayam broiler meliputi *sputit* 3 ml, *vacutainer* EDTA, *cooling box* dan *ice pack*.

Kandungan nutrisi onggok sebelum dan setelah fermentasi *C. crassa* dan *B. subtilis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Onggok dan Onggok Fermentasi *Chrysonilia crassa* dan *Bacillus subtilis*

Kandungan Nutrisi	Onggok	
	Sebelum Fermentasi*	Setelah Fermentasi*
Protein Kasar (%)	2,11	4,93
Lemak Kasar (%)	0,14	1,19
Serat Kasar (%)	14,11	12,00
Abu (%)	3,28	3,22
Air (%)	13,10	18,13

Keterangan :

\*) Hasil Analisis Proksimat di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2018)

### 3.2. Metode

Metode penelitian terdiri dari 3 tahap yaitu rancangan percobaan, prosedur penelitian dan analisis data.

#### 3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan penelitian adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga terdapat 16 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor DOC ayam broiler (*unsex*). Perlakuan yang diberikan yaitu :

- T0 : Ransum kontrol tanpa onggok fermentasi
- T1 : Ransum mengandung onggok fermentasi 10%
- T2 : Ransum mengandung onggok fermentasi 15%
- T3 : Ransum mengandung onggok fermentasi 20%

Formulasi dan kandungan nutrisi ransum perlakuan dapat dilihat pada Tabel

2. Parameter yang diambil yaitu profil leukosit yang meliputi total leukosit, persentase heterofil, persentase eosinofil, persentase limfosit dan rasio heterofil limfosit (H/L).

Tabel 2. Formulasi Ransum dan Kandungan Nutrien Ransum Ayam Broiler Umur 22-38 hari

Bahan pakan	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
	-----%-----			
Minyak kelapa	1,0	2,0	2,7	3,0
PMM	10,7	10,9	10,9	11,0
Jagung Kuning	64,0	54,0	49,0	44,0
Bungkil Kedelai	20,0	20,1	20,1	20,0
Beras	3,0	1,7	1,0	0,7
DL-methionine	0,3	0,3	0,3	0,3
L-Lysine	0,2	0,2	0,2	0,2
Dicalcium phosphate	0,3	0,3	0,3	0,3
Premix	0,5	0,5	0,5	0,5
Onggok fermentasi	-	10,0	15,0	20,0
Total	100	100	100	100
<b>Kandungan Nutrisi Ransum (Bahan Kering)</b>				
EM (kkal/kg)*	3038	3031	3040	3027
Protein Kasar (%)*	19,99	20,02	19,96	19,94
Serat Kasar (%)*	5,12	6,60	7,33	8,07
Lemak Kasar (%)*	5,16	4,68	4,37	4,20
Abu (%)**	3,49	4,74	3,49	3,75
Air (%)**	12,27	14,19	14,67	14,54

Keterangan :

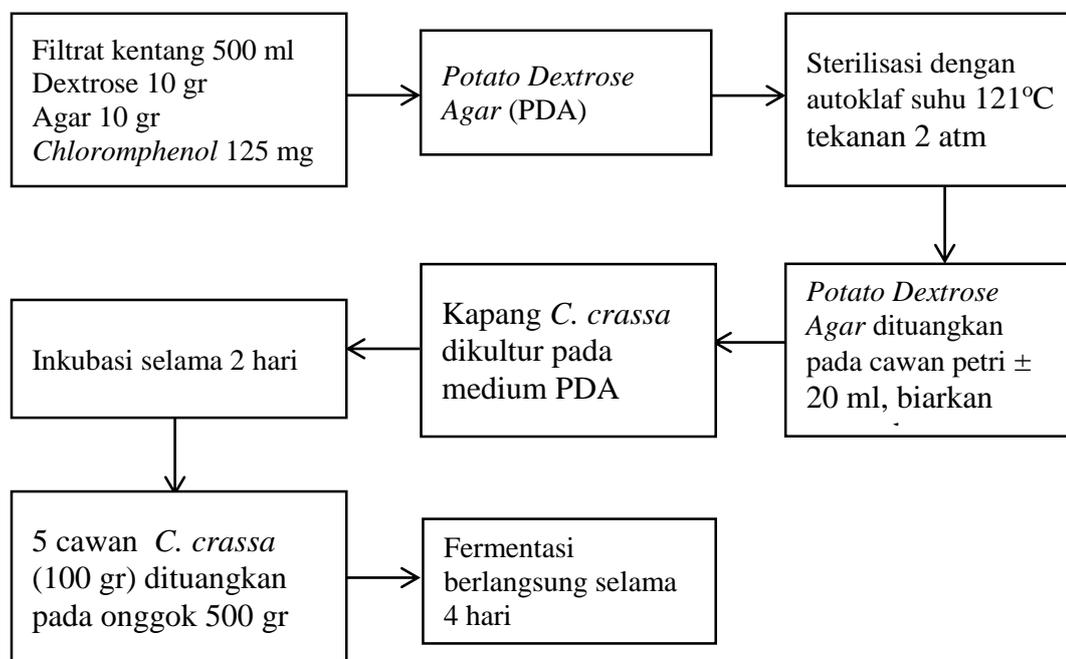
(\*) Hasil Formulasi Ransum Metode Trial and Error (2018)

(\*\*) Hasil Analisis Proksimat Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro (2018)

### 3.2.2. Prosedur penelitian

**3.2.2.1. Tahap persiapan.** Tahap persiapan meliputi proses pembuatan starter, penyiapan pakan onggok fermentasi *C. crassa* dan *B. subtilis* dan persiapan

kandang. Pembuatan starter onggok fermentasi *C. crassa* dan *B. subtilis* dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Pembuatan Starter Onggok Fermentasi *Chrysonilia crassa* dan *Bacillus subtilis*

Onggok fermentasi diperoleh dengan melakukan fermentasi tahap pertama yaitu 1 kg tepung onggok dimasukkan ke dalam kantong plastik 20 g dan disterilisasi menggunakan *steamer* pada suhu 100°C selama 1 jam. Onggok setelah disterilisasi kemudian dibiarkan dingin dan ditambahkan 41 g urea yang telah dilarutkan dalam 1 liter air kemudian ditambahkan *starter* isolat *C. crassa* sebanyak 55 g (berisi  $3,6 \times 10^8$  cfu/g) dan digojok hingga homogen. Onggok dimasukkan ke dalam ember dan ditutup, penutup sebelumnya telah dimodifikasi dengan diberi lubang sehingga oksigen dapat masuk ke dalam ember (*aerob*) dan kontaminasi dapat diminimalkan. Fermentasi tahap pertama dibutuhkan waktu inkubasi selama

4 hari dalam suhu ruang, setiap 2 hari harus dilakukan pengojokan. Fermentasi tahap kedua dilakukan dengan menambahkan 1 gram *Bacillus subtilis* (minimal berisi  $10^{10}$  spora/g) pada onggok yang telah difermentasi dengan *C. crassa*. Fermentasi tahap kedua dibutuhkan waktu inkubasi selama 2 hari dalam suhu ruang. Onggok hasil fermentasi dijemur dibawah sinar matahari selama 2 hari.

Tahap penyusunan ransum yaitu dengan pemilihan bahan pakan yang meliputi minyak kelapa, PMM, jagung kuning, bungkil kedelai, beras, DL-methionin, L-Lysin, Dicalcium phosphate, premix dan onggok fermentasi. Penyusunan ransum dilakukan dengan menghitung kebutuhan nutrisi ayam broiler, menimbang pakan sesuai dengan komposisi dan mencampur bahan pakan hingga homogen.

Persiapan kandang dimulai dengan proses pembersihan kandang dan peralatan kandang menggunakan detergen. Sekeliling kandang dipasang dengan tirai, hal ini bertujuan agar udara dari lingkungan luar tidak langsung masuk ke dalam kandang dan mengenai ayam. Bagian dalam kandang dilakukan pengkapuran agar tidak berkembang mikroorganisme patogen. Instalasi listrik dipasang pada pen yang dibutuhkan, sekam untuk *litter*, peralatan pakan dan minum dimasukkan ke dalam kandang untuk selanjutnya dilakukan fumigasi. Fumigasi menggunakan Kalium permanganat dan formalin, sebelum fumigasi kandang ditutup rapat menggunakan tirai yang telah dipasang. Kandang dibiarkan tertutup selama 2 hari, selanjutnya dibuka dan kandang siap digunakan.

**3.2.2.2. Tahap pemeliharaan.** Tahap pemeliharaan dimulai dengan *chick in*, kegiatan ini dilakukan dengan cara DOC ditimbang bobot badannya dan

dimasukkan ke dalam kandang. DOC diberi pakan *starter* dan minuman isotonic (*pocary sweat*) dengan tujuan untuk menggantikan cairan dan energi yang hilang pada proses pengiriman. Pemeliharaan pada umur 1 – 21 hari digunakan pakan *starter* komersial. Tahap perlakuan dilakukan pada umur 22 hari – 38 hari. Pemberian pakan dan minum dilakukan secara *ad libitum*. Penimbangan pakan dilakukan setiap hari sebelum pemberian pakan, sedangkan penimbangan sisa pakan seminggu sekali. Penimbangan bobot badan dilakukan pada hari ke-1, 7, 14, 21, 28, 35 dan 38. Pelaksanaan vaksinasi dilakukan pada umur 15 hari untuk pemberian vaksin ND-IB melalui air minum. Sebelumnya ayam telah divaksinasi dengan vaksin ND-AI pada hari ke-0 dengan menggunakan metode *spraying*.

**3.2.2.3. Tahap pengambilan data.** Koleksi darah dilakukan pada ayam broiler umur 38 hari. Darah diambil melalui vena *branchialis* pada bagian sayap sebanyak minimal 1 ml dengan *sprit (disposable syringe)* ukuran 5 ml. Sampel diambil secara acak pada setiap unit percobaan. Sampel darah yang diambil kemudian ditampung dalam *tube vacutainer Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA)* dan digojog. *Tube* disimpan pada *cooling box* untuk menghindari kerusakan darah.

Parameter yang diukur yaitu profil leukosit meliputi jumlah leukosit, heterofil, eosinofil dan limfosit. Analisis sampel darah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang. Pengukuran jumlah total leukosit dan diferensial leukosit menggunakan metode *electrical impedance* dengan alat *hematology analyzer*. Sampel darah dilakukan pencampuran dengan cairan konduktif, selanjutnya akan dihisap oleh *aperture*. Bilik pengukuran yang berada didekat *aperture* memiliki 2 elektode yaitu internal elektode dan eksternal elektode,

keduanya dilalui arus listrik yang konstan. Sel-sel darah yang melewati *aperture* terjadi reaksi kenaikan hambatan dan perubahan tegangan yang sangat kecil pada elektrode dan diterima *detection circuit*. Sinyal tegangan akan diperkuat pada rangkaian amplifier kemudian ditransfer menuju rangkaian elektronik. Sinyal diteruskan ke A/D converter selanjutnya data disimpan pada memori dalam bentuk histogram dan dikoreksi oleh CPU untuk mengetahui jumlah leukosit dan fraksi leukosit yang meliputi heterofil, eosinofil dan limfosit.

### 3.3. Analisis Data

Data diolah secara statistik dengan analisis ragam pada taraf 5% dan apabila dihasilkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji Ganda Duncan. Model linier dan hipotesis statistik yang diterapkan adalah sebagai berikut.

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

Keterangan :

$Y_{ij}$  : Hasil pengamatan ke-i yang memperoleh perlakuan ke-j

$\mu$  : Nilai tengah umum (rata-rata populasi) hasil pengamatan

$\tau_i$  : Pengaruh dari penggunaan onggok yang difermentasi dengan *C. crassa* dan *B. subtilis*

$\varepsilon_{ij}$  : Pengaruh galat percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i ulangan ke-j

Kriteria Pengujian :

H0 :  $\mu_1 = \mu_2, \mu_3, \mu_4$  tidak ada pengaruh perlakuan pemberian onggok difermentasi dengan *Chrysonilia crassa* dan *Bacillus subtilis* terhadap parameter profil leukosit.

H1 :  $\mu_1 \neq \mu_2, \mu_3, \mu_4$  minimal ada satu pengaruh perlakuan pemberian onggok difermentasi dengan *Chrysonilia crassa* dan *Bacillus subtilis* terhadap parameter profil leukosit.

Pengambilan keputusan yang diterapkan yaitu, jika F hitung < F tabel 5%, maka H0 diterima dan H1 ditolak, sedangkan jika F hitung  $\geq$  F tabel, maka H0 ditolak dan H1 diterima (Steel dan Torrie, 1991).