

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian mengenai pengaruh pemberian fermentasi biji dan daun Pepaya dengan *C. crassa* terhadap profil darah merah ayam Kampung Super dilaksanakan pada bulan Juni – Agustus 2019. Penelitian dilaksanakan di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah 300 ekor *day old chick* (DOC) ayam Kampung Super (*unsex*) dengan bobot awal rata-rata $36,551 \pm 0,974$ g. Bahan yang digunakan meliputi starter *C. crassa*, air isi ulang, destan untuk desinfeksi, bahan penyusun ransum.

Perlengkapan kandang yang digunakan meliputi 30 pen dengan ukuran 1m x 1m, tempat pakan, tempat minum, lampu pemanas 100 watt 1 buah dan 40 watt 1 buah untuk setiap pen, timbangan digital, termohigrometer untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam kandang, sapu untuk mengerok eksreta dan alat tulis. Perlengkapan yang digunakan dalam pengambilan darah meliputi *sputit* 3 ml, *vacutainer* Etilena diamina tetra asetat (EDTA), *cool box ice pack*.

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan sehingga terdapat 30 petak kandang yang diisi dengan 10 ekor DOC ayam Kampung Super *unsexed*. Perlakuan yang diberikan sebagai berikut :

- T0 : Ransum Kontrol tidak mengandung fermentasi biji dan daun Pepaya.
- T1 : Ransum mengandung 1% fermentasi biji dan daun Pepaya.
- T2 : Ransum mengandung 2,5% fermentasi biji dan daun Pepaya.
- T3 : Ransum mengandung 5% fermentasi biji dan daun Pepaya.
- T4 : Ransum mengandung 7,5% fermentasi biji dan daun Pepaya.

3.2.2. Pelaksanaan penelitian

Penelitian dilakukan melalui 3 tahap, meliputi persiapan, pelaksanaan penelitian dan pengamatan parameter.

Tahap persiapan meliputi penyediaan bahan pakan yang digunakan untuk menyusun ransum, peremajaan kapang *C. crassa* dan persiapan kandang. Peremajaan dan perbanyakan isolat *C. crassa* dilakukan pada medium *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi selama 2 hari. Hasil peremajaan diinokulasikan pada nasi aking dengan kondisi steril, hasil inokulasi digunakan sebagai *starter*. Lima cawan hasil peremajaan dicampur dengan 1.000 g nasi aking

yang sudah disterilisasi dan 1 l air mineral, campuran tersebut diinkubasi selama 4 hari dan dikeringkan hingga akhirnya starter dapat dipanen.

Daun Pepaya yang digunakan berasal dari lingkungan sekitar Fakultas Peternakan dan Pertanian serta pasar tradisional Mranggen. Daun Pepaya yang dipilih adalah yang memiliki warna hijau tua. Biji Pepaya diperoleh dari penjual rujak sekitar lingkungan Kampus Universitas Diponegoro dan penjual buah di perumahan Pucang Elok, Pucang Gading. Biji Pepaya yang dipilih adalah biji Pepaya yang berwarna hitam dan tidak berjamur. Daun Pepaya dicacah dan dibentangkan pada ruangan yang tidak terkena cahaya matahari langsung hingga kering dan hancur apabila diremas. Biji Pepaya dicuci dan diremas hingga selaput pembungkus biji pecah, jemur biji Pepaya di bawah sinar matahari hingga kering dan keras apabila digenggam. Biji dan daun Pepaya yang sudah kering lalu digiling hingga menjadi tepung.

Pembuatan fermentasi tepung biji dan daun Pepaya melalui tahap-tahap yaitu penjemuran biji di bawah sinar matahari hingga kering sempurna, daun Pepaya dikering udarkan hingga kering sempurna. Biji yang sudah kering dihaluskan dengan *blender* dan daun Pepaya dihaluskan menggunakan *grinder* hingga menjadi tepung. 500 g tepung daun Pepaya, 450 g tepung biji, 50 g starter dan 1 l air mineral dicampur secara merata. Hasil campuran diinkubasi secara *aerob* selama 3 hari dan setelahnya dijemur di bawah sinar matahari selama ± 4 jam.

Penyusunan ransum dilakukan dengan perhitungan kebutuhan ayam Kampung Super pada fase *starter* dan fase *finisher*. Pembuatan ransum dilakukan dengan penimbangan masing-masing bahan pakan sesuai dengan komposisi pada

ransum. Bahan pakan dicampur hingga homogen. Formulasi ransum *starter* pada Tabel 1 dan formulasi ransum *finisher* pada Tabel 2.

Tabel 1. Ransum Fase *Starter* dan Kandungan Nutrisinya

Bahan Pakan	Presentase Kandungan Nutrisi Ransum				
	T0	T1	T2	T3	T4
	------(%)-----				
MBM	4,50	4,50	4,15	3,55	2,25
Jagung Kuning	55,00	54,65	54,20	53,45	53,00
<i>Soybean Oil</i>	1,50	1,45	1,40	1,25	1,00
Bungkil Kedelai	35,75	35,15	34,50	33,50	33,00
DL-methionine, 990 g	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L-Lysine, 780 g	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Limestone Dicalcium phosphate	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
NaCl	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
NaCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Fermentasi Daun dan Biji Pepaya	0,00	1,00	2,50	5,00	7,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrien					
Energi Metabolis (kkal/kg)*	3130,84	3347,42	3230,17	3263,63	3337,04
Protein Kasar (%)	21,19	21,36	21,65	22,55	22,68
Lemak Kasar (%)	4,27	4,27	4,38	4,79	5,38
Serat Kasar (%)	8,78	7,76	11,52	10,66	10,24
Abu (%)	11,25	6,17	5,85	6,28	5,37
BETN (%)**	54,51	60,44	56,60	55,72	56,33

Keterangan : *Nilai Energi Metabolis dihitung dengan rumus Balton,
 $EM = 40,81 (0,87(PK + 2,25 LK + BETN) + 2,5$ (Wahyuni *et al.*,
 2008)

**Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen

Tabel 2. Ransum Fase *Finisher* dan Kandungan nutrisinya

Bahan Pakan	Presentase Kandungan Nutrisi Ransum				
	T0	T1	T2	T3	T4
	------(%)-----				
MBM	2,65	2,50	2,35	1,65	1,4
Jagung Kuning	60,00	59,75	59,25	58,60	58,00
<i>Soybean Oil</i>	2,10	2,00	1,95	1,80	1,57
Bungkil Kedelai	32,00	31,50	30,70	29,70	28,28
DL-methionine, 990 g	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L-Lysine, 780 g	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Limestone	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Dicalcium phosphate	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Premix	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
NaCl	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Fermentasi Daun dan Biji Pepaya	0,00	1,00	2,50	5,00	7,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrien					
Energi Metabolis (kkal/kg)*	3280,05	3348,66	3308,81	3281,47	3263,63
Protein Kasar (%)	21,15	21,11	18,27	20,33	19,12
Lemak Kasar (%)	4,28	4,77	4,28	5,16	4,67
Serat Kasar (%)	8,46	9,86	9,85	10,32	10,42
Abu (%)	7,38	4,66	5,18	6,58	6,37
BETN (%)**	58,73	59,6	62,42	57,61	59,42

Keterangan : *Nilai Energi Metabolis dihitung dengan rumus Balton,
 $EM = 40,81 (0,87(PK + 2,25 LK + BETN) + 2,5$ (Wahyuni *et al.*,
2008)

**Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen

Kandang yang digunakan adalah kandang komunal 1 m x 1 m sebanyak 30 petak dan setiap petak berisi 10 ekor ayam. Pemeliharaan ayam dilakukan selama 8 minggu, pemberian pakan secara *ad-libitum*, ransum *starter* perlakuan diberikan pada umur ke 0 dan ransum *finisher* diberikan pada umur 29 hari sampai dengan akhir penelitian. Pemberian pakan dan minum dilakukan secara *ad libitum*.

3.2.3. Parameter yang diamati

Sampel darah diambil pada hari ke 56, darah ayam Kampung Super diambil melalui *vena brachialis*. Pengambilan ayam dari tiap ulangan dilakukan secara acak dan darah yang diambil sebanyak ± 2 ml menggunakan *sprit* 3 ml, darah yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam *vacutainer* yang berisi EDTA sebagai antikoagulan kemudian digojok dan segera dimasukan dalam *cooling box* yang telah diisi *ice pack* untuk menghindari kerusakan sampel darah.

Sampel darah dianalisis di Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang untuk mengetahui Parameter : total eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH dan MCHC. Analisis sampel darah dilakukan dengan alat *hematology analyzer* dan menggunakan metode *electrical impedance*. Adapun prosedur *electrical impedance* sebagai berikut : sampel darah dicampur dengan cairan konduktif yang selanjutnya akan dihisap oleh *aperture*. *Internal electrode* serta *external electrode* di dekat *aperture*, kedua *electrode* tersebut kemudian dilalui oleh listrik konstan. Sel-sel darah yang melewati *aperture* akan mengalami reaksi kenaikan hambatan sehingga terjadi sedikit perubahan tegangan pada *electrode* yang kemudian ditangkap oleh *detection circuit*. Sinyal perubahan tegangan akan diperkuat oleh rangkaian *amplifier* yang kemudian ditransfer ke rangkaian elektronik. Sinyal akan dilanjutkan ke *A/D converter* selanjutnya hasil yang diperoleh disimpan pada memori dalam bentuk histogram dan akan dikoreksi oleh CPU untuk mengetahui total eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit, MCV dan MCH.

Parameter yang diukur adalah profil eritrosit, nilai hemoglobin, persentase hematokrit, nilai MCV, MCH dan MCHC.

3.2.4. Analisis Data

Hasil yang diperoleh diolah secara statistik dengan taraf signifikansi 5% dengan model matematis yang diterapkan adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

Y_{ij} : Hasil pengamatan pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

μ : Nilai tengah umum (rata-rata populasi) hasil pengamatan

τ_i : Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : pengaruh galat percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i ulangan ke-j

Hipotesis yang diuji adalah sebagai berikut :

H_0 : $\tau = 0$, tidak ada pengaruh perlakuan pemberian biji dan daun Pepaya yang difermentasi dengan *C. crassa* terhadap parameter yang diukur.

H_1 : $\tau \neq 0$, terdapat pengaruh perlakuan pemberian biji dan daun Pepaya yang difermentasi dengan *C.*

crassa terhadap parameter yang diukur.

Adapun kriteria pengujian hipotesis yaitu:

1. Apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak
2. Apabila $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima maka dilanjutkan dengan uji beda Duncan