

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Metode Pemberian Probiotik *Lactobacillus* sp. yang Berbeda terhadap Bobot Relatif Organ Imun Ayam *Broiler* Fase *Finisher*“ dilaksanakan selama 6 bulan yaitu Januari-Juni 2019. Penelitian ini dilaksanakan di Kandang C, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Proses penimbangan organ imun dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Pembuatan Probiotik *Lactobacillus* sp. dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan penelitian yaitu 200 ekor DOC ayam *broiler unsex* strain Cobb dengan bobot badan rata-rata $46,97 \pm 8,5$ g/ekor yang dipelihara selama 30 hari. Probiotik *Lactobacillus* sp. yang diproduksi di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang. Pakan yang digunakan yaitu pakan komersial BR-1 dan BR-1AJ tanpa AGP dari PT. Charoen Pokphand Indonesia dengan kandungan nutrisi (Tabel 1.).

Peralatan yang digunakan selama penelitian adalah kandang, pakan, air minum, alat suntik (*one med plus needle*), tempat minum, timbangan ukur (KUKU), *mixer* (KUKU), pisau, plastik dan nampan.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi BR-1 dan BR-1AJ

Komposisi	Proporsi	
	BR-1	BR-1AJ
	------(%)-----	
Kadar air	13	13
Protein	21-23	20,5-22,5
Lemak	5	5
Serat kasar	5	5
Abu	7	7
Kalsium	0,9	0,9
Fosfor	0,6	0,6

Sumber : Label Kandungan Nutrisi Pakan PT. Charoen Pokphand, Tbk.

3.2. Metode

Metode penelitian meliputi penentuan rancangan percobaan, prosedur penelitian dan analisis data.

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan sehingga ada 20 unit percobaan, dan masing masing unit diisi 10 ekor. Perlakuan penelitian adalah sebagai berikut:

T0 : perlakuan kontrol (tanpa pemberian probiotik).

T1 : pemberian probiotik dengan metode *force feeding*.

T2 : pemberian probiotik dengan metode pemberian pada pakan.

T3 : pemberian probiotik dengan metode pemberian pada air minum.

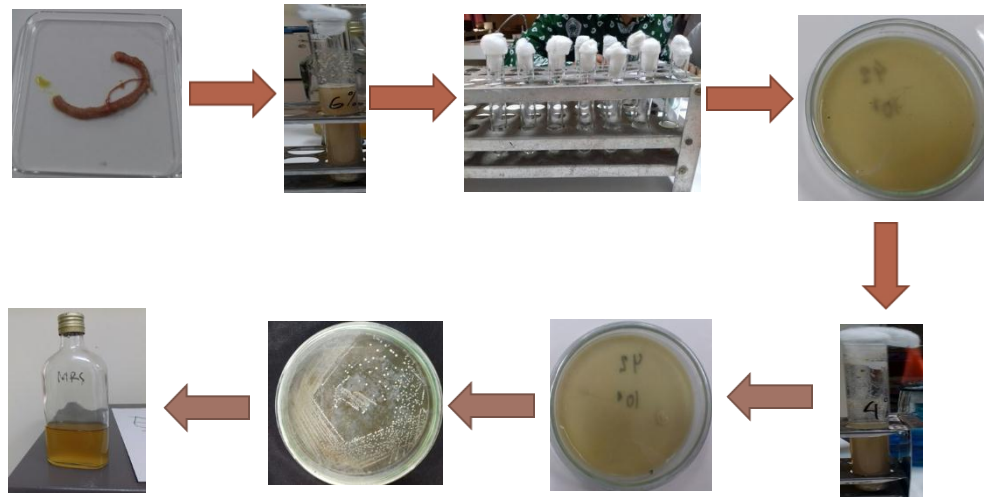
3.2.2. Prosedur penelitian

Penelitian dibagi 3 tahap yaitu tahap pertama adalah kegiatan persiapan yang terdiri pembuatan probiotik, persiapan kandang dan persiapan untuk penyediaan pakan. Tahap kedua adalah pemeliharaan ayam *broiler* dilakukan selama 30 hari. Tahap ketiga yaitu pengambilan data yang dilakukan pada akhir pemeliharaan.

Tahap persiapan diawali dengan membeli bahan-bahan penyusun pakan. Alur pembuatan probiotik dapat dilihat pada Ilustrasi 1. Proses pembuatan probiotik dimulai dari isolasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. dari usus ayam ± 10 cm dan dihomogenkan dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak 4,5 ml, kemudian diambil sebanyak 0,5 ml untuk ditanam pada 4,5 ml *deMan Rogosa and Sharpe* (MRS) Borth, selanjutnya larutan diambil 0,5 ml untuk diencerkan sebanyak 8 kali pengenceran dengan menggunakan NaCl fisiologis 4,5 ml. Pengenceran ke-7 (10^{-7}) dan ke-8 (10^{-8}), masing-masing diambil 0,5 ml dan dikultur pada MRS agar, selanjutnya diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37 °C, kemudian dikultur kembali pada MRS agar sehingga mendapatkan *Lactobacillus* sp. murni dan kemudian diinkubasi lagi. Bakteri yang tumbuh diinokulasi ke MRS Broth, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ cfu/ml menggunakan mikroskop berdasarkan metode *Standard Plate Count* (SPC).

Persiapan kandang dilakukan sebelum DOC dipelihara yaitu dengan cara membersihkan kandang dan lingkungan selama 7 hari atau dikenal dengan sanitasi kandang. Pembersihan alat yang akan digunakan seperti tempat pakan dan tempat

minum dengan menggunakan deterjen sampai bersih. Dinding kandang dicat dengan kapur dan seluruh bagian kandang diberi desinfektan. Tahap terakhir yaitu fumigasi dengan menggunakan formalin.



Ilustrasi 1. Alur Persiapan Pembuatan Probiotik

Tahap Pemeliharaan dimulai dengan pemberian minum berupa air gula yang bertujuan untuk menggantikan energi DOC ayam *broiler* selama proses pengiriman, selanjutnya *chick in* DOC ayam *broiler* dengan membagi 10 ekor pada masing-masing pen. Pemberian pakan ayam *broiler* umur 1 sampai 30 hari dilakukan pagi dan sore hari, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*. Prosedur pemberian untuk metode *force feeding* yaitu probiotik sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung alat suntik dengan ujung jarum yang telah diganti dengan selang. Prosedur untuk metode pemberian dalam air minum yaitu air minum diukur dengan gelas ukur sebanyak 100 ml dan ditambah dengan probiotik *Lactobacillus* sp. sebanyak 2 ml. Prosedur untuk metode pemberian dalam pakan yaitu pakan ditimbang menggunakan timbangan sebanyak 100 g kemudian cairan

probiotik *Lactobacillus* sp. sebanyak 2 ml disemprotkan pada pakan dan diaduk menggunakan alat *mixer*. Pengambilan data parameter dilakukan pada ternak umur 30 hari.

Tahap penerapan perlakuan dimulai dari ayam *broiler* umur 1-30 hari. Metode pemberian probiotik untuk masing-masing perlakuan yaitu (T0) perlakuan kontrol (tanpa pemberian probiotik), (T1) pemberian probiotik 1 ml dengan metode *force feeding* 1 kali dalam 2 hari pada fase *starter* sedangkan fase *finisher* 1 kali dalam 3 hari setiap pagi hari, (T2) pemberian probiotik dengan metode penambahan pada pakan (2 ml probiotik/100 g pakan) pagi dan sore hari dan (T3) pemberian probiotik dengan metode penambahan pada air minum (2 ml probiotik/100 g air minum).

Tahap pengambilan data dilakukan sampai akhir pemeliharaan ternak pada saat ternak berumur 30 hari dengan parameter yang diamati yaitu bobot relatif organ imun dan menggunakan rumus perhitungan dari Aprillia *et al.* (2018) :

1. Bobot relatif *bursa fabricius*

Bursa fabricius menghasilkan *B cell* yang letaknya dekat dengan kloaka dengan bentuk bulat seperti biji kacang dan berwarna kuning muda, biasanya *bursa fabricius* menempel pada bagian kulit ternak.

$$\text{Bobot relatif } bursa fabricius = \frac{\text{bobot } bursa fabricius}{\text{bobot hidup}} \times 100\%$$

2. Bobot Relatif Thimus

Thimus adalah salah satu kelenjar yang berfungsi sebagai kekebalan tubuh ternak terutama ternak pada saat muda. Thimus menghasilkan limfosit T dan berfungsi sebagai imunitas sel yang melawan bakteri dan virus.

$$\text{Bobot relatif thimus} = \frac{\text{bobot thimus}}{\text{bobot hidup}} \times 100\%$$

3. Bobot relatif Limpa

Limpa terletak dekat dengan organ hati yang berbentuk bulat lonjong dengan warna merah kehitaman yang berfungsi sebagai organ pertahanan terhadap infeksi benda asing yang masuk ke dalam darah.

$$\text{Bobot relatif limpa} = \frac{\text{bobot limpa}}{\text{bobot hidup}} \times 100\%$$

3.2.3. Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya diolah dengan menggunakan analisis ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan pada taraf 5%. Perlakuan yang berpengaruh nyata, dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (Steel dan Torrie, 1995). Model linier aditif yang digunakan adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada bobot badan dan bobot relatif organ imun (*bursa fabricius*, thimus dan limpa) yang diberi probiotik nilai pengamatan perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

μ = Rata-rata umum populasi atau nilai tengah umum bobot badan dan bobot relatif organ imun (*bursa fabricius*, thimus dan limpa) ayam *broiler*.

τ_i = Pengaruh metode pemberian probiotik perlakuan ke-i.

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada bobot badan dan bobot relatif organ imun (*bursa fabricius*, thimus dan limpa) ayam *broiler* ke-j yang memperoleh perlakuan probiotik dalam pakan ke-i.

Hipotesis statistik yang diuji dalam penelitian ini adalah:

H0 : $\tau_1 = \tau_2 = \tau_3 \dots\dots = \tau_5 = 0$, artinya tidak ada pengaruh perlakuan probiotik terhadap bobot badan dan bobot relatif *bursa fabricius*, thimus dan limpa ayam *broiler*.

H1 : $\tau_i \neq 0$, artinya minimal ada satu pengaruh perlakuan probiotik terhadap bobot badan dan bobot relatif *bursa fabricius*, thimus dan limpa ayam *broiler*.

Adapun kriteria pengujian yaitu Jika F hitung < F tabel maka H0 diterima dan H1 ditolak atau perlakuan tidak berpengaruh nyata. Jika F hitung \geq F tabel maka H1 diterima dan H0 ditolak atau perlakuan berpengaruh nyata.