

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang profil leukosit dan trombosit ayam broiler yang diberi ransum menggunakan nasi aking fermentasi dengan *C. crassa*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli – September 2019 di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150 ekor ayam broiler strain *Lohman* dengan bobot awal rata-rata yaitu $36,023 \pm 1,07$ g. Materi lain yaitu vaksin ND-AI, vaksin ND-IB, nasi aking, *C. crassa*, filtrat kentang, air, agar, dextrose, chloramphenicol dan alkohol.

Peralatan yang digunakan adalah 15 pen kandang ukuran 1 m x 1 m, 20 lampu bohlam 100 watt sebagai sumber pemanas kandang pada periode *brooder*, 15 lampu bohlam 60 watt sebagai sumber pemanas kandang pada periode *grower* hingga *finisher*, thermohigrometer untuk mengukur suhu dan kelembaban, timbangan gantung untuk menimbang bobot badan ayam broiler setiap satu minggu sekali, timbangan digital untuk menimbang konsumsi, *sprit* 5 ml, vacuntainer *Ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA), *cooling box* dan *ice pack*.

3.2. Metode

3.2.1 Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan, sehingga terdapat 15 unit percobaan.

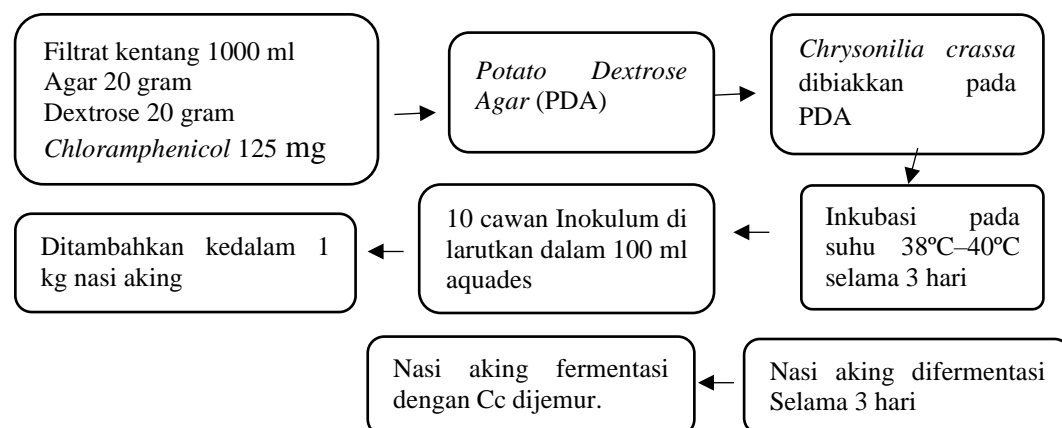
Perlakuan yang diberikan yaitu :

C0 :	Ransum kontrol
C1 :	Ransum yang mengandung 5% nasi aking fermentasi dengan <i>C. crassa</i>
C2 :	Ransum yang mengandung 10% nasi aking fermentasi dengan <i>C. crassa</i> .

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah profil darah putih meliputi total leukosit, limfosit, heterofil dan trombosit.

3.2.2 Prosedur penelitian

Tahap persiapan penelitian meliputi pembuatan *C. crassa*, fermentasi bahan pakan, penyusunan ransum, dan persiapan kandang. Pembuatan *C. crassa* dan proses fermentasi nasi aking disajikan pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Pembuatan Nasi Aking Fermentasi dengan *Chrysonilia crassa*

Tahap pertama pembuatan fermentasi nasi aking yaitu dilakukan pembuatan (PDA) sebagai media untuk membiakkan kapang *C. crassa*. PDA disiapkan dari bahan filtrat kentang sebanyak 1000 ml, dextrose 20 gram, agar 20 gram, dan antibiotik *chloramphenicol* 125 mg. Filtrat kentang, agar, dan dextrose tersebut dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 1000 ml, kemudian di homogenkan menggunakan *magnetic steerer*. PDA disterilisasi pada autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit, kemudian dikeluarkan dan dibiarkan hingga mencapai suhu kurang lebih 45°C, kemudian antibiotik *chloramphenicol* 125 mg ditambahkan ketika PDA sudah hangat kuku supaya mikroorganismenya tidak mati, lalu dituangkan dicawan. PDA dituangkan ke cawan yang telah steril dan dimasukkan ke dalam inkubator. Tahap selanjutnya yaitu dilakukan perbanyakan jamur dengan inokulan. Inkubasi cawan inokulum dilakukan selama 3 hari pada suhu 38°C.

Pemanenan jamur dilakukan dengan cara setiap satu cawan inokulum dilarutkan dalam 10 ml aquades. Kemudian menyiapkan 1 kg nasi aking dimasukkan ke dalam plastik serta disterilisasi menggunakan *steamer* pada suhu 100°C selama 1 jam. Nasi aking yang sudah disterilisasi didinginkan dan setiap 1 kg nasi aking tersebut ditambahkan 100 ml *C. crassa* yang telah dilarutkan menggunakan aquades lalu diaduk supaya homogen. Nasi aking yang sudah dicampurkan dengan *C. crassa* tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik yang sudah dilubangi supaya ada sirkulasi udara dan dibiarkan selama 4 hari setelah itu, dijemur di bawah sinar matahari. Perlakuan 5% dan 10% nasi aking fermentasi dengan *C. crassa* mengandung $5,6 \times 10^{12}$ koloni.

Tahap penyusunan ransum dengan menyiapkan beberapa bahan pakan antara lain limestone, *dicalcium phosphate*, premix, NaCl, MBM, jagung kuning, *soybean oil*, bungkil kedelai, DL-methionine, L-Lysine dan nasi aking fermentasi. Penyusunan ransum dilakukan dengan penghitungan kebutuhan nutrisi ayam broiler. Masing-masing bahan pakan ditimbang sesuai dengan komposisi. Formulasi dan komposisi ransum untuk periode *starter* dan *finisher* disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Formulasi Ransum dan Kandungan Nutrien Pakan Fase *Starter*

Bahan pakan (%)	C0	C1	C2
Jagung	54,80	50,80	47,00
Bungkil Kedelai	35,70	35,00	34,25
<i>MBM</i>	4,70	4,70	4,70
<i>Soybean Oil</i>	1,55	1,25	0,80
<i>DL-methionine</i>	0,30	0,30	0,30
<i>L-Lysine</i>	0,20	0,20	0,20
<i>Limestone</i>	0,50	0,50	0,50
<i>Dicalcium phosphate</i>	1,50	1,50	1,50
<i>Premix</i>	0,50	0,50	0,50
NaCl	0,25	0,25	0,25
Nasi aking Fermentasi	0,00	5,00	10,00
Total	100,00	100,00	100,00
Kandungan Nutrien Ransum ¹⁾			
Protein Kasar (%)	22,04	22,04	22,03
Energi metabolisme (kkal/kg)	2901,00	2907,00	2905,00
Serat Kasar (%)	5,59	5,32	5,07
Kalsium (%)	1,20	1,18	1,16
Posfor (%)	0,74	0,72	0,70
Lisin (%)	1,23	1,24	1,24
Methionin (%)	0,59	0,58	0,58

¹⁾ Hasil perhitungan berdasarkan kandungan nutrisi masing-masing bahan pakan

Tabel 2. Formulasi Ransum dan Kandungan Nutrien Pakan Fase *Finisher*

Bahan pakan (%)	C0	C1	C2
Jagung	58,50	54,55	50,66
Bungkil kedelai	32,65	31,95	31,24
<i>MBM</i>	2,35	2,35	2,35
<i>Soybean Oil</i>	3,25	2,90	2,50
<i>DL-methionine</i>	0,30	0,30	0,30
<i>L-Lysine</i>	0,20	0,20	0,20
<i>Limestone</i>	0,50	0,50	0,50
<i>Dicalcium phosphate</i>	1,50	1,50	1,50
<i>Premix</i>	0,50	0,50	0,50
NaCl	0,25	0,25	0,25
Nasi Aking Fermentasi	0,00	5,00	10,00
Total	100,00	100,00	100,00
Kandungan Nutrien Ransum¹⁾			
Protein Kasar (%)	20,04	20,04	20,04
Energi Metabolisme (kkal/kg)	3063,00	3066,00	3066,00
Serat Kasar (%)	5,54	5,28	5,02
Kalsium (%)	1,08	1,06	1,04
Posfor (%)	0,68	0,66	0,64
Lisin (%)	1,15	1,16	1,17
Methionine (%)	0,58	0,57	0,56

¹⁾ Hasil perhitungan berdasarkan kandungan nutrien masing- masing bahan pakan

Persiapan selanjutnya adalah persiapan kandang, pengadaan peralatan yang dibutuhkan, seperti tempat pakan, tempat minum, lampu, sekam, dan timbangan analitik yang dimulai dengan pembersihan kandang, pengapuran dilakukan agar mikroorganisme patogen tidak tumbuh dan berkembang. Pemasangan tirai dilakukan di sekeliling kandang agar udara dari lingkungan luar tidak masuk secara langsung. Instalasi listrik dipasang pada setiap pen, sekam, peralatan pakan, minum, dimasukkan ke dalam kandang untuk dilakukan fumigasi. Bahan yang digunakan untuk fumigasi yaitu formalin dan kalium permanganate. Setelah

difumigasi, kandang ditutup rapat dan dibiarkan selama 2 hari, lalu dibuka dan kandang siap untuk digunakan.

Tahap pemeliharaan dimulai pada saat anak ayam datang (*chick in*) dilakukan pemberian air minum berupa larutan gula. DOC ditimbang untuk mengetahui bobot badan awal. Minggu pertama diberi pakan kontrol, sedangkan perlakuan pakan diberikan pada minggu kedua dimana pakan diberikan secara *ad libitum* dan air minum diberikan dengan frekuensi pemberian 2-4 kali/hari. Vaksinasi diberikan pada hari ke-4 dengan vaksin ND-AI melalui tetes mata dan vaksin ND-IB pada hari ke 18 melalui air minum. Penimbangan bobot badan ternak dilakukan setiap minggu.

3.2.3 Pengambilan data

Tahap pengambilan data dilakukan pada akhir penelitian yaitu hari ke 42. Metode pengambilan darah dilakukan dengan mengambil satu ekor ayam secara acak pada setiap unit percobaan. Pengambilan darah dilakukan melalui pembuluh vena *brachialis* menggunakan spuit. Darah diambil sebanyak 1 ml dan ditampung pada vakuntainer berisi EDTA. Pengocokan tabung dilakukan secara perlahan membentuk angka delapan dan tabung segera di masukkan ke dalam *cooling box*. Sampel selanjutnya dibawa ke laboratorium kesehatan hewan untuk dianalisis total leukosit dan diferensial leukosit dengan metode *electrical impedance* dengan alat *hematology analyzer*.

3.2.4. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis ragam dengan model linear dari rancangan acak lengkap (Gomez dan Gomez, 1995) yaitu:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}; i = (1, 2, 3) \text{ dan } j = (1, 2, 3, 4, 5)$$

Keterangan :

Y_{ij} = Profil darah putih ayam broiler ulangan ke-j akibat pengaruh pemberian nasi aking fermentasi dengan *C. crassa* pemberian ke-i ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) profil darah putih ayam broiler

$\tau_{i \text{ c}j \times}$ = Pengaruh penggunaan nasi aking fermentasi dengan *C. crassa* persentase pemberian ke-i

ϵ_{ij} = Perlakuan galat percobaan pengaruh pemberian nasi aking fermentasi dengan *C. crassa* dengan persentase pemberian ke-i ulangan ke-j

Hipotesis statistik yang diuji yaitu :

$H_0 : \tau_i = 0$: tidak ada pengaruh perlakuan pemberian nasi aking fermentasi dengan *C. crassa* terhadap profil darah putih ayam broiler

$H_1 : \tau_i \neq 0$: ada pengaruh penambahan nasi aking fermentasi dalam ransum terhadap profil darah putih ayam broiler.

Kriteria pengujian hipotesis :

- 1) Jika $F \text{ hitung} \leq F \text{ tabel}$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak dan
- 2). Jika $F \text{ hitung} \geq F \text{ tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima maka dilanjut uji beda Duncan pada taraf 5%