

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) DAN
ASAM SITRAT TERHADAP pH SEKUM DAN TOTAL BAKTERI ASAM
LAKTAT SERTA COLIFORM AYAM BROILER**

SKRIPSI

Oleh

ATYATURROWA FAJRIYANA



**PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKSN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) DAN
ASAM SITRAT TERHADAP pH SEKUM DAN TOTAL BAKTERI ASAM
LAKTAT SERTA *COLIFORM* AYAM BROILER

Oleh

ATYATURROWA FAJRIYANA
NIM : 23010121140161

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi S-1 Peternakan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Atiyaturrowa Fajriyana
N I M : 23010121140161
Program Studi : S-1 Peternakan

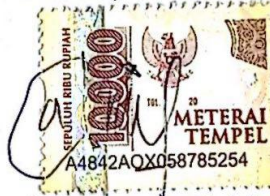
dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Efek pemberian ekstrak daun sirih hijau (*piper betle* L.) dan asam sitrat terhadap pH sekum dan total bakteri asam laktat serta *coliform* ayam broiler** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya 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 penuh dari Pembimbing yaitu : **Dr. Binti Ma'rifah, S.Pt., M.Si.** dan **Rina Muryani, S.Pt., M.Si.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026

Penulis,



Atiyaturrowa Fajriyana

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Dr. Binti Ma'rifah, S.Pt., M.Si.

Pembimbing Anggota

Rina Muryani, S.Pt., M.Si.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) DAN ASAM SITRAT TERHADAP pH SEKUM DAN TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT SERTA COLIFORM AYAM BROILER

Nama Mahasiswa : ATIYATURROWA FAJRIYANA

Nomor Induk Mahasiswa : 23010121140161

Program Studi/Departemen : S-1 PETERNAKAN / PETERNAKAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal **24 JUN 2026**

Pembimbing Utama

Dr. Binti Ma'rifah, S.Pt., M.Si.

Pembimbing Anggota

Rina Muryani, S.Pt., M.Si.

Ketua Program Studi

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

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Prof. Ir. Vitus Dwi Y.B.I., M.S., M.Sc., Ph.D., IPU.

Dekan



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

Ketua Departemen

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

RINGKASAN

ATIYATURROWA FAJRIYANA. 23010121140161. 2026. Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Asam Sitrat Terhadap pH Sekum dan Total Bakteri Asam Laktat serta *Coliform* Ayam Broiler. (Pembimbing: **BINTI MA'RIFAH** dan **RINA MURYANI**).

Ayam broiler merupakan jenis ayam ras pedaging yang memiliki pertumbuhan cepat dan efisiensi pakan yang tinggi sehingga banyak dibudidayakan untuk memenuhi kebutuhan daging. Dalam pemeliharaannya, kesehatan saluran pencernaan menjadi faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan dan produktivitas ayam. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian bahan aditif alami seperti ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan asam sitrat. Daun sirih hijau dikenal mengandung senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri dan dapat membantu menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen, sedangkan asam sitrat merupakan asam organik yang dapat menurunkan pH saluran pencernaan sehingga mendukung perkembangan bakteri menguntungkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak daun sirih dan asam sitrat dalam air minum terhadap pH sekum dan total bakteri asam laktat serta *coliform* ayam broiler dari fase *starter* sampai dengan fase *finisher*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2024 - Januari 2025 di Kandang Ayam Broiler Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Ternak yang digunakan yaitu 200 ekor *day old chick* ayam broiler strain Cobb 500 *unsexed* dengan bobot badan rata-rata $42,17 \pm 0,53$ g. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan, yang masing-masing ulangan terdiri dari 10 ekor ayam broiler. Perlakuan yang diberikan yaitu ekstrak daun sirih hijau + asam sitrat dengan komposisi T0 : air minum tanpa *feed additive* (kontrol), T1 : air minum + 1% ekstrak daun sirih hijau + 1% asam sitrat, T2 : air minum + 2% ekstrak daun sirih hijau + 1% asam sitrat, T3 : air minum + 3% ekstrak daun sirih hijau + 1% asam sitrat. Parameter yang diukur meliputi pH sekum, total bakteri asam laktat, dan *coliform* ayam broiler. Data diolah menggunakan analysis of variance (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% dengan uji F untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Apabila terdapat pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih hijau dan asam sitrat dalam air minum tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap pH sekum, total bakteri asam laktat, dan *coliform* ayam broiler.

Kesimpulan penelitian yaitu pemberian *feed additive* berupa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan asam sitrat melalui air minum pada ayam broiler belum memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap pH sekum, total bakteri asam laktat, dan *coliform* ayam broiler.

KATA PENGANTAR

Ayam broiler merupakan ayam hasil persilangan yang memiliki ciri khas tempramen tenang, memiliki ukuran badan yang besar, pertumbuhan pesat dalam waktu singkat dapat dipanen dengan daging yang dihasilkan berserat lunak serta efisiensi penggunaan pakan yang baik. Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang panas menyebabkan ayam broiler kesulitan untuk mengeluarkan panas tubuhnya sehingga terkena cekaman panas (*heat stress*) yang memicu terjadinya radikal bebas. Cekaman panas juga mengakibatkan gangguan pada pencernaan yaitu ketidak seimbangan reaksi asam dan basa pada saluran pencernaan yang menimbulkan peningkatan bakteri patogen dalam saluran pencernaan seperti bakteri *coliform*. Upaya yang dapat dilakukan untuk menangkal radikal bebas pada ayam broiler yaitu dengan pemberian *feed additive* alami seperti daun sirih hijau.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Swt. yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Asam Sitrat Terhadap pH Sekum dan Total Bakteri Asam Laktat serta *Coliform* Ayam Broiler” tepat pada waktunya.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro;

2. Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM. selaku Ketua Departemen Peternakan Fakultas Peternakan dan Pertanian;
3. Ir. Rudi Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM. selaku Ketua Program Studi S-1 Peternakan;
4. Ir. Teysar Adi Sarjana, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM. selaku Koordinator Laboratorium Produksi Ternak Unggas yang telah banyak memberikan bimbingan kepada penulis;
5. Dr. Binti Ma'rifah S.Pt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan masukan untuk penyusunan skripsi kepada penulis;
6. Rina Muryani, S.Pt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan kepada penulis;
7. drh. Ikania Agusetyaningsih, M.Pt. selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan saran kepada penulis;
8. Seluruh Dosen dan Staff Administrasi Program Studi Peternakan dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi;
9. Bapak Muslikhin dan Ibu Nur Khasanah kedua orang tua penulis serta kakak Rista Amelia yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis;
10. Alfarizi Qolbi, Arin, Anis, Nabila, Deva, Maulina, Diva, Septi, dan Nana selaku teman dekat yang menemani dan memberi semangat penulis;
11. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam pengambilan data.

Penulis menyadari bahwa di dalam proses penyusunan Skripsi ini memiliki kekurangan baik teknis penulisan maupun materi sehingga penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan kedepannya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis, bagi perusahaan ataupun bagi para pembaca umumnya.

Semarang, Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Ayam Broiler.....	4
2.2. <i>Feed Additive</i>	5
2.3. Daun Sirih Hijau.....	6
2.4. Asam Sitrat.....	8
2.5. Air Minum.....	9
2.6. Konsumsi Air Minum.....	11
2.7. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	13
2.8. Bakteri <i>Coliform</i>	14
2.9. pH.....	15
BAB III. MATERI DAN METODE.....	18
3.1. Materi.....	18
3.2. Metode.....	19
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1. Pengaruh Perlakuan terhadap pH Sekum Ayam Broiler.....	25

4.2. Pengaruh Perlakuan terhadap Total Bakteri Asam Laktat Sekum Ayam Broiler.....	28
4.3. Pengaruh Perlakuan terhadap <i>Coliform</i> Sekum Ayam Broiler.....	30
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN.....	33
5.1. Simpulan.....	33
5.2. Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN.....	44
RIWAYAT HIDUP.....	53

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kandungan Pakan Ayam Broiler.....	19
2. pH Sekum Ayam Broiler.....	25
3. Total Bakteri Asam Laktat Sekum Ayam Broiler.....	28
4. Total Bakteri <i>Coliform</i> Ayam Broiler.....	30

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Daun Sirih Hijau.....	6

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Analisis Ragam pH Sekum Ayam Broiler.....	44
2. Analisis Ragam BAL Sekum Ayam Broiler.....	47
3. Analisis Ragam Coliform Sekum Ayam Broiler.....	50

BAB I

PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan ayam ras pedaging hasil persilangan yang dipelihara secara khusus untuk menghasilkan daging. Ayam ini memiliki pertumbuhan yang sangat cepat, ukuran tubuh yang besar, serta kemampuan mengonversi pakan menjadi daging secara efisien sehingga dapat dipanen dalam waktu relatif singkat. Selain itu, ayam broiler menghasilkan daging yang memiliki tekstur lunak dan banyak diminati oleh masyarakat (Prastio *et al.*, 2022). Pada pemeliharaan ayam broiler, pakan berpengaruh sangat besar karena lebih dari 73% biaya produksi berasal dari pakan (Devadoss dan Luckstead, 2026). Pakan juga mempengaruhi kecepatan pertumbuhan ayam (Foni *et al.*, 2020). Indonesia merupakan negara yang mempunyai iklim tropis yang panas menyebabkan ayam broiler kesulitan untuk mengeluarkan panas tubuhnya sehingga terkena cekaman panas (*heat stress*) yang memicu terjadinya radikal bebas. Selain menyebabkan stres fisiologis, cekaman panas juga dapat mengganggu proses pencernaan akibat terganggunya keseimbangan asam dan basa di saluran cerna. Kondisi tersebut dapat memicu pertumbuhan bakteri patogen di dalam saluran pencernaan, termasuk bakteri *coliform* (Sugito *et al.*, 2005).

Upaya yang dapat dilakukan untuk menangkal radikal bebas pada ayam broiler yaitu dengan pemberian *feed additive* alami seperti daun sirih hijau. Daun sirih hijau merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Bagian daun paling sering digunakan karena memiliki

aroma yang khas serta mengandung beragam senyawa aktif, di antaranya minyak atsiri, flavonoid, saponin, polifenol, tanin, serta metabolit sekunder lain seperti estragol, eugenol, dan betle phenol. Pemberian daun sirih hijau sebagai antibiotik alami melalui air minum dinilai lebih efektif karena mampu memberikan respon lebih cepat dibandingkan pemberian melalui ransum. Hal ini berkaitan dengan laju digesta pada ayam broiler yang berlangsung relative cepat. Jika dicampurkan ke dalam ransum, senyawa bioaktif daun sirih hijau memerlukan waktu untuk larut terlebih dahulu di saluran pencernaan sehingga kerjanya menjadi kurang optimal. (Sudrajat *et al.*, 2015).

Air rebusan daun sirih hijau tidak menimbulkan efek toksik pada ayam broiler, sehingga berpotensi digunakan sebagai aditif alami untuk kesehatan ternak (Usu, 2024). Selain itu, air rebusan sebagai imbuhan pakan yang diberikan melalui pakan dan air minum terbukti dapat meningkatkan daya tahan tubuh ternak terhadap penyakit (Junaidi *et al.*, 2022). Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan asam sitrat diduga mampu memperbaiki kondisi mikrobiologis sekum ayam broiler melalui mekanisme sinergis antara aktivitas antimikroba senyawa fenolik daun sirih dan efek pengasaman oleh asam sitrat. Penurunan pH sekum dapat menciptakan lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhan bakteri *coliform*, sementara bakteri asam laktat relatif lebih mampu beradaptasi pada kondisi tersebut (Imam *et al.*, 2018). Selain itu, kandungan flavonoid, tanin, dan minyak atsiri pada daun sirih hijau diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen di saluran pencernaan (Parhusip *et al.*, 2023).

Mikroba merupakan organisme yang berukuran sangat kecil (biasanya kurang dari 1 milimikron) sehingga untuk mengamatinya diperlukan alat bantuan mikroskop. Mikroba terdapat hampir diseluruh saluran pencernaan terutama di dalam usus (Perdinan *et al.*, 2024). Mikroba yang terdapat dalam saluran pencernaan ayam broiler terdiri dari mikroba yang menguntungkan dan mikroba patogen yang merugikan (Aruwa *et al.*, 2021). Keberadaan mikroba yang seimbang dalam sistem pencernaan ayam broiler berperan dalam menjaga keesehatan, meningkatkan pencernaan pakan, serta menunjang efisiensi produksi (Clavijo dan Florez, 2018). Saluran pencernaan ayam broiler memiliki jumlah mikroba pendegradasi serat kasar yang relative terbatas, sehingga pemanfaatan serat sebagai sumber energi maupun nutrient menjadi kurang optimal (Rantjika *et al.*, 2016). Berdasarkan data diatas maka akan dilakukan penelitian dengan judul “Efek Pemberian Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Asam Sitrat Terhadap pH Sekum dan Total Bakteri Asam Laktat serta *Coliform* Ayam Broiler”.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak daun sirih dan asam sitrat dalam air minum terhadap pH sekum dan total bakteri asam laktat serta *coliform* pada ayam broiler. Manfaat penelitian ini yaitu untuk mengetahui informasi efek pemberian ekstrak daun sirih dan asam sitrat dalam air minum terhadap pH sekum dan total bakteri asam laktat serta *coliform* pada ayam broiler dari fase *starter* sampai dengan fase *finisher*. Hipotesis dari penelitian ini yaitu pemberian ekstrak daun sirih hijau dan asam sitrat dalam air minum diharapkan mampu meningkatkan jumlah bakteri asam laktat dan menurunkan bakteri patogen dan menyeimbangkan pH saluran pencernaan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ayam Broiler

Ayam broiler merupakan ternak unggas modern yang dikembangkan untuk produksi daging karena pertumbuhan yang cepat, dapat memanfaatkan pakan secara efisien, dan dapat dipanen pada umur 28 – 45 hari. Ayam broiler merupakan ayam hasil persilangan yang diproduksi khusus untuk produksi daging yang memiliki ciri khas pertumbuhan pesat dalam waktu singkat dan daging yang dihasilkan berserat lunak dan timbunan daging baik (Rukminimali *et al.*, 2019). Ayam broiler memiliki ukuran badan yang besar, penuh daging yang berlemak, temperamen cenderung tenang serta pertumbuhan badan yang cepat karena efisiensi penggunaan pakan yang tinggi (Wahyudi *et al.*, 2020). Perbedaan respon setiap strain terhadap kondisi lingkungan menyebabkan adanya variasi dalam kecepatan pertumbuhan (Pratiwi *et al.*, 2016).

Pertumbuhan ayam dipengaruhi oleh bangsa, jenis kelamin, umur, dan lingkungan tempat tinggal ayam yang berkaitan dengan manajemen kandang, suhu, kelembaban dan kecepatan angin (Syamsuryadi *et al.*, 2016). Pakan juga berpengaruh cukup besar pada kecepatan pertumbuhan ayam, dimana pakan yang baik mampu menghasilkan produksi yang tinggi (Foni *et al.*, 2020). Target bobot badan ayam yang dikehendaki pada waktu yang tepat, maka perlu dilakukan pemberian pakan dengan kualitas dan kuantitas pakan baik serta waktu dan cara pemberian yang tepat (Nova *et al.*, 2020).

2.2. *Feed Additive*

Feed additive merupakan suatu bahan atau zat tambahan yang dicampurkan ke dalam pakan dalam jumlah tertentu sesuai dengan batasan ukuran pemberian untuk mencapai tujuan tertentu dalam tubuh ternak (Abbas dan Nurdianti, 2025). *Feed additive* merupakan bahan tambahan non nutrisi yang digunakan dalam jumlah terbatas untuk meningkatkan performa pertumbuhan serta mendukung perkembangan mikroba baik di saluran pencernaan ayam (Daud *et al.*, 2023). Salah satu jenis *feed additive* yang saat ini banyak digunakan pada ayam broiler adalah fitobiotik. Fitobiotik merupakan bahan tambahan pakan alami yang berasal dari tumbuhan, seperti rempah, herba, atau ekstrak tanaman, yang mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid (Abdelli *et al.*, 2021).

Fitobiotik memiliki berbagai fungsi biologis yang bermanfaat bagi kesehatan dan performa ayam broiler. Senyawa bioaktif dalam fitobiotik bersifat antimikroba, antioksidan, dan imunomodulator, sehingga dapat menjaga keseimbangan mikrobiota saluran pencernaan dan meningkatkan integritas mukosa usus (Kikusato 2021). Selain itu, penggunaan fitobiotik dapat menjadi alternatif alami pengganti antibiotik pertumbuhan sintetis, dengan tetap mempertahankan performa pertumbuhan dan kesehatan ternak (Sinurat *et al.*, 2020). Dengan demikian, pemanfaatan fitobiotik sebagai *feed additive* tidak hanya meningkatkan performa pertumbuhan ayam broiler, tetapi juga mendukung kesehatan saluran pencernaan, keseimbangan mikrobiota usus, dan sistem imun ternak secara berkelanjutan.

2.3. Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak ditemukan di berbagai daerah di Indonesia (Pradhan *et al.*, 2022). Bagian daun pada sirih hijau memiliki aroma khas menjadi bagian yang paling banyak dimanfaatkan karena mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, polifenol, serta metabolit sekunder lainnya seperti estragol, eugenol, dan betle phenol (Sonphakdi *et al.*, 2024).

Klasifikasi dari tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) menurut (Mubeen *et al.*, 2014) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divison : *Magnoliophyta*
Class : *Piperales*
Family : *Piperaceae*
Genus : *Piper*
Spesies : *Piper betle* L.



Gambar 1. Daun Sirih Hijau (Rangkuti, 2023)

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung 4,2% minyak atsiri, yang komponen utamanya terdiri dari *betle phenol* dan beberapa derivatnya diantaranya *eugenol allypyrocatechine* 26,8 – 42,5%, *Cineol* 2,4 – 4,8%, *methyl eugenol* 4,2 – 15,%, *Caryophyllen* (*Siskuitерpen*) 3-9,8%, *hidroksi kavikol*, *kavikol* 7,2-16,7%, *kabivetol* 2,7-6,2%, *estragol*, *ilypyrokatekol* 9,6%, *karvakol* 2,2-5,6%, *alkaloid*,

flavonoid, *triterpenoid* atau *steroid*, *saponin*, *terpen*, *fenilpropan*, *terpinen*, *diastase* 0,8-1,8%, dan *tannin* 1-1,3% (Nisyak *et al.*, 2022). Senyawa fenol berupa karvakol serta fenilpropanoid seperti eugenol dan kavikol yang terkandung dalam minyak atsiri daun sirih hijau diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang kuat, baik sebagai bakterisida maupun fungisida (Kurniawati *et al.*, 2014).

Pemberian daun sirih hijau sebagai *feed additive* dilakukan untuk menangkal radikal bebas. *Feed additive* tidak termasuk zat makanan tetapi, ditambahkan dengan jumlah sedikit yang bertujuan untuk memacu pertumbuhan dan meningkatkan populasi mikroba yang menguntungkan yang ada di dalam saluran pencernaan ayam (Daud *et al.*, 2024). Kandungan senyawa kimia sintetis dalam *feed additive* komersial yang digunakan secara terus menerus akan mengakibatkan terjadinya residu antibiotik dan bahan kimia lainnya dalam produk ternak (Etikaningrum dan Iwantoro, 2017). *Feed additive* yang digunakan antara lain *acidifier* (asam sitrat) dan *fitobiotik* (ekstrak daun sirih hijau).

Keunggulan pemberian daun sirih hijau sebagai fitobiotik alami melalui air minum yaitu dapat memberikan respon yang lebih cepat dibandingkan pemberian melalui ransum, karena zat aktif yang diberikan melalui air minum dapat lebih cepat masuk ke dalam saluran pencernaan dan diserap oleh tubuh ternak (Svihus *et al.*, 2019). Hal ini berkaitan dengan karakteristik fisiologis ayam broiler yang memiliki laju pergerakan digesta (*digesta passage rate*) yang relatif cepat dalam saluran pencernaan, sehingga waktu retensi pakan di saluran pencernaan relatif singkat (Sitorus dan Sibarani, 2024). Zat bioaktif daun sirih hijau seperti *eugenol* dan *chavicol*, ketika diberikan dalam bentuk ransum, mengalami pelepasan lambat

karena sifat lipofiliknya dan proses pelarutan bertahap dalam saluran pencernaan, sebagaimana dijelaskan oleh (Pradhan *et al.*, 2021). Air rebusan daun sirih hijau sangat efektif untuk menjaga kesehatan ternak. Menurut Hilma *et al.* (2022) bahwa daun sirih hijau memiliki potensi sebagai antibakteri karena kandungan senyawa aktifnya, senyawa ini dapat mengganggu sintesis dinding sel, menghambat biosintesis asam nukleat, dan protein pada bakteri gram positif dan gram negatif, sehingga bakteri tidak berfungsi dan mati. Menurut Junaidi *et al.* (2022) ekstrak daun sirih hijau sebagai imbuhan air minum terbukti dapat meningkatkan daya tahan tubuh ternak terhadap penyakit.

2.4. Asam Sitrat

Asam sitrat merupakan salah satu asam organik yang berfungsi sebagai *acidifier* dengan cara menciptakan kondisi lebih asam pada saluran pencernaan. Kondisi tersebut dapat menurunkan pH, mempengaruhi laju digesta, serta menekan pertumbuhan bakteri patogen sehingga berdampak baik terhadap kesehatan saluran cerna dan pencernaan nutrient (Yendy *et al.*, 2014). Asam sitrat dapat merangsang peningkatan sekresi pepsin dan hormon pada proventikulus yang berfungsi dalam tahap awal pencernaan protein (Sutrisno *et al.*, 2016). Berdasarkan, fungsi dari asam sitrat yang mampu meningkatkan pencernaan nutrient, maka asam sitrat mampu meningkatkan bobot badan dan dapat memperbaiki konversi pada ransum.

Acidifier adalah *feed additive* berupa asam organik yang dapat diberikan melalui pakan atau air minum yang diharapkan dapat mendukung penyerapan nutrient pakan khususnya protein dengan baik (Hadiwiyanto *et al.*, 2022).

Pertumbuhan bakteri terutama bakteri asam laktat dapat dioptimalkan dengan penambahan *acidifier* dalam air minum. Sebagai *acidifier*, asam sitrat bekerja dengan menurunkan pH saluran pencernaan sehingga lingkungan usus menjadi kurang mendukung bagi pertumbuhan bakteri patogen (Hidayat *et al.*, 2018). Jenis dari *acidifier* yang dapat dimanfaatkan antara lain berupa *asam sitrat*, *asam laktat*, *asam formiat* atau *asam format*, *asam asetat*, maupun campuran beberapa asam organik.

2.5. Air Minum

Air minum merupakan air yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan tubuh akan cairan yang berperan penting dalam berbagai proses fisiologis tubuh (Popkin *et al.*, 2016). Air yang dianggap aman untuk diminum harus bebas dari kontaminasi bakteri, virus, serta bahan kimia berbahaya yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan (WHO, 2017). Air merupakan komponen penting dalam proses metabolisme tubuh manusia maupun hewan karena berperan dalam menjaga keseimbangan cairan tubuh, mengatur suhu tubuh, serta membantu proses pencernaan dan penyerapan nutrisi (Maughan dan Shirreffs, 2017). Selain itu, konsumsi air yang cukup juga bermanfaat untuk menjaga fungsi organ tubuh, menunjang kesehatan kulit, serta membantu proses transportasi nutrisi dan oksigen ke seluruh jaringan tubuh melalui sistem peredaran darah (Popkin *et al.*, 2016).

Air minum merupakan komponen penting bagi ternak karena berperan dalam mendukung proses pertumbuhan, reproduksi, serta menjaga kesehatan tubuh hewan (Aggrey *et al.*, 2023)). Kebutuhan ternak terhadap air minum dipengaruhi oleh

berbagai faktor seperti jenis ternak, umur, kondisi lingkungan atau suhu, serta tingkat aktivitas hewan (NRC, 2016). Pemberian air minum yang bersih dan berkualitas baik dapat mencegah terjadinya dehidrasi serta membantu mengoptimalkan performa ternak dalam hal pertumbuhan, produksi, dan fungsi reproduksi (Popkin *et al.*, 2016). Selain itu, ketersediaan air minum yang cukup juga memengaruhi pemanfaatan pakan oleh ternak karena air berperan penting dalam proses pencernaan dan penyerapan nutrisi di dalam saluran pencernaan (Angel *et al.*, 2015).

Kebutuhan air minum pada hewan ternak sangat bergantung pada berbagai faktor seperti jenis ternak, umur, kondisi lingkungan atau suhu, serta tingkat aktivitas hewan (Angel *et al.*, 2015). Kebutuhan air minum pada hewan ternak sangat dipengaruhi oleh jenis hewan, umur, kondisi cuaca, dan tingkat aktivitas, di mana ayam broiler dalam fase pertumbuhan intensif membutuhkan air dalam jumlah besar untuk mendukung metabolisme dan sintesis jaringan tubuh, sebagaimana dijelaskan oleh (Kubade *et al.*, 2021; George *et al.*, 2024; Bachkar *et al.*, 2025). Pemberian air bersih dengan kualitas tinggi dapat mencegah dehidrasi dan membantu mengoptimalkan performa hewan dalam hal pertumbuhan bobot badan, produksi dan efisiensi reproduksi, sebagaimana dijelaskan oleh (Wisser *et al.*, 2024). Air juga berperan dalam meningkatkan kualitas makanan yang dikonsumsi hewan, karena air membantu melarutkan dan menyerap nutrisi dari pakan.

Air yang tidak steril dapat mengandung mikroorganisme patogen seperti *Salmonella* dan *Escherichia coli*, yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan

seperti diare, penurunan nafsu makan, dan penghentian pertumbuhan, sebagaimana dijelaskan oleh (Wu *et al.*, 2018). Dalam jangka panjang, kontaminasi air dalam sistem peternakan dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan akibat meningkatnya angka kematian dan penurunan produktivitas, sebagaimana dijelaskan oleh (Wisser *et al.*, 2024). Oleh karena itu, air minum ternak harus dikelola dengan hati-hati mulai dari sumber, penyimpanan, hingga distribusi agar tetap bersih dan layak konsumsi.

2.6. Konsumsi Air Minum

Air sangat penting bagi ternak unggas dan berperan dalam proses biologis dan kimiawi tubuh ternak, jadi memastikan bahwa ayam di kandang selalu memiliki air adalah kunci keberhasilan budidaya ayam (Yoris dan Fredriksz, 2019). Metode pemberian air minum dengan cara *ad libitum* yaitu dilakukan secara terus menerus. Konsumsi air minum dapat diukur dengan cara jumlah air minum yang diberikan untuk ayam dikurangi jumlah air minum yang tersisa kemudian hasilnya dicatat (Qurniawan *et al.*, 2016). Setelah pengukuran konsumsi air minum dilakukan setiap hari hitung rata-ratanya dalam satuan ml/ekor/periode (Wenda *et al.*, 2022).

Faktor yang mempengaruhi jumlah konsumsi air minum ayam adalah jenis ayam, aktivitas, dan lingkungan ayam (Pertiwi *et al.*, 2017). Suhu di dalam kandang juga mempengaruhi jumlah konsumsi air minum ayam (Haroen dan Budiansyah, 2018). Penambahan zat bioaktif pada air minum ayam juga dapat mempengaruhi tingkat konsumsi air minum ayam. Ketersediaan air minum sangat diperlukan oleh ayam broiler karena berperan dalam mendukung proses pencernaan dan

metabolisme melalui aktivitas enzim hidrolisis, membantu transportasi zat antar membrane, menjaga suhu tubuh tetap stabil, serta memfasilitasi distribusi nutrisi dan hormon (Nagari dan Sunarno, 2022). Ayam broiler tidak berkeringat, sehingga mereka mengatur suhu tubuhnya melalui evaporasi air di sistem pernapasan (Putra *et al.*, 2022). Konsumsi air meningkat pada suhu lingkungan yang tinggi sebagai upaya untuk mengurangi panas (Masti *et al.*, 2020). Air dibutuhkan untuk metabolisme nutrisi dan ekskresi limbah metabolik melalui ginjal (Silitonga *et al.*, 2022).

Konsumsi air dapat dipengaruhi oleh fase pertumbuhan ayam broiler. Pada fase starter, konsumsi air lebih sedikit dibandingkan dengan fase grower dan finisher, dimana pertumbuhan dan metabolisme berlangsung dengan cepat (Hardiawan *et al.*, 2021). Ketersediaan dan sistem pemberian air seperti tipe *nipple drinker* atau *bell drinker* dapat mempengaruhi aksesibilitas ayam terhadap air minum (Iyasere *et al.*, 2021). Sistem pemberian air minum yang baik harus memastikan pasokan air yang bersih, tersedia setiap saat, dan cukup mudah diakses oleh ayam terutama pada kandang dengan populasi yang padat (Nainggolan *et al.*, 2024). Air dengan kualitas buruk seperti mengandung kontaminan bakteri, mineral berat, atau kadar garam yang tinggi dapat mempengaruhi kesehatan ayam dan konsumsi air (Widyaningrum dan Resi, 2023). Air yang mengandung kadar nitrat, besi, atau magnesium yang berlebihan dapat berdampak negatif pada sistem metabolisme dan menurunkan efisiensi pemanfaatan air (Maulia dan Normila, 2024).

2.7. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme Gram-positif yang bersifat anaerob fakultatif dan mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utama. Bakteri asam laktat memiliki peran penting dalam mempertahankan keseimbangan microbiota usus serta mendukung kesehatan saluran pencernaan ayam broiler. Dalam sekum ayam broiler, BAL seperti *Lactobacillus sp.*, *Enterococcus sp.*, dan *Pediococcus sp.* ditemukan dalam jumlah yang signifikan, dengan populasi yang dapat mencapai 10^6 hingga 10^8 CFU/g isi sekum tergantung pada umur ayam dan kondisi pemeliharaan. Studi oleh Wang *et al.* (2017) menunjukkan bahwa suplementasi probiotik BAL dapat meningkatkan jumlah BAL dalam sekum serta memperbaiki performa pertumbuhan dan efisiensi pakan. Keberadaan BAL di sekum juga berkontribusi dalam penghambatan pertumbuhan patogen melalui kompetisi nutrisi dan produksi senyawa antimikroba.

Bakteri dalam sistem pencernaan berperan penting dalam meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak dengan mempengaruhi morfologi usus, penyerapan nutrisi, patogenitas, dan imunitas. Hal ini sesuai dengan pendapat Verawati dan Nurcahyo (2023) bahwa bakteri asam laktat di dalam sistem pencernaan membantu menjaga keseimbangan mikroflora dan memperkuat sistem kekebalan tubuh. Bakteri asam laktat (BAL) memainkan peran sentral dalam ekosistem mikroba usus ayam broiler, khususnya di bagian sekum yang merupakan tempat fermentasi utama. BAL tidak hanya berfungsi sebagai probiotik alami, tetapi juga berkontribusi dalam metabolisme nutrisi, produksi asam organik, dan

modulasi sistem imun. Studi oleh Oakley *et al.* (2014) menunjukkan bahwa komunitas mikroba di sekum ayam broiler sangat dinamis dan dipengaruhi oleh faktor umur, diet, serta penggunaan antibiotik.

Pertumbuhan mikroba di saluran pencernaan dipengaruhi oleh usia, respon imun, pakan, dan antibiotik. Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa bakteriosin yang memiliki aktivitas antimikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen. Peran bakteri dalam saluran pencernaan yaitu membantu dalam mencerna senyawa yang sulit dicerna, seperti serat. Bakteri tertentu dapat membantu meningkatkan pemanfaatan nutrisi dengan menghasilkan enzim hidrolitik yang menguraikan karbohidrat kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan mudah diserap. Bakteri berfungsi untuk menghalangi pertumbuhan patogen dengan cara bersaing untuk ruang dan nutrisi, serta memproduksi substansi antimikroba yang dapat menanggulangi mikroorganisme berbahaya. Menurut penelitian oleh Lebeer *et al.* (2018), strain *Lactobacillus sp.* mampu menempel pada epitel usus dan membentuk biofilm yang menghalangi adhesi patogen. Selain itu, bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL menunjukkan aktivitas spesifik terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, termasuk *Salmonella sp.* dan *Listeria monocytogenes*. Studi lain oleh Plaza-Diaz *et al.* (2019) menegaskan bahwa interaksi mikroba dengan sistem imun juga memperkuat pertahanan mukosa terhadap invasi patogen.

2.8. Bakteri *Coliform*

Bakteri *coliform* merupakan kelompok mikroorganisme Gram-negatif yang bersifat fakultatif anaerob dan umumnya digunakan sebagai indikator kontaminasi fekal serta kebersihan lingkungan usus. Kelompok ini mencakup genera seperti *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Citrobacter*. Dalam konteks kesehatan unggas, keberadaan *coliform* di saluran pencernaan, khususnya sekum, dapat mencerminkan status mikrobiota dan potensi risiko infeksi patogen. Studi oleh Sulfani *et al.* (2018) menunjukkan bahwa jumlah coliform dalam sekum ayam broiler berumur 35 hari berkisar antara 10^6 hingga 10^7 CFU/g. Mikroba tersebut dapat memberikan dampak negatif pada ayam broiler dengan menghasilkan toksin, menggunakan nutrisi esensial untuk pertumbuhannya sendiri, serta menghambat perkembangan mikroba yang berperan dalam proses pencernaan. Populasi bakteri *coliform* yang terlalu tinggi dapat menyebabkan diare pada ayam broiler, sehingga terjadi kehilangan cairan tubuh dalam jumlah yang cukup besar.

Bakteri *coliform*, yang terdiri dari genus seperti *Escherichia*, *Enterobacter*, dan *Klebsiella*, merupakan indikator penting dalam menilai kebersihan dan kesehatan saluran pencernaan ayam broiler. Keberadaan *coliform* di sekum dapat mencerminkan potensi kolonisasi patogen dan gangguan mikrobiota. Studi oleh Ranjitkar *et al.* (2016) menunjukkan bahwa komposisi mikroba di saluran pencernaan ayam broiler mengalami perubahan signifikan seiring bertambahnya usia, dengan peningkatan diversitas bakteri di sekum pada hari ke-36. Coliform cenderung menurun seiring terbentuknya komunitas mikroba yang lebih stabil dan kompetitif.

2.9. pH Sekum Ayam Broiler

Saluran pencernaan ayam broiler memiliki pH yang relatif asam dipengaruhi oleh kesehatan ayam, nutrisi pakan, dan keseimbangan bakteri. pH pada sekum ayam broiler merupakan parameter penting yang mencerminkan kondisi mikrobiologis dan fermentatif dalam saluran pencernaan bagian bawah. Sekum berfungsi sebagai tempat fermentasi serat dan karbohidrat kompleks oleh mikrobiota usus, menghasilkan asam organik seperti asam asetat, propionat, dan butirat yang berkontribusi terhadap penurunan pH lokal. pH normal pada sekum ayam broiler umumnya berada dalam kisaran 5,5 - 6,5, tergantung pada umur ayam, jenis pakan, dan perlakuan nutrisi yang diberikan.

Nilai pH mencerminkan aktivitas fermentatif mikrobiota usus, terutama produksi asam organik seperti asam asetat, propionat, dan butirat yang dihasilkan oleh bakteri fermentatif. Studi oleh Nkukwana *et al.* (2015) menunjukkan bahwa pH sekum ayam broiler berumur 35 hari berkisar antara 6,0 hingga 6,5. Penurunan pH sekum biasanya dikaitkan dengan peningkatan populasi bakteri asam laktat dan penurunan jumlah bakteri patogen, sehingga lingkungan usus menjadi lebih sehat dan mendukung penyerapan nutrisi secara optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Saputra *et al.* (2023) bahwa menurunnya pH sekum dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen sekaligus mendorong pertumbuhan bakteri non-patogen, memperbaiki keseimbangan mikroba, dan meningkatkan penyerapan nutrisi, sehingga memenuhi kebutuhan nutrisi unggas.

pH yang sesuai mendukung aktivitas enzim pencernaan, memungkinkan pemecahan nutrisi yang lebih baik. Sebaliknya, perubahan pH yang ekstrim dapat

menurunkan efisiensi pencernaan. Mikroflora dan pH usus merupakan faktor penting dalam menunjang kesehatan dan pertumbuhan ayam broiler. Memahami interaksi antara bakteri, pH, dan kesehatan pencernaan dapat membantu peternak dalam merancang strategi pengelolaan yang efektif. Dengan menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan kestabilan pH saluran pencernaan merupakan salah satu upaya penting untuk meningkatkan efisiensi penggunaan pakan, mendukung kesehatan saluran pencernaan serta mengoptimalkan produktivitas ayam broiler. pH dalam usus halus dan sekum harus baik untuk mendukung perkembangan mikroba, karena mikroba utama yang terdapat dalam tembolok, usus halus dan sekum adalah golongan bakteri *Lactobacillus*, yang merupakan organisme yang tidak tahan asam (Sari *et al.*, 2014).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Asam Sitrat Terhadap pH Sekum dan Total Bakteri Asam Laktat serta *Coliform* Ayam Broiler” dilaksanakan pada bulan Desember 2024 – Januari 2025 di kandang Laboratorium Produksi Ternak Unggas, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Materi dan metode penelitian menguraikan tentang :

3.1 Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian meliputi 200 ekor ayam broiler *day old chick* (DOC) strain Cobb *unsex* dengan rata-rata bobot badan $42,17 \pm 0,53$ g. Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak daun sirih hijau, aquades, asam sitrat, ransum komersil dengan kandungan nutrisi yang tertera pada tabel 1.

Alat yang digunakan meliputi kandang litter dengan ukuran 80 x 80 cm, tempat pakan dan minum pada setiap kandang, thermohygrometer untuk mengamati suhu, dan kelembaban udara dalam kandang, timbangan analitik yang digunakan untuk menimbang ekstrak daun sirih, timbangan digital untuk menimbang pertambahan bobot badan harian.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Ransum Komersial BR 1 dan BR 2

Kandungan Nutrien	Fase <i>Starter</i>	Fase <i>Finisher</i>
Energi Metabolis (kkal/kg) ²⁾	3.082,56	3.116,27
Protein Kasar (%) ¹⁾	21,88	19,63
Lemak Kasar (%) ¹⁾	4,59	4,74
Serat Kasar (%) ¹⁾	4,41	4,32
Kalsium (Ca) (%) ¹⁾	1,05	1,08
Fosfor (P) (%) ¹⁾	0,76	0,81

Keterangan: ¹⁾ Ransum dianalisis proksimat dan mineral di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang (2024) ;

²⁾ Hasil perhitungan rumus Bolton (1967) dalam Sugiharto *et al.* (2017).

3.2 Metode

3.2.1 Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan, masing – masing unit percobaan terdiri dari 10 ekor ayam DOC broiler, sehingga ada 20 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan yaitu ekstrak daun sirih hijau + asam sitrat sebagai berikut :

T0 = Air minum tanpa penambahan ekstrak daun sirih dan asam sitrat (kontrol)

T1 = Air minum + *ekstrak daun sirih* 1% + asam sitrat 1%

T2 = Air minum + *ekstrak daun sirih* 2% + asam sitrat 1%

T3 = Air minum + *ekstrak daun sirih* 3% + asam sitrat 1%

3.2.2 Prosedur penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap, yaitu pra-penelitian, penelitian, pengambilan data, dan analisis data. Tahap pra-penelitian yaitu persiapan materi penelitian dan persiapan kandang. Persiapan kandang dimulai

dengan membersihkan tempat pakan dan minum menggunakan desinfektan. Sanitasi kandang dilakukan dengan mencuci kandang dengan menggunakan air dan deterjen setelah itu dilakukan pengapuran. Fumigasi kandang dilakukan dengan menggunakan campuran formalin dan KMnO_4 dengan perbandingan 2:1 dan didiamkan kurang lebih 3 hari untuk dapat digunakan. Kandang *litter* disusun secara acak dan dilengkapi dengan lampu sebagai pemanas dan disiapkan sekam dengan ketinggian 10 cm. Langkah terakhir yaitu *pre-heating* pada suhu 33-34°C.

Pembuatan ekstrak daun Sirih dilakukan dengan menggunakan *decoction method* menurut Kaneria *et al.* (2012). Daun sirih hijau diperoleh dari lingkungan sekitar Universitas Diponegoro (Tembalang). Kriteria daun sirih yang digunakan yaitu daun sirih yang masih segar atau berwarna hijau muda, tidak ada kerusakan, bersih bebas dari kontaminasi dan setelah dipetik kemudian diangin-anginkan atau dijemur pada tempat yang tidak langsung terkena sinar matahari untuk menghindari kerusakan senyawa aktif, kemudian daun dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 30 – 40°C selama 24 jam. Kandungan air pada daun sirih setelah proses pengeringan harus mencapai 10%, kandungan air daun sirih dapat diindikasikan dengan melakukan uji organoleptik seperti daun mudah patah/rapuh saat diremas atau dilipat, tidak terasa dingin atau lembap saat disentuh, dan warna hijau pada daun sirih berubah menjadi hijau kecoklatan. Daun sirih yang telah kering selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk bertekstur halus menyerupai tepung.

Tepung daun sirih dilarutkan ke dalam aquades dengan perbandingan 1 : 20 (1gr tepung daun sirih dalam 20ml aquades), kemudian dipanaskan dalam

waterbath dengan suhu 100°C selama 30 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang kemudian disaring menggunakan kain (Ali *et al.*, 2018). Ekstrak disimpan dalam suhu refrigerator (1 - 4°C). Asam sitrat ditambahkan dalam air minum pada saat akan diberikan dengan komposisi 1% dari kebutuhan air minum (Sari *et al.*, 2023).

Tahap penelitian dilaksanakan selama 5 minggu. Pakan disusun sesuai dengan standar umur dan kebutuhan ayam broiler pada setiap unit percobaan. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Perlakuan dimulai pada umur 8 hari. Pada fase starter diberi pakan dengan kandungan Energi metabolis (EM) 3.082, 56 kkal/kg dan kandungan protein kasar (PK) sebesar 21,88 % . Fase finisher diberi pakan dengan kandungan energi metabolis (EM) sebesar 3.116,27 kkal/kg dan mengandung protein kasar (PK) sebesar 19,63 %. Pada saat pergantian pakan dilakukan adaptasi dengan cara pemberian pakan dengan perbandingan 75:25, 50:50, 25:75, 100. Adaptasi pakan diperlukan untuk mengurangi stress metabolik, memberi waktu bagi ayam untuk meningkatkan produksi enzim pencernaan (termasuk protease dan amilase), serta menurunkan mortalitas dan masalah kesehatan usus.

Pencampuran ekstrak daun sirih dan asam sitrat dilakukan sesaat sebelum diberikan dan air minum diberikan secara *adlibitum*. Pencahayaan diatur sesuai dengan periode pemeliharaan, ventilasi kipas dan buka tutup tirai.

3.2.3 Pengumpulan data

Pengambilan sampel untuk menghitung pH, total bakteri asam laktat dan *coliform* sekum ayam broiler dilakukan dengan menggunakan sampel satu ekor ayam broiler setiap unit percobaan setelah 35 hari pemeliharaan. Ayam disembelih, kemudian ayam dicelupkan ke dalam air bersuhu normal untuk membersihkan sisa darah pada tubuh ayam. Pengambilan sampel sekum dilakukan dengan membelah bagian dada ayam sehingga saluran pencernaan dapat dikeluarkan dan diambil dengan mudah. Sekum diidentifikasi sebagai dua kantong berbentuk memanjang yang terletak pada persimpangan antara ileum dan usus besar. Pengambilan digesta dilakukan dengan memegang sekum menggunakan forceps steril, kemudian sekum dipisahkan secara hati-hati dari jaringan sekitarnya. Digesta sekum dikeluarkan dengan cara menggunting ujung sekum dan ditekan perlahan ke dalam botol sampel sebanyak 1 gr/ekor. Selanjutnya dimasukkan kedalam *cooling box* untuk diukur pH, menghitung total bakteri asam laktat, dan *coliform*. Pengukuran pH dilakukan dengan mengeluarkan digesta dari sekum dan menampungnya dalam botol sampel sebanyak 1 g. Digesta kemudian dicampurkan dengan 1 ml aquades hingga homogen sebagai tahap pengenceran, selanjutnya nilai pH diukur menggunakan pH meter. Enumerasi total bakteri diawali dengan proses pengenceran sampel digesta sekum secara bertingkat. Sebanyak 1 g sampel digesta sekum ditambahkan ke dalam 9 ml aquades steril dan dihomogenkan sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, sebanyak 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-1} dipindahkan ke dalam 9 ml aquades steril untuk memperoleh pengenceran 10^{-2} . Tahapan ini dilakukan secara berulang hingga diperoleh pengenceran akhir sebesar 10^{-8} untuk analisis

total bakteri asam laktat (BAL) dan 10^{-6} untuk analisis total bakteri coliform. Pengenceran dilakukan secara *duplo*, kemudian digunakan untuk proses penanaman pada media MRS agar untuk bakteri asam laktat dan *Mac Conkey* agar untuk menghitung *coliform*. Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan menggunakan *total plate count* (TPC) dengan metode tebar (*spread plate*) dengan rumus menurut (Ferdiaz, 1993) sebagai berikut :

$$\text{Total Bakteri} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

3.2.4 Analisis data

Data akan dianalisis dengan sidik ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila ada pengaruh perlakuan akan dilanjutkan dengan *uji Duncan* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Model matematis dari Rancangan acak Lengkap atau RAL sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad ; i = (0,1,2,3) \text{ dan } j = (1,2,3,3,5)$$

Keterangan :

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

μ = nilai tengah umum (rata-rata) hasil pengamatan

τ_i = pengaruh perlakuan *feed additive* ke-i

ε_{ij} = pengaruh galat dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Hipotesis statistika dari penelitian ini adalah:

H_0 : $\tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_4 = 0$, (yang berarti tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau dan asam sitrat terhadap total bakteri asam laktat dan *coliform*, serta pH usus ayam broiler).

H1 : minimal ada satu $\tau_i \neq 0$ (1,2,3,4,5), (yang artinya minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak daun sirih hijau dan asam sitrat terhadap total bakteri asam laktat dan *coliform*, serta pH usus ayam broiler)

Kriteria Pengujian adalah sebagai berikut:

- Jika F hitung < F tabel maka H0 diterima dan H1 ditolak.
- Jika F hitung $\geq$ F tabel maka H0 ditolak dan H1 diterima.

Data yang diperoleh dari penelitian ini selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan prosedur analisis ragam (*Analysis of Variance* / ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Jika terdapat pengaruh perlakuan dilanjutkan dengan Uji Duncan untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan.