

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 10 Juli – 18 September 2020 di Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis serum darah dilaksanakan di Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan Semarang, Jawa Tengah.

3.1. Materi

Materi yang digunakan adalah 252 ekor ayam Kampung Super *unsex* umur 0 – 70 hari, dan mulai diberi 100% pakan perlakuan pada umur 32 hari dengan rerata bobot badan $236,44 \pm 4,33$ g. Bahan yang digunakan meliputi daun Pepaya, biji Pepaya, kapang *Chrysonilia crassa*, *potato dextrose agar* (PDA), nasi, air, serta ransum ayam Kampung Super fase *starter* dan fase *finisher*. Alat yang digunakan meliputi tempat pakan, tempat minum, instalasi listrik, *thermohygrometer*, timbangan digital, ember, nampan, autoklaf, cawan petri, jarum ose, bunsen, inkubator, kantong plastik, ember, spuit, tabung darah *vacutainer*, *eppendorf tube*, *cooling box*, *cooling gel*, jarum dan alat tulis.

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 6 ulangan sehingga terdapat 18 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan yaitu:

- T0 : Pakan basal dengan kepadatan normal (10 ekor/m²)
- T1 : Pakan basal dengan kepadatan tinggi (16 ekor/m²)
- T2 : Pakan yang mengandung 7,5% tepung fermentasi daun dan biji Pepaya dengan kepadatan tinggi (16 ekor/m²)

3.2.2. Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah profil lemak serum yang meliputi trigliserida, kolesterol, *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *High Density Lipoprotein* (HDL).

3.2.3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilaksanakan dalam tiga tahap yaitu tahap persiapan, tahap pemeliharaan, dan tahap pengambilan data. Tahap persiapan terdiri dari persiapan kandang, pembuatan tepung daun dan biji Pepaya, pembuatan *starter* kapang *C. crassa*, pembuatan tepung fermentasi daun dan biji Pepaya dan penyusunan ransum. Tahap persiapan kandang dilakukan dengan menyiapkan kandang unit penelitian yang berjumlah 18 pen dengan ukuran 1 × 1 × 1 m,

sanitasi kandang, pemasangan instalasi listrik dan pemasangan tempat pakan dan minum.

Pembuatan tepung daun dan biji Pepaya dilakukan dengan mengumpulkan daun Pepaya yang diperoleh dari pohon Pepaya di sekitar kampus Universitas Diponegoro dan biji Pepaya yang diperoleh dari limbah penjualan buah segar di daerah Tembalang dan sekitarnya. Daun Pepaya dipotong-potong lalu dikering udarkan hingga kering sedangkan biji Pepaya dikeringkan di bawah sinar matahari. Daun dan biji Pepaya yang telah kering, dihaluskan menggunakan mesin grinder hingga berbentuk tepung.

Pembuatan *starter* kapang *C. crassa* diawali dengan peremajaan isolat murni *C. crassa*. Peremajaan isolat diawali dengan pembuatan media *potato dextrose agar* (PDA) yang terdiri dari 1000 ml filtrat kentang, 20 g dextrose, 20 g serbuk agar dan 250 mg antibiotik *chloramphenicol*. Semua bahan dicampur hingga homogen dan disterilisasi dengan metode sterilisasi basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm. PDA steril dituang ke dalam cawan petri yang sebelumnya telah disterilkan sebanyak ± 20 ml dan dibiarkan hingga padat. Peremajaan dilakukan dengan menggoreskan satu ose isolat murni pada permukaan media PDA, selanjutnya dilakukan inkubasi secara aerob pada inkubator selama 2 hari dengan suhu 38°- 40°C. Kapang *C. crassa* yang telah diremajakan selanjutnya dibiakkan pada media nasi dengan perbandingan 500 gr nasi dan 5 cawan *C. crassa* yang telah diremajakan. Kedua bahan tersebut diaduk hingga homogen dan diinkubasi secara aerob, setelah 4 hari *starter* kapang *C. crassa* dalam media nasi dipanen dan dikeringkan di bawah sinar matahari.

Pembuatan fermentasi tepung daun dan biji Pepaya menggunakan kapang *C. crassa* dilakukan dengan cara memasukkan 64,5% tepung daun Pepaya, 34,5% tepung biji Pepaya, 1% *starter* kapang *C. crassa* yang dicampur dengan nasi dan telah dikeringkan dan 1 liter air/kg ke dalam kantong plastik lalu diaduk hingga homogen. Fermentasi dilakukan secara aerob dengan cara melubangi kantong plastik menggunakan jarum yang telah disterilkan dengan api bunsen. Bahan-bahan yang telah dicampur hingga homogen dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diletakkan pada ember yang telah dilubangi bagian tutupnya. Proses fermentasi dilakukan selama 4 hari dan dilakukan pengadukan setiap 2 hari sekali agar proses fermentasi dapat berlangsung secara merata. Pemanenan tepung fermentasi daun dan biji Pepaya dilakukan pada hari ke 4, kemudian tepung fermentasi diletakkan pada nampan dan dijemur di bawah sinar matahari. Tepung daun dan biji Pepaya fermentasi diberikan sebanyak 7,5% dalam ransum pakan perlakuan.

Tahap persiapan selanjutnya yaitu penyusunan ransum yang dilakukan dengan cara pemilihan bahan pakan, perhitungan kebutuhan nutrisi ayam Kampung Super kemudian dilakukan penimbangan bahan pakan sesuai dengan komposisi pakan yang telah dibuat. Jenis bahan pakan, persentase penggunaan dan kandungan nutrisi dalam pakan perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan Pakan, Persentase Penggunaan dan Kandungan Nutrien Pakan

Bahan Pakan	Persentase Bahan Pakan		
	Starter	Finisher	
		Basal	Perlakuan
	-----%-----		
Tepung fermentasi daun dan biji papaya	0,00	0,00	7,50
Jagung kuning	55,90	62,50	58,80
Minyak kelapa sawit	2,22	3,22	3,20
Bungkil kedelai	37,10	29,50	25,70
DL-Methionine	0,19	0,19	0,19
Bentonite	1,00	1,00	1,00
Limestone	1,34	1,34	1,34
Monocalcium phospat	1,51	1,51	1,51
Premix	0,27	0,27	0,27
Chlorine chloride	0,07	0,07	0,07
Garam	0,40	0,40	0,40
Total	100,00	100,00	100,00
Kandungan Nutrisi			
EM (Kkal/kg)*	2900,00	3.042,00	3.041,00
Protein kasar (%)**	21,00	18,00	18,00
Serat Kasar (%)**	5,50	5,50	6,50
Ca (%)**	1,30	1,29	1,26
P (%)**	0,60	0,62	0,59

*Nilai Energi Metabolis (EM) dihitung berdsarkan rumus Bolton (Bolton, 1967)
 $EM = 40,81 \times (0,87(PK + (2,25 \times LK) + BETN) + 2,5$

**Hasil Analisis Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Tahap pemeliharaan ayam Kampung Super dilaksanakan selama 70 hari. Awal pemeliharaan dilakukan saat DOC datang dengan melakukan penimbangan untuk mengetahui bobot awal, serta menempatkan DOC pada *brooder*. Ayam Kampung Super diberi pakan *starter* pada umur 0 – 28 hari dan pakan *finisher* (dengan ataupun tanpa tepung biji dan daun papaya fermentasi CC) diberikan pada umur 29 – 70 hari, pemberian pakan *finisher* (dengan ataupun tanpa tepung biji dan daun papaya fermentasi CC) diawali dengan adaptasi pakan pada umur

29, 30 dan 31 hari dengan perbandingan pakan *starter* dan pakan *finisher* (dengan ataupun tanpa tepung biji dan daun papaya fermentasi CC) adalah 75% : 25%, 50% : 50% dan 75% : 25%, pada umur 32 hari baru diberikan 100% pakan *finisher* (dengan ataupun tanpa tepung biji dan daun papaya fermentasi CC). Pemberian pakan dan minum dilakukan secara *ad libitum*. Ayam Kampung Super pada umur 4 hari diberi vaksin ND IB melalui tetes mata, vaksin ND La Sota pada umur 18 hari, vaksin ND IB pada umur 11 dan 30 hari, serta direvaksinasi menggunakan vaksin ND Clone pada umur 62 hari melalui air minum.

Tahap pengambilan data dilakukan dengan cara mengambil seekor ayam Kampung Super secara acak dari tiap perlakuan pada umur 69 hari. Sampel darah diambil melalui *vena brachialis*, sebanyak 2 ml menggunakan *sprit* 3 ml, kemudian dimasukkan ke dalam *vacutainer* tanpa EDTA (tutup berwarna merah) dan disimpan pada suhu ruang. Sampel darah disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm, kemudian serum yang dihasilkan dimasukkan ke dalam *eppendorf tube*. Analisis serum darah dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan, Semarang, Jawa Tengah.

3.3. Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam atau *analysis of varians* (Anova) pada taraf signifikansi 5% dengan model linier dari rancangan acak lengkap (Steel dan Torrie, 1993) yaitu :

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

Keterangan :

Y_{ij} = Profil lemak (Kadar trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL) serum ayam Kampung Super ke-j yang diberi perlakuan tepung fermentasi daun dan biji Pepaya dengan *C. crassa*.

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) profil lemak serum ayam Kampung Super

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

Hipotesisi statistik yang diuji :

$H_0 : \tau_i = 0$, tidak ada pengaruh perlakuan pemberian tepung fermentasi daun dan biji Pepaya terhadap kadar trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL dalam serum ayam Kampung Super.

$H_1 : \tau_i \neq 0$, setidaknya ada satu perlakuan pemberian tepung fermentasi daun dan biji Pepaya yang berpengaruh terhadap kadar trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL dalam serum ayam Kampung Super.

Kriteria pengambilan keputusan yaitu :

1. Apabila F hitung lebih kecil dari F tabel, maka H_0 diterima.
2. Apabila F hitung lebih besar dari F tabel, maka H_1 diterima dan dilanjutkan dengan uji jarak ganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993).