

III

OBJEK DAN METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

3.1.1 Ternak Percobaan

Ternak yang diamati dalam penelitian ini adalah ayam broiler strain Cobb mulai fase *starter* sampai *finisher* (1-45 hari) sebanyak 100 ekor. Ayam dibagi secara acak kedalam 20 unit percobaan, masing-masing terdiri terdiri dari 4 perlakuan probiotik dan 5 ulangan.

3.1.2 Probiotik

Bahan penelitian yang digunakan adalah susu sapi fermentasi dan kombinasi dari susu fermentasi dan susu kedelai fermentasi sebagai probiotik yang diberikan secara *force feeding* kepada objek penelitian dengan jumlah yang telah ditetapkan sesuai dengan kebutuhan. Dosis pemberian probiotik sebanyak 2% dari bobot badan ayam. Jenis susu yang digunakan sebagai bahan dasar yaitu susu sapi dan susu kedelai dengan jenis bakteri yaitu *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium bifidum*. Probiotik yang digunakan dibuat di Laboratorium Riset dan Pengujian Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.

3.1.3 Ransum Percobaan

Ransum yang digunakan selama penelitian adalah ransum berbentuk *mash*. Kandungan protein pada ransum adalah 21,97%, dan kandungan energi 3011 Kkal/kg. Kandungan Nutrien dan Formulasi bahan pakan percobaan dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Kandungan Nutrien dan Energi Metabolis Bahan Pakan Penelitian

Bahan Pakan	EM	PK	LK	SK	Ca	P	Lis	Met
	Kkal/ kg%.....						
Jagung	3370	8,60	3,90	2,00	0,02	0,10	0,20	0,18
Bungkil kedelai	2240	45,00	0,90	6,00	0,32	0,29	2,90	0,65
Tepung ikan	3080	45,00	9,00	1,00	5,50	2,80	5,00	1,80
Minyak kelapa	8600	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tepung tulang	0	0,00	0,00	0,00	24,00	12,00	0,00	0,00
CaCO ₃	0	0,00	0,00	0,00	40	0,00	0,00	0,00
Premix	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,50
L-Lysin	0	95,80	0,00	0,00	0,00	0,00	78,50	0,00
DL-Met.	0	58,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	99,0

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

Tabel 2. Formulasi Ransum Penelitian

Bahan Pakan	Jumlah (%)
Jagung	60,00
Bungkil Kedelai	31,05
Tepung Ikan	4,20
Minyak	2,26
Tepug Tulang	1,28
CaCO ₃	0,50
Premix	0,50
Lysin	0,06
Methionine	0,15
Total	100,00

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

Tabel 3. Kandungan Nutrien dan Energi Metabolis Ransum Penelitian

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).

3.1.4 Kandang Percobaan

Kandang yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan kandang sistem *litter* yang terbuat dari bahan bambu dengan ukuran 70 cm × 70 cm × 70 cm dan setiap petak diisi oleh 5 ekor ayam. Setiap kandang diberi nomor sesuai dengan perlakuan dan ulangnya. Setiap kandang dilengkapi dengan alas sekam dan lampu pijar yang berfungsi sebagai *brooder* dan penerangan. Kandang dilengkapi dengan tempat pakan (*round feeder*) dan tempat air minum (*round waterer*).

3.1.5 Alat Penelitian

- 1) Alat yang digunakan dalam proses pemeliharaan kandang antara lain:
 - a) Kandang percobaan.
 - b) Lampu dan kabel, sebagai penerang sekaligus pemanas sebagai pengganti *brooder*.
 - c) *Wing tag*, untuk memberi identitas pada ayam sesuai perlakuan dan ulangan.
 - d) Tempat pakan (*round feeder*) dan tempat minum (*round waterer*).
 - e) Timbangan digital kapasitas 10 kg, untuk menimbang pakan dan ayam.
 - f) Plastik, untuk menampung pakan per unit percobaan per minggu.
 - g) Karung, untuk menyimpan pakan dan sekam dalam jumlah banyak.
 - h) Higrotermometer, untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam kandang.
 - i) Peralatan kebersihan meliputi sapu, gayung, ember, sikat, selang.
- 2) Alat yang digunakan dalam mengambil larutan probiotik antara lain:
 - a) Gelas ukur, untuk mengukur probiotik yang telah dicampurkan dengan susu sapi dan susu kedelai.
 - b) Toples, untuk menampung probiotik yang telah dicampurkan dengan susu sapi dan susu kedelai.

- 3) Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel antara lain:
 - a) Pinset anatomi, untuk menjepit atau memegang organ yang dijadikan sampel.
 - b) Pisau, untuk memotong organ yang dijadikan sampel.
 - c) Gunting, untuk memisahkan organ yang dijadikan sampel.
 - d) Toples untuk wadah sampel.

3.1.6 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam proses analisis antara lain:

- 1) Ileum, sebagai objek yang diamati dalam percobaan.
- 2) Alkohol 90%
- 3) Larutan NaCl fisiologis untuk membersihkan sampel usus halus.
- 4) Larutan fiksatif untuk mengawetkan sampel.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Prosedur Percobaan

- (1) Tahap Persiapan
 1. Kandang
 - a) Kandang dibersihkan menggunakan detergen dan air mengalir.
 - b) Kandang disanitasi dengan cara pengapuran pada bagian alas dan dinding kandang satu minggu sebelum ayam dimasukkan serta mencuci peralatan pakan dan minum ayam.
 - c) Sekam dipasang sebagai *litter* pada lantai kandang.
 - d) Kertas koran dipasang pada dinding unit kandang dan di atas sekam.

- e) Sehari sebelum DOC datang semua peralatan kandang dan perlengkapannya seperti tempat ransum, tempat minum, sekam, dan *brooder* disemprot dengan desinfektan.
- f) Lampu pemanas (*brooder*) dinyalakan setelah penyemprotan selesai dan kering.
- g) Setiap unit kandang diberi nomor sesuai perlakuan dan ulangan secara acak.
- h) DOC dipasang *wing tag* sesuai perlakuan dan ulangan secara acak serta ditimbang bobot badannya.

2. Pembuatan Ransum

Pembuatan ransum sesuai dengan formulasi yang telah ditetapkan kemudian dilakukan pembuatan ransum di *mini feedmill* Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran. Bahan pakan dengan jumlah penggunaan terkecil terlebih dahulu dicampurkan dengan sebagian dari bahan pakan terbanyak kemudian semua bahan pakan dimasukkan kedalam *mixer* dan ditunggu sampai homogen, selanjutnya pakan dimasukkan kedalam karung.

3. Pembuatan Probiotik

- a) 4 kultur bakteri murni berbentuk *freeze dried* dikeluarkan dari ampul dan masing-masing dibiakkan di media de Man Rogosa Sharpe bouillon (MRS) Broth kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan murni turunan pertama (F1).
- b) F1 diambil sebanyak 0,1% (5 μ) dan masing-masing dibiakkan di media de Man Rogosa Sharpe bouillon (MRS) Broth kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan murni turunan kedua (F2).

- c) F2 diambil sebanyak 0,1% (5 μ) dan masing-masing dibiakkan di media susu skim steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan murni pada media susu.
- d) Biakkan murni dalam media susu diambil sebanyak 5% dan masing-masing dibiakkan di media susu skim steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sehingga didapat biakkan siap pakai.
- e) Susu sapi dan susu kedelai yang telah disterilisasi dicampurkan dalam satu wadah dengan perbandingan yang telah ditetapkan sesuai perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian, kemudian masing-masing biakkan dimasukkan sebanyak 1,25% diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam.
- f) Probiotik siap digunakan.

(2) Tahap Pemeliharaan

- a) Ternak percobaan sebanyak 100 ekor dibagi ke dalam 20 unit kandang, masing-masing terdiri dari 5 ekor ayam.
- b) Pemberian pakan dilakukan dua kali dalam sehari, pada pagi hari dan sore hari
- c) Ransum diberikan sesuai dengan umur ayam. Pada minggu pertama, ransum yang diberikan sebanyak 20 gram/ekor/hari, minggu kedua 42 gram/ekor/hari, minggu ketiga 70 gram/ekor/hari dan minggu keempat sebanyak 101 gram/ekor/hari dan minggu kelima 130 gram/ekor/hari (NRC, 1994).
- d) Air minum diberikan secara *adlibitum*.
- e) Tempat minum dicuci setiap hari pada sore hari

- f) Probiotik diberikan dengan cara *force feeding* pada sore hari. Perlakuan yang diberikan diantaranya P₀, P₁, P₂ dan P₃ yang telah disiapkan sesuai kebutuhan yaitu 2% dari bobot badan ayam.
- g) Suhu dan kelembaban kandang diamati setiap hari (pagi dan sore) dengan menggunakan termometer bola kering/ *dry bulb (db)* dan 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 dikuburkan untuk menghindari timbulnya penyakit bagi ayam lain.

(3) Tahap Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-45 penelitian. Sampel diambil dengan cara membedah perut ayam untuk mendapatkan ileum pada hari ke-45. Sampel dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi larutan fiksatif lalu dianalisis untuk mengetahui lebar, tinggi dan jumlah villi-villinya. Sampel ileum diambil dari satu ekor ayam untuk setiap ulangan pada masing-masing perlakuan. Total sampel usus halus yang diambil yaitu 20 sampel. Pemilihan sampel didasarkan pada bobot badan ayam yang mendekati bobot rata-rata pada masing-masing *flock*.

(4) Tahap Analisis Sampel

Sampel yang telah direndam dalam larutan fiksatif kemudian dilakukan analisis untuk mengetahui lebar, tinggi dan jumlah villi-villinya. Analisis dilakukan di Laboratorium Biosistem (Fisiologi Hewan), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.

3.2.2 Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah morfometrik yang meliputi lebar, tinggi dan jumlah villi ileum dengan satuan μm . Prinsip penentuan

lebar, tinggi dan jumlah villi ini menggunakan Metoda Paraffin Pewarnaan *Haemotoksin Eosin*. Prosedur dan langkah metode ini terlampir (Lampiran 1&2).

3.2.3 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dengan 5 kali pengulangan, sehingga didapat 20 unit percobaan. Perlakuan terdiri atas:

- P_0 = Tanpa pemberian probiotik
 P_1 = Pemberian probiotik 100% SSF
 P_2 = Pemberian probiotik 50% SSF + 50% SKF
 P_3 = Pemberian probiotik 75% SSF + 25% SKF

Keterangan:

SSF = Susu sapi fermentasi

SKF = Susu kedelai fermentasi

Model matematika yang digunakan adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

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

μ = nilai tengah populasi (rata-rata umum)

α_i = pengaruh perlakuan (dosis) ke-i

ϵ_{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)

Hipotesis yang diuji:

H_0 ; $t_0 = t_1 = t_2 = t_3$

H_1 ; $t_0 \neq t_1 \neq t_2 \neq t_3$ 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 4.

Tabel 4. Daftar Sidik Ragam Rancangan Acak Lengkap

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tabel
Perlakuan	(t-1)	JKP	KTP	KTP/KTG	
Galat	t (r-1)	JKG	KTG		
Total	(tr-1)	JKT			

Keterangan:

t = Perlakuan

r = Ulangan

db = Derajat bebas

JK = Jumlah Kuadrat

KT = Kuadrat Tengah

Apabila hasil analisis varian yang diperoleh berbeda nyata, maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan tersebut dilakukan 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_x = *Studentized Significant Range*

LSR_x = *Least Significant Range*

r = Ulangan

d = Selisih rata-rata antar perlakuan

Kaidah keputusan:

$d \leq LSR_x$, maka tidak berbeda nyata

$d > LSR_x$, maka berbeda nyata

3.2.4 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 1.

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

Ilustrasi 1. Tata Letak Kandang Penelitian