

### **III OBJEK DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Objek Penelitian**

##### **3.1.1 Ternak Percobaan**

Ternak yang digunakan sebagai objek dalam penelitian ini adalah ayam broiler strain cobb 398 sebanyak 100 ekor. Ayam tersebut dipelihara mulai umur DOC (*Day Old Chicken*) sampai siap panen (45 hari). Ayam broiler percobaan diberi empat perlakuan dengan lima kali ulangan per perlakuan.

##### **3.1.2 Probiotik**

Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu fermentasi yang merupakan kombinasi dari susu sapi fermentasi dan susu kedelai fermentasi dengan metode *force feeding*. Jenis bakteri yang terdapat dalam probiotik terdiri dari *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*.

##### **3.1.3 Kandang Percobaan**

Jenis kandang yang digunakan dalam percobaan adalah kandang *litter*. Setiap unit kandang terdiri dari 5 ekor ayam. Kandang Percobaan terletak di Tanjung Sari, Sumedang.

##### **3.1.4 Ransum**

Ransum yang digunakan selama penelitian berbentuk *mash* yang diformulasikan tanpa antibiotik. Kandungan protein ransum 21,97 % dan energi metabolis 3011 kkal/kg. Kandungan nutrient bahan pakan, formulasi ransum, dan kandungan nutrien dan energi metabolisme ransum percobaan disajikan pada Tabel 1, 2, dan 3.

**Tabel 3.** Kandungan Nutrien Bahan Pakan

Bahan Pakan	PK	LK	SK	Ca	P	Lis	Sis	Met	EM
	.....%								.Kkal/kg.
Jagung	8,60	3,90	2,00	0,02	0,10	0,20	0,18	0,18	3370
Bungkil Kedelai	45,00	0,90	6,00	0,32	0,29	2,90	0,67	0,65	2240
Tepung Ikan	45,00	9,00	1,00	5,50	2,80	5,00	0,94	1,80	3080
Minyak Kelapa	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8600
Tepung Tulang	0,00	0,00	0,00	24,00	12,00	0,00	0,00	0,00	0
L-Lisin	95,80	0	0	0	0	78,50	0	0	0
DL-Met.	58,00	0	0	0	0	0	0	99,0	0

Sumber :Laboratorium Produksi Ternak Unggas Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran (2015).

**Tabel 4.** Formulasi Ransum

Bahan Pakan	Jumlah (%)
Jagung	60
Bungkil kedelai	31,05
Tepung ikan	4,20
Minyak kelapa	2,265
Tepung tulang	1,28
Lisin	0,06
Metionin	0,15
CaCO <sub>3</sub>	0,50
Total	100,00

Sumber: Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas dan Nonruminansia Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran (2017).

**Tabel 5.** Kandungan Nutrien dan Energi Metabolisme Ransum Percobaan.

Kandungan	Satuan	Jumlah
Energi Metabolis	Kcal/kg	3011
Protein Kasar	%	21,97
Ca	%	1,10
P	%	0,45
Methionine	%	0,58
Lysin	%	1,33

Sumber: Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas dan Non Ruminansia (2017).

## **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

### **3.2.1 Alat Penelitian**

#### **1 Alat yang digunakan selama pemeliharaan ayam broiler:**

- a) Kandang ayam sistem litter yang terdiri dari 20 unit. Unit kandang terbuat dari bambu.
- b) Lampu, untuk penerangan sekaligus pemanas sebagai *brooder*.
- c) *Wing tag*, untuk memberi identitas pada ayam sesuai perlakuan dan ulangan.
- d) *Round feeder*, untuk tempat pakan.
- e) *Round waterer*, untuk tempat minum.
- f) Timbangan digital kapasitas 5 kg, untuk menimbang berat ayam dan pakan dan sisa pakan.
- g) Karung, untuk tempat menyimpan pakan dan sekam.
- h) Plastik, untuk tempat menyimpan sisa pakan setiap satu minggu pemeliharaan perunit percobaan.
- i) Higrotermometer, untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam kandang.
- j) Peralatan kebersihan meliputi sapu, gayung, ember, sikat, dan selang.

#### **2 Alat yang digunakan dalam pembuatan probiotik:**

- a) *Erlenmayer*, untuk pembiakan mikroba
- b) *Autoclave*, alat yang digunakan untuk mensterilkan peralatan, perlengkapan, dan bahan yang digunakan.
- c) Tabung reaksi, untuk pembiakan mikroorganisme dalam medium cair.

**3 Alat yang digunakan dalam pemberian probiotik:**

- a) Gelas ukur 1 L, untuk mengukur volume probiotik yang akan diberikan.
- b) Toples, untuk tempat menyimpan probiotik sebelum diberikan.
- c) Syringe, untuk mengambil probiotik yang akan diberikan.

**4 Alat yang digunakan dalam pengujian lemak daging ayam broiler:**

- a) *Ekstraksi soxhlet* untuk analisis lemak daging.
- b) Alat pemanas listrik atau penangas uap.
- c) Oven untuk menurunkan kadar air dan untuk mengeringkan sampel.
- d) Timbangan analitik untuk menghitung berat sampel.

**5 Alat yang digunakan dalam pengujian kolesterol daging ayam broiler:**

- a) *Spectofotometer* untuk analisis kolesterol daging.
- b) Gelas ukur untuk mengukur larutan yang digunakan.
- c) Tabung Reaksi untuk menyimpan larutan sampel yang digunakan.
- d) Mortar untuk menghaluskan sample.
- e) *Waterbath* untuk menghangatkan sample sebelum dianalisis.

**3.2.2 Bahan Penelitian****1 Bahan yang digunakan selama pemeliharaan ayam broiler:**

- a) Ayam broiler.
- b) Air.
- c) Ransum.
- d) Probiotik.
- e) Sekam padi.
- f) Kertas Koran.

g) Kapur ( $\text{CaCO}_3$ ).

h) Sporades.

**2 Bahan yang digunakan dalam pembuatan probiotik:**

a) Bakteri murni dalam bentuk freeze dried.

b) Susu sapi.

c) Susu skim.

d) de Man, Rogosa, Sharpe bouillon (MRS) broth.

**3 Bahan yang digunakan untuk analisis sampel lemak daging:**

a) Kertas saring.

b) Alumunium foil.

c) Larutan Kloroform.

**4 Bahan yang digunakan untuk analisis kolesterol daging:**

a) KIT uji kolesterol.

b) Eter- Allkohol

**3.3 Metode Penelitian**

**3.3.1 Prosedur Kerja**

**1 Tahap Persiapan Kandang**

a) Kandang beserta peralatannya (tempat ransum dan tempat minum) dibersihkan menggunakan sabun pencuci dan air satu minggu sebelum DOC datang.

b) Kandang yang telah kering disanitasi dengan cara pengapuran dan penyemprotan menggunakan sporades sampai merata untuk desinfeksi kandang.

c) Sekam dipasang sebagai litter pada lantai kandang.

d) Kertas koran dipasang di setiap dinding unit kandang dan diatas sekam.

- e) Tempat pakan dan tempat minum disiapkan disetiap unit kandang.
- f) Sehari sebelum DOC datang semua peralatan kandang dan perlengkapannya seperti tempat ransum, tempat minum, kertas koran, sekam, dan *brooder* disemprot dengan desinfektan.
- g) Lampu pemanas (*brooder*) dinyalakan setelah penyemprotan selesai dan kering.
- h) Setiap unit kandang diberi nomor sesuai perlakuan dan ulangan secara acak menggunakan *software* program.
- i) DOC yang sudah datang dipasang *wing tag* sesuai perlakuan dan ulangan secara acak serta ditimbang bobot badannya.
- j) DOC yang sudah dipasangi *wing tag* ditimbang untuk mengetahui bobot awal.
- k) DOC yang sudah di timbang dimasukkan ke dalam litter kemudian diberikan air gula merah untuk mengembalikan energi yang hilang selama perjalanan.

## **2 Tahap Pembuatan Probiotik**

- a) Sebanyak 4 bakteri murni dalam bentuk *freeze dried* dikeluarkan dari ampul .
- b) Bakteri dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diisi dengan de Man, Rogosa, Sharpe bouillon (MRS) broth untuk di inkubasi.
- c) Bakteri yang telah dibiakan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam dan menjadi biakkan murni turunan pertama (F1).
- d) Bakteri biakan pertama (F1) diambil sebanyak 0,1% (5 $\mu$ ) dan dibiakkan kembali dalam media de Man, Rogosa, Sharpe bouillon (MRS) broth

- e) Bakteri biakan kedua diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan murni turunan kedua (F2).
- f) Bakteri biakan kedua (F2) diambil sebanyak 0,1% (5 $\mu$ )
- g) Bakteri biakan kedua masing-masing dimasukkan kedalam *erlenmayer* yang telah berisi susu skim steril, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan murni pada media susu.
- h) Biakkan murni diambil sebanyak 5% , dibiakkan kembali di media susu skim steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan siap pakai.
- i) Susu sapi dan susu kedelai disiapkan.
- j) Susu sapi dan susu kedelai di sterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 100° C selama 10 menit.
- k) Susu yang telah disterilisasi dicampurkan dalam satu wadah dengan perbandingan yang telah ditetapkan sesuai perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian.
- l) Biakan dimasukkan sebanyak 1,25% kedalam susu yang telah dicampurkan.
- m) Susu diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Susu fermentasi siap digunakan.

### **3 Tahap Pemeliharaan Ternak Percobaan**

- a) Ternak percobaan sebanyak 100 ekor dibagi ke dalam 20 unit kandang, masing-masing terdiri dari 5 ekor ayam sebagai 1 unit percobaan.
- b) Pemberian pakan dilakukan dua kali dalam sehari, pada pagi dan sore hari.

- c) Ransum diberikan secara *adlibitum*.
- d) Air minum diberikan secara *adlibitum*.
- e) Tempat minum dicuci setiap hari.
- f) Pemberian probiotik dilakukan dengan cara *Force Feeding* setiap sore hari. Jumlah probiotik yang diberikan sebanyak 2% dari bobot badan ayam.
- g) Suhu dan kelembaban kandang diamati setiap hari, pada pagi, siang, dan sore dengan menggunakan termometer bola kering/ *dry bulb (db)*, termometer bola basah/ *wet bulb (wb)* yang diletakkan pada dinding kandang.
- h) Keadaan ayam diperiksa setiap hari, bila ada ayam yang mati maka ayam tersebut harus diambil dan dikuburkan supaya tidak menular bagi ayam lain.

#### **4 Pengambilan Sampel**

- a) 20 ayam broiler disiapkan kemudian dipotong.
- b) Ayam broiler yang telah dipotong kemudian dibersihkan dari jeroan dan bulu.
- c) Daging tanpa tulang dan kulit diambil dari masing – masing bagian dada 50% dan bagian paha 50% kemudian dicampur untuk dijadikan sampel.

#### **5 Analisis Sampel**

##### **a) Kadar Lemak Daging**

1. Sampel ditimbang sebanyak 34 gram dan dibungkus dengan kertas aluminium foil, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 12 jam hingga kering.



2. Sampel yang sudah kering tersebut ditimbang dan diambil 2 gram lalu dimasukkan kedalam selongsong yang telah diketahui beratnya dan di heker kemudian dimasukkan kedalam alat ekstraksi soxhlet, dan diberi pelarut lemak kloroform.
3. Ekstraksi dilakukan kurang lebih selama 8 jam sampai larutan pelarut lemak dalam ekstraksi soxhlet berwarna jernih.
4. Sampel yang telah diekstraksi lemaknya dikeringkan lagi dalam oven selama 12 jam dengan suhu 105°C.
5. Sampel kemudian dikeluarkan dari oven dan ditimbang.
6. Penentuan kadar lemak, selisih dengan bobot sampel sebelum dan setelah diekstraksi menunjukkan banyaknya lemak yang terkandung kemudian dinyatakan dalam presentasi.

**b) Kadar kolesterol daging**

1. 30 gram daging diambil dari daging bagian dada dan paha.
2. Sampel daging dimasukkan ke dalam kertas alumunium foil.
3. Sempel daging di oven dengan suhu 60°C selama 3 hari hingga kering.
4. Sampel yang telah kering kemudian di timbang.
5. Sampel yang telah ditimbang kemudian ditumbuk dengan menggunakan mortar.
6. Sampel yang telah ditumbuk kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2.5 gram.
7. Eter dimasukkan kedalam sampel kemudian dikocok hingga homogen.
8. Sampel ditutup dengan menggunakan plastik.
9. Sampel didiamkan selama 24 jam.

10. Sampel disaring hingga didapatkan supernatant.
11. KIT untuk uji kolesterol dan 22 tabung reaksi disiapkan.
12. 1 mL reagen diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang akan digunakan.
13. Air dimasukkan sebanyak 10 $\mu$ L kedalam tabung yang telah diberi reaktan yang berlabel *blank*.
14. Larutan standar kolesterol dimasukkan sebanyak 10 $\mu$ L ke dalam tabung yang telah diberi reaktan berlabel standar sebagai sampel standar.
15. 10 $\mu$ L sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diberi reagen sesuai nama pada tabel.
16. Tiap sampel dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu 37°C selama 15 menit sampai berwarna pink.
17. Sampel dimasukkan ke dalam kuvet lalu di analisa.
18. Panjang gelombang absorban diukur pada spektrofotometer dengan terlebih dahulu menentukan panjang gelombang *Blank* untuk menentukan panjang gelombang larutan standar sampel.
19. Absorban diukur pada panjang gelombang 480 – 520 nm dan dihitug konsentrasi kolesterolnya.

### **3.3.2 Peubah yang Diamati dan Pengukurannya**

#### **1 Kadar Lemak Daging**

Kandungan lemak daging dianalisis dari daging pada bagian dada dan paha, penentuan kadar lemak daging dilakukan berdasarkan metode ekstrasi soxhlet dengan prinsip lemak diekstraksi dengan pelarut lemak (kloroform), setelah pelarutnya diuapkan, lemak dapat ditimbang dan dihitug presentasinya.

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{(B-C)}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

- A : Bobot sampel awal  
 B : Bobot sampel kering sebelum diekstraksi  
 C : Bobot sampel setelah diekstraksi dan dikeringkan

## 2 Kadar Kolesterol Daging

Penentuan kadar kolesterol daging dapat dilakukan berdasarkan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Phenylperoxidase Amino Phenozonephenol*), yaitu kolesterol ditetapkan langsung dalam plasma dan sisi reaksi ester kolesterol dihidrolisis, gugus 3-OH dihidrolisis kemudian hydrogen yang merupakan hasil reaksi (Richmond, 1983) sama seperti analisis kadar kolesterol darah.

$$\text{Kadar Kolesterol Daging } (\mu\text{g/mg}) = X = \frac{A \text{ Sampel}}{A \text{ Standar}} \times 10$$

Keterangan :

- A sampel : Arbsorban sampel  
 A standar : Arbsorban standar  
 10 : Konsentrasi standar

### 3.3.3 Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor. Penelitian ini adalah pemberian probiotik berupa susu sapi fermentasi, susu kedelai fermentasi dan kombinasi antara keduanya pada ayam broiler, sehingga diperoleh perlakuan percobaan berikut:

P0 = Ayam broiler dengan tanpa pemberian probiotik (kontrol).

P1 = Ayam broiler dengan pemberian probiotik 100% susu sapi fermentasi

P2 = Ayam broiler dengan pemberian probiotik 50% susu sapi fermentasi +  
50% susu kedelai fermentasi

P3 = Ayam broiler dengan pemberian probiotik 75% susu sapi fermentasi +  
25% susu kedelai fermentasi

Dengan menggunakan 4 perlakuan, maka banyaknya ulangan adalah:

$$db \text{ Galat} = t_{(r-1)} \geq 15$$

$$= 4_{(r-1)} \geq 15$$

$$= r = 5$$

Oleh karena itu, di dapat 20 unit percobaan

**Tabel 6.** Simulasi Data Percobaan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
1	P0U1	P1U1	P2U1	P3U1
2	P0U2	P1U2	P2U2	P3U2
3	P0U3	P1U3	P2U3	P3U3
4	P0U4	P1U4	P2U4	P3U4
5	P0U5	P1U5	P2U5	P3U5

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji F dan jika terdapat pengaruh antar perlakuan di uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Model matematika yang digunakan sebagai berikut.

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

Keterangan:

$Y_{ij}$  = respon hasil pengamatan karena perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  = nilai tengah populasi (rata-rata umum)

$\alpha_i$  = pengaruh perlakuan (dosis) ke-i

$\epsilon_{ij}$  = galat percobaan dari perlakuan ke-i pengamatan ke-j

i = perlakuan ke-i (1, 2, 3, 4)

j = ulangan ke-j (1, 2, 3, 4, 5)

Asumsi yang digunakan pada analisis ini adalah:

- a) Nilai  $\epsilon_{ij}$  menyebar normal satu sama lain.
- b) Nilai harapan dari  $\epsilon_{ij} = 0$
- c) Ragam dari  $\epsilon_{ij} \approx \sigma^2$  NID ( 0,  $\sigma^2$  )

Hipotesis yang diuji:

$$H_0 : P_2 = P_1 = P_2 = P_3$$

$H_1 : P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3$  atau paling sedikit ada sepasang perlakuan yang tidak sama

Kaidah keputusan:

- Bila  $F_{hitung} \leq F_{tabel} \rightarrow$  terima  $H_0$
- Bila  $F_{hitung} > F_{tabel} \rightarrow$  tolak  $H_0$

Berdasarkan model matematika di atas diperoleh daftar sidik ragam seperti dalam Tabel 8.

**Tabel 7.** Daftar Sidik Ragam Rancangan Acak Lengkap

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F tabel
Perlakuan	(t-1)=3	JKP	KTP	KTP/KTG	
Galat	t (r-1)=16	JKG	KTG		
Total	(r.t-1)=19	JKT			

Keterangan:

t = Perlakuan

r = Ulangan

Db = Derajat bebas

JK = Jumlah Kuadrat

KT = Kuadrat Tengah

Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan tersebut dilakukan uji lanjut menggunakan uji jarak berganda Duncan dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KTGalat}{r}}$$

$$LSR_x = SSR_x \times S_x$$

Keterangan:

$S_x$  = Simpangan Baku

KTG = Kuadrat Tengah Galat  
 SSR<sub>x</sub> = Student Significant Range  
 LSR<sub>x</sub> = Jarak Beda Nyata Terkecil  
 r = Ulangan  
 d = Selisih rata-rata antar perlakuan

Kaidah keputusan:

$d \leq \text{LSR}_x$  , maka tidak berbeda nyata

$d > \text{LSR}_x$ , maka berbeda nyata

### 3.4 Tata Letak Kandang Penelitian

Tata letak kandang percobaan harus diacak sehingga setiap perlakuan mendapatkan peluang yang sama untuk menempati suatu *flock*. Pengacakan dilakukan dengan *software Microsoft Excel*. Tata letak kandang penelitian dapat dilihat pada Ilustrasi 6 dan 7.

**Ilustrasi 6.** Tata Letak Kandang Penelitian

1	2	3	4	5
P3	P3	P3	P0	P1
6	7	8	9	10
P2	P0	P3	P2	P2
11	12	13	14	15
P0	P1	P0	P1	P1
16	17	18	19	20
P2	P3	P0	P2	P1

Ilustrasi 7. Denah Kandang Penelitian

