

BAB I

PENDAHULUAN

1.2 Latar belakang

Ayam kampung, juga disebut ayam bukan ras (buras), telah lama ditenakkan oleh masyarakat, terutama di daerah pedesaan. Salah satu varietas ayam buras lokal yang paling dikenal orang adalah ayam kampung (Prabewi dan Listiyowati, 2021). Ayam kampung memiliki rasa daging yang gurih dan tahan terhadap stres, yang membuatnya sangat disukai konsumen (Trisiwi dan Supartini, 2015). Ayam kampung penting bagi sebagian besar masyarakat Indonesia, terutama bagi masyarakat pedesaan, untuk meningkatkan kualitas hidup mereka. Walaupun demikian, karena sistem pemeliharaan tradisional dan kemampuan genetik yang lebih rendah untuk pertumbuhan pesat, ayam kampung tumbuh lebih lambat dibandingkan dengan ayam ras (Zurahmah dan Anwaruddin, 2021).

Saat ini Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin mengembangkan salah satu jenis ayam buras yaitu ayam Alope. Terdapat tiga jenis warna bulu ayam Alope yaitu hitam, coklat, dan abu-abu. Perbedaan warna bulu ayam Alope dipengaruhi oleh tetuanya (Johari, 2009). Beberapa kelemahan ayam kampung yaitu produksi telur yang rendah, pertumbuhan yang lambat, kesulitan mendapatkan bibit yang baik, dan pemeliharaan yang lebih lama (Lemba dan Kaka, 2022). Untuk memperbaiki daya tumbuh yang lambat pada anak ayam yang telah menetas dilakukan *early feeding* atau biasa disebut pemberian pakan dini.

Early feeding sangat terkait dengan pemberian pakan lebih awal, yang sangat penting untuk mengembalikan energi yang hilang selama transportasi dari *hatcher* ke peternak. Selain itu, penanganan ternak setelah menetas, seperti penyuntikan vaksin dan *packaging*, dapat menyebabkan DOC stres dan akhirnya mati. *Early feeding* setelah penetasan, yang juga dikenal sebagai pemberian pakan awal, memiliki banyak manfaat bagi ayam (Sulistyoningsih, 2005). Pemberian pakan awal dapat meningkatkan metabolisme, mempercepat gertakan pada sistem kekebalan mempercepat pertumbuhan organ pencernaan, meningkatkan penyerapan *yolk*, dan secara signifikan meningkatkan pertumbuhan awal dan berat badan ternak (Prabakar *et al.*, 2016). Salah satu nutrisi yang dapat memacu pertumbuhan ayam Alope adalah L-arginine.

L-arginine, yang digolongkan sebagai asam amino semi-esensial, berfungsi sebagai stimulator penting pelepasan hormon pertumbuhan. Selain itu, L-arginine adalah asam amino dasar yang berfungsi sebagai stimulator asam amino, prolin, dan *ornithin* (Azhar dkk., 2019). Arginine berperan dalam sintesis *nitric oxide* (NO) dan *polyamine*, yang keduanya berperan dalam regenerasi dan penyembuhan luka (Pramujo dkk., 2023). Selain itu, L-arginine adalah bahan pakan yang memiliki berbagai manfaat dalam pertumbuhan otot ayam Alope, yaitu betaine.



Betaine adalah zat alami yang dapat ditemukan dalam bit gula dan produk sampingannya serta beberapa invertebrata air. Tepung kacang dan produk gandum merupakan sumber yang paling umum (Ghany *and* Babazadeh, 2022). Ketika digunakan sebagai tambahan pakan atau air, betaine telah terbukti memiliki banyak manfaat bagi unggas, termasuk dalam meningkatkan komposisi karkas melalui perubahan metabolisme lemak, dapat meningkatkan morfologi usus, mampu meningkatkan pertahanan antioksidan yang merupakan zat yang berfungsi untuk mencegah dan memperbaiki kerusakan sel akibat radikal bebas, serta mengurangi peroksidasi lipid pada daging dada (Alagaway *et al.*, 2022).

Pada pemeliharaan ayam Alope dilakukan pemberian asam amino L-arginine pada saat berasa di mesin tetas dan pemberian betaine saat fase pemeliharaan. Hal tersebut dikarenakan kendala pada pemeliharaan ayam buras seperti daya tumbuh yang lambat, dan produksi telur yang rendah. Dari pemeliharaan ayam Alope akan dilakukan pengambilan sampel pada jaringan otot bagian dada dari ayam Alope setelah dilakukan pengkarkasan.

Sebagai upaya mengoptimalkan pertumbuhan ayam Alope, maka selain dilakukan seleksi juga dilakukan perbaikan status nutrisi baik pada awal penetasan maupun selama pertumbuhan. Nutrisi yang dapat memacu pertumbuhan adalah asam amino L-arginine yang berperan dalam perkembangan sel dan betaine yang berperan dalam perkembangan massa otot. Tetapi penelitian tentang kedua unsur ini pada ayam Alope belum diterapkan sehingga hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian mengenai performa ayam Alope yang diberi L-arginine pada *hatcher* dan betaine selama masa pemeliharaan.

1.3 Landasan teori

1.3.1 Ayam Lokal

Di Indonesia terdapat berbagai jenis ayam lokal, baik yang asli maupun hasil adaptasi yang dilakukan puluhan bahkan ratusan tahun yang lalu. Ayam lokal yang tidak memiliki karakteristik khusus disebut sebagai ayam kampung. Masyarakat umumnya memelihara ayam kampung untuk mendapatkan daging, telur maupun sebagai tabungan yang sewaktu-waktu dapat diuangkan. Ayam lokal dapat digolongkan sebagai tipe pedaging (pelung, nagrak, gaok, dan sedayu), tipe petelur (kedu hitam, kedu putih, nusa penida, nunukan, merawang, wareng, dan ayam sumatera), dan dwiguna (ayam sentul, bangkalan, olagan, kampung, ayunai, melayu, dan ayam siem). Selain itu dikenal pula ayam tipe petarung (ayam banten, ciparage, tolaki, dan

kegemaran/hias, seperti ayam pelung, gaok, tukang, burgo, dsita dkk., 2020).

ayam hampir tersebar diseluruh wilayah Indonesia dan dapat dijumpai di desa maupun perkotaan. Pengembangan peternakan rakyat, terutama di pedesaan, diarahkan untuk mendorong diversifikasi pangan dan pendapatan masyarakat. Ayam buras cukup potensial untuk dikembangkan karena mudah beradaptasi dengan lingkungan, dan mampu



memanfaatkan limbah rumah tangga sebagai pakan serta dapat diusahakan oleh semua lapisan masyarakat. Ayam buras memiliki keunggulan dibandingkan dengan ternak unggas yang lain seperti ayam ras pedaging (*broiler*), lebih tahan terhadap beberapa penyakit, cepat beradaptasi dengan lingkungan, tidak mudah stres (Puspasari dkk., 2024).

Beberapa kelompok ayam kampung ternyata tahan terhadap berbagai penyakit seperti Flu Burung. Masalah pakan ayam kampung perlu diperhatikan karena tingkat pertumbuhannya relatif cepat dan sering disebutkan bahwa penggunaan pakan merupakan 60 hingga 70% dari seluruh biaya produksi (Trisiwi dan Supartini, 2015). Pertumbuhan ayam kampung dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu faktor terpenting adalah faktor nutrisi yang diperoleh dari pakan. Pertumbuhan ayam yang cepat dengan produktivitas tinggi memerlukan pakan yang cukup dengan kandungan nutrisi yang diperlukan seperti karbohidrat, protein, lemak, mineral dan vitamin (Irwanto dkk., 2023).

1.3.2 Early feeding

Perubahan yang terjadi pada suatu organ/jaringan atau organisme makhluk hidup merupakan wujud dari perubahan nilai satuan terkecil yaitu sel yang mengalami perubahan baik jumlah sel (hiperplasia) maupun pembesaran sel (hipertrofi). Pada dasarnya penggandaan sel terjadi pada organ/jaringan tubuh pada awal masa kehidupan (pra kelahiran) yang dilanjutkan dengan pembesaran sel pada masa pasca kelahiran sesuai dengan hierarki, sifat dan ukuran masing-masing sel, sehingga pertumbuhan dapat mencapai tujuan. berdampak pada berat organ atau komponen jaringan karkas (tulang, otot, lemak) (Londok and Rompis, 2019).

Masa setelah penetasan merupakan periode kritis bagi perkembangan saluran pencernaan dan sistem kekebalan tubuh pada anak ayam. Anak ayam lebih bergantung pada nutrisi yang dapat diserap untuk mengatasi lingkungan eksternal yang bergejolak, sementara efisiensi pemanfaatan tiga nutrisi utama (karbohidrat, protein, dan lipid) terus ditingkatkan. Sumber nutrisi secara bertahap bergeser dari kuning telur internal ke pakan eksogen, dan penyesuaian ini secara tidak langsung mendorong perkembangan sistem pencernaan pada anak ayam (Li *et al.*, 2022).

Anak ayam terbukti mendapat manfaat dari akses awal terhadap pakan dan air. Anak ayam berumur 1 hari yang sehat merupakan penghubung penting antara tempat penetasan dan peternakan ayam pedaging. Tertundanya asupan air dan nutrisi pada anak ayam dapat menyebabkan berkurangnya performa pertumbuhan mereka secara keseluruhan. Nutrisi awal atau pemberian pakan pada produksi unggas

sep pemberian nutrisi yang dibutuhkan unggas baik pada masa atau segera setelah menetas hingga mencapai sistem tang (Jha *et al.*, 2019).

an merupakan masa kritis dalam perkembangan dan Pada hari pertama, anak ayam memerlukan energi yang cukup energi yang hilang selama proses pemecahan cangkang,



penanganan di *hatcher*, dan selama transportasi. Pasalnya, anak ayam membutuhkan asupan nutrisi yang cepat, untuk memulihkan energi yang hilang dengan pemberian pakan dan air. Pemberian pakan dan air lebih dini penting untuk meningkatkan fungsi saluran cerna, mempercepat pembelahan sel saluran cerna, meningkatkan daya serap pakan dan respon imun, sehingga mampu mempercepat penyerapan kuning telur.

Kuning telur yang terdapat dalam tubuh dimanfaatkan dalam waktu yang singkat namun dapat menambah berat badan dan meningkatkan perkembangan saluran pencernaan setelah anak ayam menetas. Sebaliknya, semakin lama penundaan pemberian pakan dan air pada anak ayam umur sehari menunjukkan pengaruh negatif terhadap perkembangan dan fungsi saluran pencernaan menurunnya respon imunitas, tingginya angka kematian pada awal umur hidup dan penurunan kinerja (Pakiding *et al.*, 2020).

1.3.3 L-arginine

Arginine adalah asam amino basa pada manusia dan hewan. Ada 2 jenis *arginine*, yaitu *D-arginine* dan *L-arginine*. *L-arginine* memainkan berbagai peran fisiologis pada ternak dan unggas. *L-arginine* adalah asam amino fungsional dan memainkan peran penting dalam sintesis dan metabolisme nutrisi. Hampir semua jaringan tubuh menggunakan *L-arginine* untuk mensintesis protein sitoplasma dan nukleoprotein. *Arginine* dapat meningkatkan sintesis protein otot, pembelahan sel, pemulihan luka, sekresi hormon, dan proses fisiologis lainnya (Chen *et al.*, 2023).

Pakan merupakan salah satu faktor yang berpengaruh besar terhadap pertumbuhan perlu diperhatikan dalam pemeliharaan ayam. Pakan yang baik harus mencukupi dari segi kualitas, kuantitas dan kontinuitas. Dalam pemberian pakan pada ayam harus memperhatikan keseimbangan protein, energi, dan vitamin. *L-arginine* adalah stimulator penting pelepasan hormon pertumbuhan. *L-arginine* dapat meningkatkan massa otot. Selain itu, *L-arginine* juga merupakan senyawa yang berperan penting dalam aktivitas fisiologis ayam seperti oksida nitrat, poliamina, dan dimetil *arginin* (Lisnahan dkk., 2021).

Pada unggas, *arginine* (Arg) merupakan asam amino esensial dan juga merupakan asam amino fungsional karena kurangnya karbamoil-fosfat sintetase dan ornitin karba-moil transferase dalam siklus urea. Ini adalah substrat penting untuk sintesis protein dan prekursor banyak molekul seperti oksida nitrat, kreatin, ornitin, glutamat, glutamin, poliamina, prolin, dan agmatin. *Arginine* dan/atau turunannya meningkatkan kinerja pertumbuhan, reproduksi, sekresi enzim pencernaan, ekspresi status antioksidan, fungsi penghalang usus, dan kekebalan. Asupan *arginine* dari makanan dapat meningkatkan respons imun dan cedera usus, dan menormalkan fungsi ileum (Ruan *et al.*,



1.3.4 Betaine

Banyak tanaman obat dan bahan makanan yang mempunyai khasiat terapeutik dan beberapa diantaranya telah dikembangkan sebagai makanan fungsional. Sejumlah laporan ilmiah telah menunjukkan bahwa banyak dari produk alami ini memiliki sifat biologis yang menguntungkan yang berkontribusi terhadap aktivitas terapeutiknya. Salah satu produk alami tersebut adalah betaine, juga dikenal sebagai trimetilglisin, zat alami stabil dan tidak beracun yang terdapat pada hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Meskipun betaine pertama kali diidentifikasi pada abad ke-19 pada buah bit (*Beta vulgaris*), betaine juga ditemukan dalam konsentrasi tinggi pada sumber makanan lain termasuk dedak gandum, bibit gandum, dan bayam, serta pada mikroorganisme dan tanaman invertebrata air (Arumugam *et al.*, 2021).

Betaine adalah istilah umum yang digunakan untuk turunan trimetil dari asam amino glisin, suatu zat untuk betaine-*homocysteine methyltransferase* di ginjal dan hati. Terdiri dari tiga gugus metil yang bersifat hidrofobik dan satu gugus karboksil yang bersifat hidrofilik (Ghany and Babazadeh, 2022). Betaine, ketika diteliti sebagai bahan tambahan air atau pakan, telah terbukti memiliki banyak manfaat bagi sektor unggas, termasuk meningkatkan komposisi karkas dengan mengubah metabolisme lipid, meningkatkan morfologi usus, dan meningkatkan pertahanan antioksidan, serta menurunkan peroksidasi lipid pada daging dada. Fungsi betaine sebagai donor metil dan osmolit telah dijelaskan secara menyeluruh dalam literatur ilmiah. Kapasitas betaine dalam mempengaruhi kinerja pertumbuhan dan komposisi karkas ayam (Alagawany *et al.*, 2022).

Suplementasi makanan dengan betaine berdampak positif pada kinerja pertumbuhan, hasil otot, metabolisme lemak, dan kekebalan. Betaine telah digunakan sebagai agen lipotropik untuk mengurangi dan membebaskan lemak dari hati dan pergantian lipid dari tubuh. Ini juga dapat digunakan untuk menangani pola makan ayam pedaging dengan protein kasar rendah (dengan rasio energi metabolisme: protein kasar yang tinggi). Selain itu, efek osmoregulasi betaine sangat penting untuk fungsi metabolisme sistem kekebalan tubuh, kardiovaskular, saraf, dan ginjal. Karakter osmotik betaine juga dapat membantu meringankan tekanan panas dan meningkatkan pencernaan nutrisi (Ghany and Babazadeh, 2022).

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian L-arginine saat di dalam *hatcher* dan betaine pada pakan saat pemeliharaan dalam na ayam Alope betina. Kiranya penelitian ini adalah sebagai i masyarakat mengenai peran L-arginine dan betaine dalam na ayam Alope betina.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan Oktober 2024. Ayam ditetaskan pada mesin *hatcher* dan pemeliharaan dilakukan di kandang Laboratorium Reproduksi Ternak Unggas. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Balai Besar Veteriner, Maros, dan jaringan otot diamati pada Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Materi Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: mesin setter, mesin *hatcher*, kandang individu, lampu pijar, termostat, termometer digital, tempat pakan, nipple drinker, botol plastik, wadah pencampur pakan, plastik penutup wadah perlakuan, timbangan analitik, corong merah, hand sprayer, alat tulis dan buku catatan, pisau bedah, pinset anatomi, wadah tempat sampel, label, mikrotom, mikroskop cahaya, cawan petri, botol semprot, alat pemanas (*hot plate*), kaca objek dan kaca penutup, oven atau inkubator, parafin blok atau cetakan parafin, kamera digital, serta komputer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: ayam Alope, pakan komersil, air, L-arginine, betaine, penanda, dan disinfektan. Pada pembuatan preparat, digunakan jaringan otot, larutan formalin 10%, akuades, larutan mounting, pewarna histologi, parafin cair.

2.3 Tahapan dan Prosedur Penelitian

2.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2×4 dengan 5 ulangan dan pada pengamatan jaringan otot digunakan 3 ulangan. Adapun susunan perlakuan yang di terapkan yaitu:

- 1 Faktor I : Level pemberian L-arginine pada awal penetasan yang diberi di *hatcher*

A1 : Air 100 ml (kontrol)

100 ml + L-arginine 0,25 g

Level pemberian betaine yang dicampur pada pakan saat ayam

1g

1% betaine

2% betaine

3% betaine

4% betaine



2.3.2 Prosedur Penelitian

2.3.2.1 Persiapan Kandang dan Peralatan

Pada penelitian ini, digunakan kandang tipe *cages* (individu) yang berukuran 30 x 50 cm sebanyak 80 petak. Masing-masing *cages* dilengkapi dengan tempat pakan individu serta *nipple* sebagai tempat minum ayam. Sebelum DOC dimasukkan dalam kandang, terlebih dahulu dilakukan sanitasi dan desinfeksi kandang untuk membunuh dan memutus rantai perkembangan mikroorganisme. Peralatan kandang (tempat pakan dan minum) sebelumnya dicuci dengan menggunakan sabun dan dibilas dengan menggunakan air. Kandang diberi lampu pijar yang dilengkapi dengan termostat digital yang berfungsi mengatur temperatur selama fase *brooding* dengan suhu 32-33° C dan juga berfungsi sebagai penerang pada malam hari.

2.3.2.2 Persiapan DOC

Telur yang digunakan adalah telur yang dihasilkan oleh ayam Alope. Kemudian telur dibersihkan dengan desinfektan dan disortir sebelum masuk ke dalam mesin *setter*. Telur berada di mesin *setter* selama 18 hari, lalu pada hari ke 19 dilakukan *candling* sebelum dipindahkan ke mesin *hatcher* sampai hari pada hari ke 21 telur menetas. Dari hari ke 19 sampai hari ke 21 di dalam mesin *hatcher* dilakukan perlakuan *early feeding* yaitu pemberian air minum dan air yang dicampur dengan L-arginine serta pemberian pakan. Dihari ke 21, anak ayam yang telah menetas dikeluarkan dari mesin, kemudian dilakukan pemberian vaksin ND dan penimbangan bobot awal DOC.

2.3.2.3 Pemeliharaan Ayam Buras Pedaging

Penelitian ini menggunakan 80 ekor ayam Alope dengan jenis kelamin campuran (*unsexed*). Pemeliharaan dimulai pada umur 1 hari (DOC) sampai umur 70 hari. Melakukan sanitasi kandang dan desinfeksi untuk memperoleh lingkungan yang bersih, higienis, dan sehat. Ayam buras pedaging ditempatkan secara acak pada kandang yang telah disiapkan dimana dalam setiap *cage* terdiri dari 1 ekor ayam. Pakan yang digunakan adalah pakan komersial yang ditambahkan betaine sesuai dengan masing-masing perlakuan. Tiap 1 kg pakan dicampurkan dengan 1 perlakuan betaine. Masing-masing ternak ayam alope diberi 500 g sesuai dengan kapasitas wadah penampung pakan perlakuan. Pemberian pakan dan pemberian air ara *ad libitum*. Pengidentifikasian jenis kelamin dilakukan pada 70 hari yang didasarkan pada bentuk morfologi ayam. Jumlah tiap perlakuan diidentifikasi sebagai ulangan, sehingga jumlah n adalah 40 ekor ayam betina.



2.3.2.4 Pengambilan Sampel Jaringan Otot

Sebelum melakukan pengambilan sampel dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat hidup ayam Alopecurus, setelah itu dilakukan pengkarkasan dengan memisahkan bagian sayap, dada, paha, punggung, ampela dan usus, serta kepala dan leher. Kemudian menimbang bagian-bagian tersebut, pengambilan sampel untuk jaringan otot di ambil pada bagian dada ayam. Bagian dada kiri, kanan, dan tengah diiris kecil berukuran 3 cm dan dilakukan 3 ulangan sampel pada 1 ekor ayam. Selanjutnya potongan sampel tersebut di masukkan dalam botol sampel yang diberi cairan pengawet dari campuran formalin 10 % dan aquades. Setelah itu botol sampel ditutup dan diberi label agar sampel tersebut tidak tertukar.

2.4 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati terdiri dari konsumsi pakan dan air minum pada *hatcher*, konsumsi pakan, pertambahan bobot badan, konversi pakan, dan jaringan otot.

2.4.1 Konsumsi Pakan dan Air Minum pada *Hatcher*

Pada hari ke-18 doc dimasukkan kedalam kandang. Tempat pakan dan air minum yang telah dibuat juga dimasukkan dalam kandang. Pakan dan air minum yang diberikan ditimbang sebelum dimasukkan ke dalam *hatcher*, dan kemudian setelah keluar dari *hatcher* sisa air minum dan sisa pakan tersebut ditimbang untuk menghitung konsumsi air dan pakan pada ayam di dalam *hatcher*. Untuk menghitung air yang menguap selama di dalam *hatcher*, maka disiapkan tempat pakan dan air minum kontrol.

2.4.2 Konsumsi Pakan

Konsumsi pakan diukur setiap minggu. Konsumsi pakan merupakan selisih dari jumlah pakan yang diberikan dengan pakan jumlah sisa pakan (Nuningtyas, 2014). Rumus yang digunakan untuk menghitung konsumsi pakan sebagai berikut:

$$\text{Konsumsi pakan} = \text{pakan yang diberikan} - \text{pakan yang tersisa (g/ekor)}$$

2.4.3 Pertambahan Bobot Badan

Pengukuran bobot badan dengan melakukan penimbangan setiap minggu sebelum (Ilham dkk., 2023). Pertambahan bobot badan (PBB) dihitung n rumus:



$$= \text{bobot badan akhir (g/ekor)} - \text{bobot badan awal (g/ekor)}$$

2.4.4 Konversi Pakan

Konversi pakan adalah perbandingan atau rasio antar jumlah pakan yang dikonsumsi oleh ternak dengan pertambahan bobot badan yang dihasilkan oleh ternak (Suharto dkk., 2023). Konversi pakan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Konversi pakan} = \frac{\text{konsumsi pakan (g)}}{\text{bobot badan akhir} - \text{berat DOC (g)}}$$

2.4.5 Jaringan Otot

Pada akhir pemeliharaan dilakukan pemotongan bagian otot dada. Sampelnya diambil untuk selanjutnya dibuat preparat untuk melakukan pengamatan pada jaringan otot. Jaringan otot yang diamati yaitu :

1. Jumlah myofibril
Penentuan jumlah myofibril diperoleh dari hasil perhitungan banyaknya serabut myofibril yang terdapat dalam 1 mm² preparat histologi yang dilihat dari potongan otot.
2. Diameter myofibril
Diameter myofibril diukur dari dua arah secara melintang. Diameter diperoleh dari jumlah diameter panjang dengan diameter pendek dibagi 2.
3. Luas permukaan myofibril
Luas permukaan myofibril diukur pada permukaan luar serabut myofibril setelah penentuan diameter myofibril.

2.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 4 dengan 5 ulangan dan pada pengamatan jaringan otot dilakukan 3 ulangan. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Duncan. Model matematis yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + A_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

- i = 1,2 (jumlah perlakuan L-arginine)
j = 1,2,3,4 (jumlah perlakuan betaine)
k = 1,2,3,4,5 dan 1,2,3 (jumlah ulangan)



pengamatan pengaruh perlakuan ke-i, pengaruh perlakuan k
ulangan ke-k
rata pengamatan
aruh perlakuan ke-i

- B_j = Pengaruh perlakuan ke-j
 AB_{ij} = Interaksi antara perlakuan faktor I dan perlakuan faktor II
 ϵ_{ijk} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i, perlakuan ke-j dan ulangan ke-k

