

**KETAHANAN TUBUH DAN PERTUMBUHAN AYAM BROILER YANG
DITAMBAH ENKAPSULASI EKSTRAK BUAH PARIJOTO DAN
Lactobacillus plantarum PADA RANSUM**

SKRIPSI

Oleh

GABRIEL KEN ERLANGGA LIMAR



**PROGRAM STUDI S1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
S E M A R A N G
2 0 2 4**

KETAHANAN TUBUH DAN PERTUMBUHAN AYAM BROILER YANG
DITAMBAH ENKAPSULASI EKSTRAK BUAH PARIJOTO DAN
Lactobacillus plantarum PADA RANSUM

Oleh

GABRIEL KEN ERLANGGA LIMAR
NIM: 23010120130106

Salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Peternakan pada Program Studi S1 Peternakan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
S E M A R A N G
2 0 2 4

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Gabriel Ken Erlangga Limar
NIM : 23010120130106
Program Studi : S1 Peternakan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Ketahanan Tubuh dan Pertumbuhan Ayam Broiler yang Ditambah Enkapsulasi Ekstrak Buah Parijoto dan *Lactobacillus plantarum* pada Ransum** dan penelitian yang terkait merupakan karya dari penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan dari Pembimbing yaitu: **Prof. Ir. Vitus Dwi Yunianto Budi Ismadi, M.S., M.Sc., Ph.D., IPU.** dan **Lilik Krismiyanto, S.Pt., M.Si.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah diakuinya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Agustus 2024
Penulis

Gabriel Ken Erlangga Limar

Mengetahui:

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Vitus Dwi Y. B. I., M.S., M.Sc., Ph.D., IPU. Lilik Krismiyanto S.Pt., M.Si.

Judul Skripsi : KETAHANAN TUBUH DAN
PERTUMBUHAN AYAM BROILER
YANG DITAMBAH ENKAPSULASI
EKSTRAK BUAH PARIJOTO DAN
Lactobacillus plantarum PADA RANSUM

Nama Mahasiswa : GABRIEL KEN ERLANGGA LIMAR

Nomor Induk Mahasiswa : 23010120130106

Program Studi/Departemen : S1 PETERNAKAN/ PETERNAKAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Vitus Dwi Y. B. I. M.S., M.Sc., Ph.D., IPU. Lilik Krismiyo, S.Pt., M.Si.

Ketua Program Studi

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.

Dr. Istna Mangisah, S.Pt., M.P.

Dekan

Ketua Departemen

Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM.

RINGKASAN

GABRIEL KEN ERLANGGA LIMAR. 23010120130106. 2024. Ketahanan tubuh dan Pertumbuhan Ayam Broiler yang Ditambah Enkapsulasi Ekstrak Buah Parijoto dan *Lactobacillus plantarum* pada Ransum. (Pembimbing: **VITUS DWI YUNianto BUDI ISMADI** dan **LILIK KRISMIYANTO**)

Penelitian bertujuan untuk mengkaji penambahan enkapsulasi ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) pada ransum terhadap ketahanan tubuh dan pertumbuhan ayam broiler. Penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2023 di Kandang Digesti, Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Ternak percobaan yang digunakan yaitu *day old chicks* strain Ross 308 *unsexed* dengan bobot badan sebesar $43,95 \pm 0,97$ g/ekor. Ransum perlakuan diberikan pada umur 8 hari dengan perbandingan 75% : 25% sebanyak 200 ekor dengan bobot badan rata-rata sebesar $199,72 \pm 6,3$ g/ekor, umur 9 hari diberi ransum perlakuan dengan perbandingan 50% : 50%, umur 10 hari 25% : 75% dan umur 11-35 hari 100% ransum perlakuan. Ransum penelitian disusun berdasarkan kadar energi metabolis sebesar 3.064,65 kkal/kg dan protein kasar sebesar 21,61% untuk fase *starter*, sedangkan kadar energi metabolis sebesar 3.075,79 kkal/kg dan protein kasar sebesar 19,67% untuk fase *finisher*. Enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* (EEBPLp) sebagai aditif alami. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan (masing-masing unit diisi 10 ekor). Perlakuan yang diterapkan terdiri dari T0 = ransum basal (RB) tanpa EEBPLp, T1 = RB + EEBPLp 0,2%, T2 = RB + EEBPLp 0,4%, T3 = RB + EEBPLp 0,6% dan T4 = RB + EEBPLp 0,8%. Parameter yang diukur meliputi rasio heterofil limfosit, bobot relatif organ limfoid dan pertambahan bobot badan ayam broiler. Data diolah menggunakan analisis ragam pada taraf signifikansi 5%, apabila berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan EEBPLp pada ransum berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap bobot relatif bursa fabricius, timus, rasio heterofil limfosit dan pertambahan bobot badan harian, sedangkan tidak berpengaruh ($p > 0,05$) terhadap bobot relatif limpa. Bobot relatif bursa fabricius dan limpa pada perlakuan T1, T2, T3 dan T4 nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan T0. Rasio heterofil limfosit pada perlakuan T1, T2, T3 dan T4 nyata ($p < 0,05$) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan T0. Pertambahan bobot badan harian pada perlakuan T4 nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan T0.

Simpulan penelitian adalah penambahan level enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* dengan level 0,8% pada ransum mampu meningkatkan bobot relatif timus, bursa fabricius dan pertambahan bobot badan harian serta menurunkan rasio heterofil limfosit, meskipun bobot relatif limpa sama.

KATA PENGANTAR

Penambahan enkapsulasi ekstrak buah parijoto digunakan untuk meningkatkan ketahanan tubuh dan performa ayam broiler. Ekstrak buah parijoto mengandung flavonoid sebagai antibakteri serta probiotik *Lactobacillus plantarum* untuk meningkatkan kesehatan usus halus, sehingga penyerapan nutrisi optimal dan meningkatkan penambahan bobot badan harian ayam broiler.

Puji segala syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan Rahmat serta Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi yang berjudul “Ketahanan Tubuh dan Pertumbuhan Ayam Broiler yang Ditambah Enkapsulasi Ekstrak Buah Parijoto dan *Lactobacillus plantarum* pada Ransum”. Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Ir. Vitus Dwi Y.B.I. M.S., M.Sc., Ph.D., IPU. selaku dosen pembimbing utama dan Lilik Krismiyanto, S. Pt., M.Si. selaku dosen pembimbing anggota atas bimbingan dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi serta selalu sabar dan tabah dalam memberi arahan kepada penulis.
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberi fasilitas pendukung selama masa perkuliahan penulis.
3. Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt, M.P., IPM selaku Ketua Departemen Peternakan dan Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM selaku Ketua Program Studi S1 Peternakan yang telah memberikan kemudahan serta pelaksanaan rangkaian kegiatan selama perkuliahan.

4. Dr. Ir. Mulyono, M.Si. selaku Koordinator Laboratorium yang telah memberi izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian dan menggunakan fasilitas-fasilitas Laboratorium yang disediakan.
5. Prof. Ir. Dr. Edy Kurnianto, M.S., M.Agr., Ph.D. selaku dosen wali atas segala dukungan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan di Program Studi S1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.
6. Dr. Ir. Mulyono, M.Si. dan Prof. Dr. Dra. Turrini Yudiarti, M.Sc. selaku dosen penguji serta Dr. Istna Mangisah, S.Pt., M.P. selaku dosen panitia sehingga penulis dapat melaksanakan sidang skripsi.
7. Kedua orang tua penulis, Bapak Panca Hari Adi dan Ibu Frida Sujono yang selalu memberikan doa agar penulis diberkati selalu dalam menjalankan studinya, serta memberi dukungan penuh serta selalu menemani penulis dikala dalam keadaan duka maupun suka cita.
8. Tim penelitian (Derisa Nofila Halil, Adelita Rahmah Kusumaningrum, Reyhan Fatih Kriswinarso, Hanif Umar Said, Ibnu Achmad Fauzan, Warih Putri Lestari) yang telah membantu penulis.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan digunakan untuk mengembangkan pada peternakan di masa mendatang.

Semarang, Agustus 2024

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR ILUSTRASI	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Ayam Broiler.....	4
2.2. Standar Kebutuhan Nutrien Ayam Broiler.....	6
2.3. Buah Parijoto sebagai Fitobiotik.....	9
2.4. Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i> sebagai Probiotik.....	11
2.5. Enkapsulasi	12
2.6. Organ Limfoid.....	13
2.7. Rasio Heterofil/Limfosit	15
BAB III. MATERI METODE	18
3.1. Materi	18
3.2. Metode.....	19
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Pengaruh Perlakuan terhadap Bobot Relatif Bursa Fabricius.....	26
4.2. Pengaruh Perlakuan terhadap Bobot Relatif Timus.....	28
4.3. Pengaruh Perlakuan terhadap Bobot Relatif Limpa.....	30
4.4. Pengaruh Perlakuan terhadap Rasio Heterofil Limfosit	32
4.5. Pengaruh Perlakuan terhadap Pertambahan Bobot Badan Harian.....	34
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1. Simpulan.....	38

5.2. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	50
RIWAYAT HIDUP	81

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Performa Ayam Broiler	4
2. Standar Kandungan Nutrien Pakan Ayam Broiler.....	7
3. Komposisi dan Kandungan Nutrien Ransum Penelitian	19
4. Rata-rata Bobot Relatif Bursa Fabricius	26
5. Rata-rata Bobot Relatif Timus	28
6. Rata-rata Bobot Relatif Limpa	31
7. Rata-rata Rasio Heterofil Limfosit (H/L)	32
8. Rata-rata Pertambahan Bobot Badan Harian (PBBH).....	35

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Tanaman Buah Parijoto	10
2. Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	11
3. Maltodekstrin	13
4. Proses Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto.....	21
5. Proses Pembuatan Enkapsulasi Ekstrak Buah Parijoto dan <i>L. plantarum</i>	22

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Perhitungan Bobot Relatif Organ Limfoid.....	50
2. Analisis Statistik Bobot Relatif Bursa Fabricius	52
3. Analisis Statistik Bobot Relatif Timus	57
4. Analisis Statistik Bobot Relatif Limpa	65
5. Perhitungan Rasio Heterofil Limfosit (H/L)	69
6. Analisis Statistik Rasio Heterofil Limfosit (H/L)	70
7. Analisis Statistik Pertambahan Bobot Badan Harian	75
8. Data Pendukung	80

BAB I

PENDAHULUAN

Industri peternakan ayam broiler merupakan satu sektor penting dalam industri peternakan yang berperan dalam memenuhi kebutuhan protein hewani bagi manusia. Badan Pusat Statistik (2023) merilis bahwa produksi daging ayam broiler di Indonesia pada tahun 2021-2023 secara berturut-turut sebesar 3.185.698,48 menjadi 3.997.652,7 ekor, hal tersebut diakibatkan konsumsi daging ayam meningkat (rata-rata 7,46 kg/kapita/tahun) yang menunjukkan permintaan daging ayam juga meningkat. Oleh karena itu, peternak dihadapi berbagai tantangan, termasuk masalah kesehatan ayam. Upaya alternatif untuk mendukung pertumbuhan ayam dapat diberikan *feed additive* alami pada ransum. *Feed additive* yang diberikan bersumber dari buah parijoto sebagai fitobiotik dan *Lactobacillus plantarum* sebagai probiotik.

Buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin masing-masing dengan kadar 3,61%, 3,71% dan 11,7% (Wijayanti dan Firgiani, 2018). Kadar flavonoid dalam ekstrak buah parijoto dapat meningkatkan sistem imun karena merangsang produksi limfosit sebagai imunomodulator serta peran antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Hidayah *et al.*, 2022). Probiotik adalah mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menekan laju pertumbuhan bakteri patogen serta meningkatkan kesehatan tubuh, jika diberikan dalam dosis yang sesuai dalam inangnya (Yulia *et al.*, 2023). *Lactobacillus plantarum* merupakan probiotik yang dapat menurunkan bakteri patogen dalam usus, karena

mampu memproduksi *short chain fatty acids* (SCFA) dan menurunkan pH usus (Winarti *et al.*, 2019).

Kelemahan senyawa bioaktif yaitu tidak stabil terhadap pengaruh suhu dan intensitas cahaya tinggi sehingga mudah teroksidasi (Ambarsari *et al.*, 2019). Upaya untuk mencegah kerusakan tersebut dengan metode enkapsulasi yang bertujuan untuk melindungi bahan dari pengaruh reaksi dalam reaksi yang tidak diinginkan, seperti pH asam (proventrikulus) dan pengaruh suhu tinggi lingkungan. Bahan penyalut yang digunakan pada penelitian ini adalah maltodekstrin. Maltodekstrin memiliki keunggulan dalam menghambat reaksi oksidasi sehingga enkapsulan yang dihasilkan memiliki daya simpan lebih baik dibanding bahan penyalut lainnya (Angelina *et al.*, 2021).

Penambahan enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* dapat melalui tembolok, proventrikulus dan ventrikulus dalam mempertahankan kuantitas bahan penyalut dan kualitas aditif. Enkapsulasi kombinasi aditif tersebut ketika masuk di usus halus, amilase menghidrolisis bahan penyalut (maltodekstrin). Ekstrak buah parijoto dengan senyawa flavonoid berkerja menghambat bakteri patogen, sedangkan antioksidan memperlambat oksidasi dalam tubuh. Kedua kondisi tersebut mendukung kesehatan usus dengan ditambah jumlah *Lactobacillus plantarum* yang meningkatkan populasi bakteri asam laktat (BAL). Peningkatan BAL menciptakan perubahan pH rendah dan penurunan populasi bakteri patogen. Indikator kesehatan tubuh dilihat melalui bobot relatif organ limfoid dan rasio heterofil-limfosit (H/L). Persentase organ limfoid seperti bursa fabricius meningkat karena kandungan flavonoid yang merangsang aktivasi

sel imun dalam usus ayam broiler dengan memperbaiki imunitas dengan menjaga kondisi usus sehingga bursa fabricius tidak bekerja hiperaktif dalam memproduksi sel B yang mempercepat atropi bursa fabricius (Jamilah *et al.*, 2013).

Nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) sebagai indikasi tingkat stres pada ayam broiler, semakin meningkat rasio heterofil-limfosit menandakan ayam dalam kondisi stres. Kemampuan dari flavonoid dapat menghambat reaksi oksidasi karena berperan sebagai antioksidan yang dapat mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas sehingga reaksi menjadi stabil dan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif sebanding dengan menurunnya rasio heterofil-limfosit (Ulfa *et al.*, 2020). Peningkatan sistem imun tubuh serta pencernaan dalam usus yang baik, maka berbanding lurus dengan penambahan bobot harian ayam broiler.

Penelitian bertujuan untuk mengkaji penambahan enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* pada ransum terhadap ketahanan tubuh dan pertumbuhan ayam broiler. Manfaat penelitian adalah memperoleh informasi mengenai enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* pada ransum untuk meningkatkan ketahanan tubuh dan pertumbuhan ayam broiler. Hipotesis penelitian adalah penambahan level enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* yang tepat pada ransum dapat meningkatkan rasio heterofil limfosit, bobot relatif organ limfoid dan penambahan bobot badan harian ayam broiler.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ayam Broiler

Ayam broiler merupakan hasil dari budidaya teknologi peternakan dengan karakteristik pertumbuhan yang cepat serta salah satu jenis ternak pedaging dengan konversi ransum yang rendah siap dipotong pada umur 28-45 hari (Nasyuha dan Hafizah, 2020). Ayam broiler memiliki kelebihan, yaitu pertumbuhannya yang sangat cepat dengan bobot badan yang tinggi dalam waktu yang relatif pendek, konversi pakan kecil, siap dipotong pada usia muda serta menghasilkan kualitas daging berserat lunak, maka ras ayam broiler memiliki potensi untuk mendukung produksi dalam pemenuhan kebutuhan konsumen (Subowo dan Meidika, 2019).

Tabel 1. Performa Ayam Broiler

Umur	Bobot Badan	Konsumsi Ransum Kumulatif	Konversi Ransum
....(hari)....	(g).....		
7	213	166	0,780
14	533	535	1,005
21	1.012	1.155	1,142
28	1.616	2.051	1,269
35	2.296	3.211	1,399

Sumber: Aviagen Ross 308 Broiler Performance Objectives (2022).

Bibit ayam broiler berperan penting dalam menghasilkan daging yang berkualitas dengan konversi ransum yang rendah. Karakteristik dari bibit *day old chicken* (DOC) yang baik yaitu bulu berwarna cerah, bersih, tidak mengalami kecacatan, aktif tampak segar, bobot badan berkisar 35-40 g dan tidak ada kotoran

di bagian kloaknya (Aditya *et al.*, 2022). Bobot badan ayam broiler berkisar 1,2-1,9 kg/ekor dapat dicapai dalam jangka waktu pemeliharaan selama 4-5 minggu (Sitompul *et al.*, 2016). Performa ayam broiler tertera pada Tabel 1.

Konsumsi ransum merupakan jumlah pakan yang dikonsumsi untuk mencukupi kebutuhan hidup pokok dan produksi hewan serta digunakan untuk mengevaluasi kualitas pakan (Nuningtyas, 2014). Hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa konsumsi ransum merupakan faktor penunjang untuk mengetahui penampilan produksi, semakin tinggi ternak mengonsumsi ransum yang disajikan maka akan semakin banyak pula nutrisi pakan yang akan dicerna untuk menunjang produksi (Amiruddin *et al.*, 2020). Kandungan nutrisi, bobot badan, galur, aktivitas ternak, manajemen pemberian pakan, kandungan energi dalam pakan dan suhu lingkungan merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi konsumsi pakan (Anggitasari *et al.*, 2016).

Selisih dari bobot akhir (panen) dengan bobot badan awal pada saat tertentu disebut sebagai pertambahan bobot badan (Fahrudin *et al.*, 2017). Kualitas dan kuantitas ransum yang diberikan serta tata laksana dan pencegahan yang baik dapat mempengaruhi pertumbuhan hewan ternak (Putra *et al.*, 2018). Pertumbuhan bobot badan ayam broiler akan baik pada pemeliharaan suhu 21° C, karena ayam broiler dapat mengonsumsi ransum secara optimal sehingga ransum yang dikonsumsi dapat mencukupi segala kebutuhan ayam broiler, selain itu suhu lingkungan berpengaruh terhadap fisiologi tubuh ayam secara langsung seperti aktivitas jantung, pernafasan, sirkulasi darah dan metabolisme tubuh (Syahrudin *et al.*, 2013).

Perbandingan antara ransum yang diberikan untuk menghasilkan satu kilogram berat hidup ayam ras pedaging disebut dengan *feed conversion ratio* (FCR) (Mahardika *et al.*, 2020). Mortalitas, konsumsi ransum, bobot badan akhir, rasio FCR dan indeks performa (IP) merupakan pengukuran dari performa ayam broiler dalam mencapai keberhasilan suatu produksi ayam broiler (Nuryati, 2019). Semakin kecil nilai FCR, maka semakin baik juga pengaruhnya terhadap bobot badan ayam pedaging (Pakage *et al.*, 2020). Perbandingan antara jumlah ransum yang digunakan dengan jumlah bobot ayam broiler yang dihasilkan merupakan cara untuk menghitung FCR (Ridwan *et al.*, 2020). Hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa di perusahaan PT. Cemerlang Unggas Lestari memiliki standar FCR, berat badan, dan mortalitas ayam broiler sebesar 1,59, 1,94 kg, dan 3,89% (Girsang *et al.*, 2023). Kualitas *day old chick*, kualitas nutrisi, manajemen pemeliharaan dan kualitas kandang merupakan faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai FCR (Andriyanto *et al.*, 2015).

2.2. Standar Kebutuhan Nutrien Ayam Broiler

Ayam broiler membutuhkan nutrisi yang cukup untuk proses pertumbuhan jaringan yang mengakibatkan penambahan bobot badan, hal tersebut dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas ransum yang diberikan (Arum *et al.*, 2017). Bahan pakan yang umum digunakan sebagai ransum unggas meliputi jagung, dedak, tepung ikan, bungkil kedelai, minyak sayur, bungkil kelapa, tepung kapur, batuan fosfat, asam amino sintetis (terutama metionin dan lisin) dan campuran vitamin-mineral

(Samadi *et al.*, 2021). Standar kandungan nutrisi pakan ayam broiler tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Standar Kandungan Nutrien Pakan Ayam Broiler

Kandungan Nutrien	<i>Starter</i> (1-21 hari)	<i>Finisher</i> (22-35 hari)
Energi metabolis (kkal/kg)*	2975	3100
Protein kasar (%)*	23,00	19,50
Serat kasar (%)**	5,00	6,00
Lemak kasar (%)**	5,00	5,00
Kalsium (%)*	0,95	0,65
Fosfor (%)*	0,50	0,36

Sumber: *Aviagen Ross 308 Broiler: Nutrition Specifications (2022).

**Badan Standarisasi Nasional (2015).

Ransum yang diberikan untuk ayam broiler juga diperhatikan kandungan nutrisinya dan disesuaikan kebutuhan setiap fasenya dari *starter* hingga *finisher*. Kandungan nutrisi pakan ayam broiler, meliputi energi metabolis, protein, lemak, serat kasar, dan mineral. Protein adalah zat gizi yang dibutuhkan tubuh untuk membentuk sel dan jaringan, memelihara dan mempertahankan sistem imun tubuh, membantu enzim, hormon, dan bahan biokimia lainnya (Rahmad, 2017). Ayam broiler pada fase *starter* mengalami pertumbuhan yang cepat dan membutuhkan protein untuk mendukung perkembangan awal yang optimal, sedangkan pada fase *finisher* protein tetap dibutuhkan untuk menambah massa tubuh atau otot karena pertumbuhan ayam mulai melambat (Hidayat *et al.*, 2020). Protein sangat dibutuhkan ayam broiler dalam pertumbuhan jaringan, penambahan bobot badan, pertumbuhan bulu, serta pemeliharaan tubuh, semakin baik asupan protein yang diberikan (mencukupi kebutuhan) semakin optimal ayam memanfaatkan protein untuk kebutuhannya (Wati *et al.*, 2018).

Ayam broiler termasuk golongan ternak yang berperut tunggal sehingga tidak mampu mencerna serat kasar secara berlebihan, oleh karena itu faktor yang perlu dipertimbangkan dalam pemberian ransum ternak ayam broiler adalah kandungan serat kasar (Tumbal dan Simanjuntak, 2019). Serat kasar berperan menstimulasi gerakan saluran pencernaan dengan mempercepat pergerakan pakan dan menjaga kesehatan saluran pencernaan sehingga berpengaruh pada histologi saluran pencernaan (Has *et al.*, 2014). Ternak unggas membutuhkan serat kasar sebagai stimulasi kerja alat pencernaan untuk mencegah terjadinya pengumpulan nutrisi pada saluran pencernaan pada batas-batas tertentu (Yasinta *et al.*, 2020).

Lemak merupakan sumber energi yang berdensitas tinggi karena energi yang dihasilkan dari asam lemak lebih tinggi dibandingkan dengan nutrisi lain seperti karbohidrat atau protein ketika dimetabolisme dalam tubuh (Polii *et al.*, 2020). Lemak memiliki peran sebagai penyedia energi, memproteksi organ dalam tubuh, melarutkan vitamin serta mengatur temperatur tubuh (Diniyyah dan Triska, 2017).

Energi metabolis pada ayam broiler adalah jumlah energi yang tersedia dari ransum setelah dikurangi dengan energi yang hilang melalui ekskresi, baik dalam bentuk urin maupun feses (ekskreta) (Yuniarti dan Wahyono, 2015). Energi metabolis merupakan komponen utama yang dipertimbangkan dalam formulasi ransum untuk memastikan bahwa ternak mendapatkan cukup energi untuk membentuk jaringan serta reproduksi, oleh karena itu langkah awal dalam evaluasi ransum dengan melihat ketersediaan energi (Abdollahi *et al.*, 2021). Energi metabolis pada ayam broiler berfungsi penyedia energi untuk aktivitas seperti

aktivitas fisik, menjaga temperatur tubuh, metabolisme, pembentukan jaringan, reproduksi serta produksi (Fitasari dan Santoso, 2015).

Kalsium adalah komponen struktural yang menggabungkan dengan fosfor sebagai mineral bersifat basa yang tubuh butuhkan dalam fungsi fisiologis serta pemeliharaan jaringan tulang melalui kehidupan (Noviandi *et al.*, 2023). Kalsium berperan dalam proses metabolisme dan mineralisasi tulang dalam tubuh ayam broiler (Salu *et al.*, 2021). Mineral kedua terbanyak dalam tubuh setelah kalsium kurang lebih 1% dari berat badan, yaitu fosfor (Musdalifah *et al.*, 2016). Fosfor berperan untuk mengefisiensikan proses pencernaan karena fosfor dapat menstimulasi pencernaan dalam meningkatkan daya serap terhadap vitamin dan mineral (Sulistyoningsih *et al.*, 2017).

2.3. Buah Parijoto sebagai Fitobiotik

Buah parijoto mampu tumbuh dan banyak ditemukan di daerah pengunungan dengan iklim yang dingin, seperti di kawasan Gunung Muria yang menjadi ikon oleh-oleh dari wisata (Halawa *et al.*, 2023). Buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin masing-masing dengan kadar 3,61%, 3,71% dan 11,7% (Wijayanti dan Firgian, 2018). Buah parijoto dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk masyarakat, seperti meningkatkan sistem imun tubuh, berperan sebagai antioksidan untuk melawan radikal bebas dalam tubuh serta membantu meredakan peradangan tubuh (anti-inflamasi). Buah parijoto sebagai bahan alami dapat digunakan untuk mencegah serta mengatasi stres oksidatif pada manusia karena mengandung antioksidan

(Melinda *et al.*, 2021). Flavonoid lipofilik juga dapat mengganggu membran bakteri. Hasil penelitian Sugiarti *et al.* (2019) bahwa pada konsentrasi ekstrak buah parijoto 100 mg/mL dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 6,25 mg/mL dapat menghambat bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Mekanisme saponin sebagai antibakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel sehingga isi sel akan terlepas dan mengalami kematian sel melalui ikatan hydrogen antara senyawa kompleks yang dihasilkan saponin dengan membran sel (Permatasari *et al.*, 2013). Gambar tanaman buah parijoto menurut Umiyati *et al.* (2021) tertera pada Ilustrasi 1.

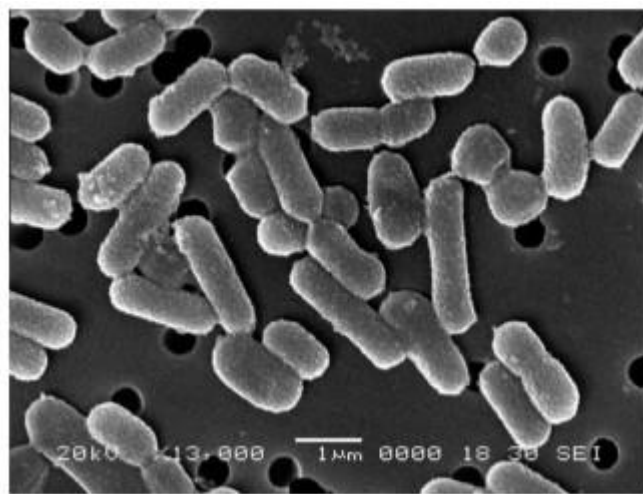


Ilustrasi 1. Tanaman Buah Parijoto

2.4. Bakteri *Lactobacillus plantarum* sebagai Probiotik

Bakteri *Lactobacillus plantarum* merupakan probiotik yang dapat tumbuh dalam saluran pencernaan dan meningkatkan populasi bakteri asam laktat (BAL) yang efektif untuk melawan patogen (Hidayatulloh *et al.*, 2019). Kandungan asam fenil laktat diketahui terdapat dalam *Lactobacillus plantarum* yang dapat

meningkatkan aktivitas adipogenik (pembentukan adiposit) dan *Lactobacillus plantarum* dapat menstimulasi respons imun mukosa, humoral, dan seluler serta memproteksi gejala sindrom iritasi pada usus besar (Ilavenil *et al.*, 2015 dan Shi *et al.*, 2014). Gambar *Lactobacillus plantarum* menurut Arasu *et al.* (2016) tertera pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Bakteri *Lactobacillus plantarum*

Bakteri *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan meningkatkan populasi bakteri asam laktat dalam pencernaan ayam serta menghasilkan *short chain fatty acids* (SCFA) sehingga pertumbuhan ayam broiler meningkat (Wang *et al.*, 2017). Bakteri *Lactobacillus plantarum* termasuk filum *Firmicutes*, kelas *Bacillus*, ordo dan famili *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, dan *Streptococcaceae* yang memiliki karakteristik metabolik serta fisiologis masing-masing dan sebagian besar dari jenis bakteri asam laktat tersebut dapat hidup pada

pH dibawah 5,0, tetapi jika dalam kondisi pH suboptimal dapat menghambat pertumbuhannya (Pena dan Rodriguez, 2020).

2.5. Enkapsulasi

Enkapsulasi merupakan teknik penyalutan suatu bahan sehingga bahan yang disalut dapat dilindungi dari pengaruh lingkungan (Prasojo dan Siahaan, 2015). Bahan penyalut, pelapis, fase eksternal, maupun bahan pembawa disebut dengan bahan yang mengenkapsulasi. Gum, pati-patian, natrium kasienat, dan polimer-polimer adalah jenis-jenis bahan penyalut yang biasa digunakan dalam enkapsulasi (Gloriana *et al.*, 2021). Maltodekstrin merupakan produk hidrolisis *starch* atau pati parsial yang diperoleh dari penambahan enzim atau asam serta digunakan untuk mengenkapsulasi makanan, obat-obatan, minyak esensial, dan bahan lainnya yang mengandung polimer D-glukosa yang terikat melalui α -(1,4) dan α -(1,6) glikosidik (Xiao *et al.*, 2022). Hasil penelitian yang dilaporkan Hasrini *et al.* (2017) bahwa mikroenkapsulasi minyak sawit mentah menggunakan maltodekstrin diperoleh nilai efisiensi enkapsulasi sebesar $59,95 \pm 1,50\%$ lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Deng *et al.* (2014) menggunakan bahan penyalut isolat protein kedelai dan pati termodifikasi oktenil suksinat anhidrida pada mikroenkapsulasi konsentrat β -karoten dengan efisiensi berkisar 20,9- 38,8%. Gambar maltodekstrin menurut Nami *et al.* (2023) tertera pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Maltodekstrin

Hasil penelitian yang dilaporkan Dityana *et al.* (2024) bahwa enkapsulasi ekstrak buah *Medinilla javanesis* dengan penyalut maltodekstrin dapat mempengaruhi pertumbuhan, pencernaan protein serta kesehatan ayam broiler. Xue *et al.* (2021) menyatakan bahwa metabolit sekunder sebagai bakteriosin (membunuh bakteri) khususnya flavonoid dapat menghambat bakteri patogen dan membantu enzim pencernaan sehingga meningkatkan pencernaan dalam tubuh ayam broiler.

2.6. Organ Limfoid

Organ limfoid merupakan organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh unggas yang terdiri dari organ limfoid primer yaitu bursa fabricius dan timus serta organ limfoid sekunder yaitu limpa, oleh karena itu organ limfoid perlu diperhatikan untuk menunjang kesehatan dan produktivitas ayam broiler (Elisa *et al.*, 2017). Organ limfoid dapat digunakan sebagai salah satu indikator untuk menentukan apakah ayam yang dipelihara memiliki sistem kekebalan yang baik atau buruk (Aprilia *et al.*, 2018). Organ limfoid primer seperti sumsum tulang belakang, timus dan bursa fabricius diperlukan untuk pematangan sel T dan B

sehingga berfungsi untuk mengatur produksi dan diferensiasi limfosit sedangkan organ limfoid sekunder berfungsi sebagai respon terhadap antigen (Fadhilah *et al.*, 2022).

Organ limfoid yang hanya dimiliki oleh unggas dan berfungsi sebagai penghasil dan tempat pendewasaan limfosit serta berisi makrofag dan sel plasma disebut sebagai bursa fabricius (Hasnita *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa faktor yang mempengaruhi bobot relatif bursa fabricius salah satunya adalah konsumsi protein, jika konsumsi protein rendah maka dapat menghambat pertumbuhan bursa fabricius karena protein merupakan nutrisi pembentuk antibodi (Arifa *et al.*, 2021). Bobot relatif bursa fabricius pada ayam broiler berkisar 0,130%-0,195%, semakin besar bobot bursa mengindikasikan produksi ketahanan tubuh ayam meningkat dan menekan jumlah bakteri patogen yang berdampak pada keseimbangan aktivitas bakteri yang ada dalam saluran pencernaan optimal (Satrian *et al.*, 2022).

Organ pertahanan sekunder yang berfungsi untuk memproduksi sel-sel limfosit dan berperan penting dalam menahan agen yang berhasil mencapai sirkulasi darah guna menahan invansi organisme atau toksin sebelum menyebar lebih luas disebut sebagai organ limpa (Etriwati *et al.*, 2017). Limpa organ yang berperan dalam pembentukan sel darah putih yaitu limfosit yang ada hubungannya dengan pembentukan antibodi. Rata-rata bobot relatif organ limpa pada ayam broiler berkisar 0,172%-0,230% (Satrian *et al.*, 2022). Banyaknya sel-sel limfosit yang berproliferasi untuk mengeluarkan antibodi akibat banyaknya benda asing yang masuk mengakibatkan bobot limpa besar (Hakim *et al.*, 2021).

Timus terletak di sisi kanan dan kiri saluran pernapasan dan ukuran absolutnya terbesar pada saat pubertas (Abdian *et al.*, 2017). Timus sebagai organ limfoid primer memiliki fungsi sebagai tempat embriogenesis dan pematangan sel-sel limfoid serta semakin kecil ukuran timus mengindikasikan semakin besar stres yang dialami oleh ayam broiler tersebut (Lestari *et al.*, 2020). Timus secara normal dapat mengalami involusi seiring bertambahnya umur ayam sebagai tanda maturitas pada sistem imunitas (Hewajuli dan Dharmayanti, 2015). Pemberian probiotik dan nutrisi ransum dapat mempengaruhi besar kecilnya organ timus dan limpa karena mempengaruhi kerja organ limfoid untuk memproduksi antibodi (Wiranto *et al.*, 2020). Bobot relatif organ timus pada ayam broiler berkisar 0,472%-0,558% (Satrian *et al.*, 2022).

2.7. Rasio Heterofil/Limfosit

Darah merupakan organ khusus yang memiliki bentuk berupa cairan serta berfungsi sebagai alat utama transportasi, distribusi dan sirkulasi dalam tubuh (Atmajaya *et al.*, 2021). Komponen penting dari sistem kekebalan tubuh bawaan, bekerja cepat mendeteksi dan membunuh patogen serta mengarahkan sinyal menuju mekanisme respon imun yang lain serta memiliki fungsi penting saat infeksi awal akan mengaktifkan cepat melalui proses kemotaksis yang dapat membunuh patogen disebut dengan heterofil (Yuniwanti dan Hirawati, 2014). Heterofil akan melakukan fagositosis dan menginduksi ekspresi sitokin ketika reseptor mendeteksi adanya molekul bakteri. Heterofil memiliki kandungan zat antibakteri yang dikeluarkan dengan degranulasi serta memiliki konsentrasi antibodi yang cukup (ditentukan

dengan pengenceran) dan dapat mengikat immunoglobulin dengan lemah pada beberapa spesies. Secara umum, lazimnya kadar antibodi heterofil dalam sebagian besar populasi berkisar 0,17 – 40% (Wu *et al.*, 2018).

Leukosit jenis agranulosit yang memiliki berbagai peran fungsional berhubungan dengan reaksi ketahanan tubuh terhadap serangan mikroorganisme, makromolekul asing, maupun sel-sel kanker disebut sebagai limfosit (Tiara *et al.*, 2016). Fungsi spesifik dari limfosit untuk respon humoral yang dilaksanakan oleh limfosit B maupun seluler yang dilakukan oleh limfosit T dengan melepaskan limfokin yang berpengaruh pada proses inflamasi karena limfosit adalah sel inflamasi kronis dengan inti besar dan bulat serta memiliki sedikit sitoplasma (Izzaty *et al.*, 2014). Agregasi dan kemotaksis makrofag proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh limfokin. Umumnya kadar limfosit dalam darah unggas berkisar 45,5 – 57,6% (Scanes, 2015).

Rasio heterofil/limfosit (H/L ratio) adalah parameter yang digunakan untuk mengetahui status sistem imun atau sistem kekebalan tubuh unggas dengan membandingkan antara jumlah sel darah putih yang disebut heterofil dengan jumlah sel darah putih lainnya yang disebut limfosit dalam sampel darah ayam (Thiam *et al.*, 2022). Parameter awal adanya stres terhadap ayam broiler dapat menggunakan rasio heterofil/limfosit (Indriani *et al.*, 2021). Perubahan jumlah leukosit serta menurunnya jumlah limfosit dapat disebabkan stres yang seiring antibodi juga menurun, maka semakin tinggi tingkat stres hewan semakin tinggi nilai rasio heterofil/limfosit (Santoso *et al.*, 2020). Jika jumlah heterofil yang dihasilkan lebih besar dibandingkan jumlah limfosit, maka nilai rasio heterofil limfositnya tinggi

(Bikrisima *et al.*, 2013). Perkembangan limpa sejalan dengan nilai rasio heterofil dan limfosit karena pada dasarnya limpa bertugas mengambil antigen dari dalam darah yang telah berikatan dengan limfosit (Jamilah *et al.*, 2013). Kisaran normal dari rasio heterofil-limfosit ayam broiler khususnya di iklim tropis yaitu 0,2 (rendah), 0,5 (normal), dan 0,8 (tinggi) (Wicaksono *et al.*, 2020).

BAB III

MATERI METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan bulan November sampai Desember 2023 di Kandang Unggas, Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Darah heterofil limfosit diuji di Departemen Teknologi Hayati dan Veteriner, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu ayam broiler strain Ross *unsexed* produksi PT. Charoen Pokphand umur 8 hari sebanyak 200 ekor dengan bobot badan rata-rata $199,72 \pm 6,3$ g/ekor. *Feed additive* yang digunakan yaitu ekstrak buah parijoto sebagai fitobiotik dan *Lactobacillus plantarum* sebagai probiotik. Ransum disusun menggunakan berbagai bahan pakan yang tercantum pada Tabel 3. Peralatan yang digunakan untuk ekstrak dan enkapsulasi meliputi sonifikator, beaker glass ukuran 2 liter, gelas ukur ukuran 1000 ml, batang pengaduk, corong kaca, *magnetic stirrer* dan *freeze drying*. Peralatan yang digunakan dalam pemeliharaan meliputi timbangan digital dengan ketelitian 1 g, kandang utama, kandang *battery*, tempat pakan dan minum, instalasi listrik dan alat tulis.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dan enkapsulasi meliputi tepung buah parijoto, *Lactobacillus plantarum*, aquades, etanol 96%, kertas saring

halus, maltodekstrin dan alumunium foil. Bahan yang digunakan dalam pemeliharaan meliputi ransum komersial kode B11S produksi PT. Charoen Pokphand, ransum penelitian, aquades, KMnO_4 , formalin, air minum, vitamin dan vaksin.

Tabel 3. Komposisi dan Kandungan Nutrien Ransum Penelitian

Bahan Pakan	Komposisi (%)	
	<i>Starter</i> (8-21 hari)	<i>Finisher</i> (22-35 hari)
Jagung Kuning	51,01	56,11
Bekatul	14,14	14,04
Bungkil Kedelai	24,00	19,00
<i>Meat Bone Meal</i>	10,00	10,00
<i>Limestone</i>	0,30	0,30
Premix	0,25	0,25
Lisin	0,10	0,10
Metionin	0,20	0,20
Total	100,00	100,00
Kandungan nutrien		
Protein kasar (%)*	21,61	19,67
Energi metabolis (kkal/kg)**	3064,65	3075,79
Lemak kasar (%)*	4,33	4,39
Serat kasar (%)*	4,33	4,26
Kalsium (%)*	1,02	1,08
Fosfor (%)*	0,75	0,73

Sumber: *Ransum Diuji Proksimat dan Mineral di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro (2023).

**Perhitungan EM Menurut Bolton (1967).

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan percobaan

Penelitian disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, setiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut:

T0 = ransum basal tanpa enkapsulasi ekstrak buah Parijoto dan *L. plantarum* (EEBPLp)

T1 = ransum basal + EEBLp 0,2%

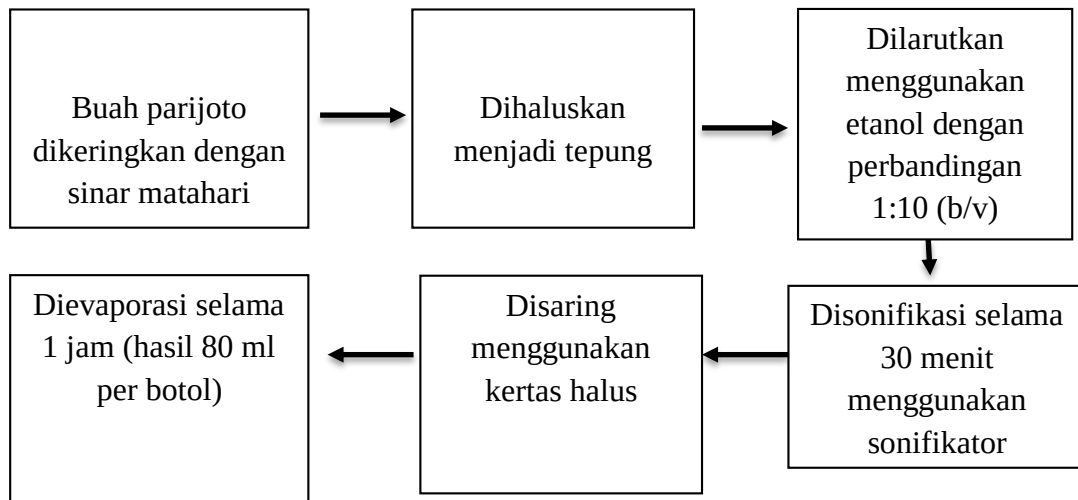
T2 = ransum basal + EEBPLp 0,4%

T3 = ransum basal + EEBPLp 0,6%

T4 = ransum basal + EEBPLp 0,8%

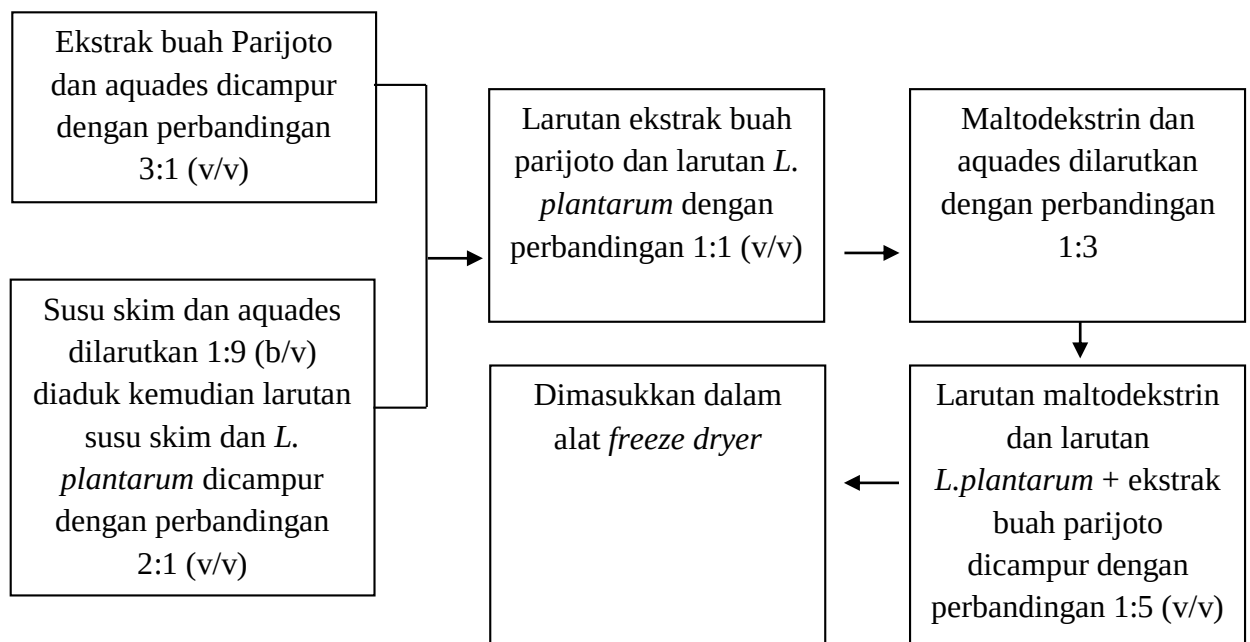
3.2.2. Pembuatan ekstrak dan enkapsulasi buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum*

Tahap awal yang dilakukan dalam pembuatan ekstrak buah parijoto adalah dengan mengeringkan buah parijoto menggunakan sinar matahari, setelah kering dihaluskan menjadi tepung menggunakan mesin penggiling. Prosedur ekstrak mengacu pada Gouda *et al.* (2020) yang telah dimodifikasi yaitu tepung buah parijoto dilarutkan dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (b/v), lalu bahan diaduk-aduk agar homogen. Larutan dilakukan sonifikasi dengan suhu 37°C pada suhu kamar dengan panjang gelombang 50 Hz selama 30 menit. Larutan kemudian didiamkan selama 2 hari (maserasi). Filtrat yang tersaring kemudian dilakukan evaporasi untuk menguapkan etanol. Bagan ekstraksi buah parijoto tertera pada Ilustrasi 4.



Ilustrasi 4. Proses Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto

Pembuatan enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *L. plantarum* dilakukan dengan membuat larutan susu skim 10% dari volume aquades dan mencampurkan larutan tersebut dengan *L. plantarum* dengan perbandingan 2:1 (v/v). Kemudian masing masing larutan dicampur dengan perbandingan 1:1 (v/v) sampai homogen. Tahap enkapsulasi dilakukan dengan proses *freeze drying* pada hasil evaporasi ekstrak buah parijoto. Prosedur enkapsulasi mengacu pada Agusetyaningsih *et al.* (2022) yang telah dimodifikasi yaitu pelarutan maltodekstrin dengan aquades pada perbandingan 1:3 (b/v), kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Ekstrak buah parijoto dicampurkan dengan larutan maltodekstrin dengan perbandingan 1:5 (v/v) dan dilakukan pengeringan menggunakan *freeze drying* dengan suhu -2°C . Bagan enkapsulasi ekstrak buah parijoto tertera pada Ilustrasi 5.



Ilustrasi 5. Proses Pembuatan Enkapsulasi Ekstrak Buah Parijoto dan *L. plantarum*

3.2.3. Pemeliharaan ayam broiler

Tahap pemeliharaan dilakukan persiapan kandang dengan pembersihan area kandang, pengapuran, fumigasi, penyemprotan desinfektan, pemasangan rangkaian listrik dan pemasangan tempat pakan dan minum. Pembersihan kandang dengan mencuci kandang, sekat kandang, tempat pakan dan minum menggunakan detergen. Pengapuran dan fumigasi kandang bertujuan mensterilisasi kandang untuk mencegah penyakit dan membunuh bakteri. Kandang yang telah dibersihkan kemudian dipasang sekat dan diberi sekam.

Pemeliharaan ayam broiler yang dilakukan selama 35 hari. Ayam yang digunakan mulai *day old chick* diperoleh dari penetasan PT. Charoen Pokphand Kabupaten Semarang. Proses chick in ayam diberikan air minum yang mengandung larutan gula untuk memulihkan energi ketika dalam perjalanan. Ayam umur 1-7 hari diberi ransum komersial, kemudian pada umur 8 hari diberikan ransum

komersial dan ransum perlakuan dengan perbandingan 75% : 25%, umur 9 hari 50% : 50%, umur 10 hari 25% : 75% dan umur 11-35 hari 100% ransum perlakuan. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Perlakuan diberikan setiap pagi hari dengan konsumsi ransum sebanyak 20%, jika ransum habis diberikan ransum tanpa perlakuan.

3.2.4. Pengambilan data

Tahap pengambilan data dilakukan pada hari ke 35. Metode pengambilan darah dilakukan dengan memilih 1 sampel secara acak pada setiap unit percobaan. Pengambilan darah dilakukan melalui pembuluh vena *brachialis* menggunakan spuit (*disposable syringe*). Darah yang diambil minimal sebanyak 1 ml dan ditampung pada tabung *etilen diamin tetraasetat* (EDTA) yang mengandung antikoagulan. Tabung dikocok secara perlahan dan disimpan pada suhu rendah (18°C) untuk menghindari lisis atau penggumpalan darah. Darah yang diuji di laboratorium disimpan pada *cooler box*. Penghitungan jumlah leukosit ditentukan dengan metode ruang Burker (Purnomo *et al.*, 2015). Penghitungan diferensial leukosit darah ayam broiler ditentukan dengan penghitungan preparat apus menggunakan mikroskop cahaya dengan lensa perendaman. Rasio heterofil-limfosit dihitung dengan menggunakan rumus yang mengacu kepada Widiyanti *et al.* (2019) sebagai berikut:

$$\text{Rasio heterofil-limfosit} = \frac{\text{Heterofil}}{\text{Limfosit}}$$

Organ limfoid meliputi bursa fabricius, limpa dan timus diperoleh dari ayam yang telah di dekapitasi (sembelih) kemudian dipisahkan secara teliti dan bersih

dari daging dan lemak. Bobot organ limfoid ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan selanjutnya dihitung bobot relatif dengan menggunakan rumus yang mengacu kepada Widiyanti *et al.* (2019) sebagai berikut:

$$\frac{\text{Bobot organ limfoid}}{\text{Bobot Hidup}} \times 100\%$$

3.2.5. Analisis statistik

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf signifikansi 5%. Jika berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Metode linier seluruh perlakuan adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

- Y_{ij} = Nilai pengamatan dari pemberian enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* perlakuan ke -i dengan ulangan ke-j
- μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi)
- α_i = Pengaruh aditif perlakuan ke-I dengan ulangan ke-j
- ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada ulangan ke-j yang mendapatkan perlakuan ke-i

Hipotesis Statistik

$H_0 = \alpha_i = 0$: Tidak ada pengaruh penambahan enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* terhadap rasio heterofil limfosit, bobot relatif organ limfoid, dan PBBH ayam broiler.

$H_1 = \alpha_i \neq 0$: Ada pengaruh penambahan enkapsulasi ekstrak buah parijoto dan *Lactobacillus plantarum* terhadap rasio heterofil limfosit, bobot relatif organ limfoid, dan PBBH ayam broiler.

Kriteria pengujian

1. Apabila $F_{hitung} > F_{tabel}$ dengan $\alpha = 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima perlakuan berpengaruh nyata.
2. Apabila $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ dengan $\alpha = 0,05$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak perlakuan tidak berpengaruh nyata.