

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri peternakan unggas, khususnya ayam pedaging, merupakan salah satu sektor yang berkembang pesat di Indonesia. Ayam pedaging memiliki produktivitas tinggi dalam hal pertumbuhan dan efisiensi konversi pakan, sehingga menjadi komoditas unggas utama dalam penyediaan daging konsumsi nasional. Namun demikian, peningkatan produktivitas tersebut sering dihadapkan pada tantangan kesehatan, terutama infeksi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan penyebab utama kolibasilosis pada ayam pedaging yang dapat menimbulkan gangguan enterik, menurunkan performa pertumbuhan, serta meningkatkan angka mortalitas, sehingga berdampak langsung terhadap kerugian ekonomi peternak (Adeyemo *et al.*, 2021).

Besarnya biaya produksi dalam usaha peternakan ayam pedaging mendorong peternak untuk menerapkan berbagai strategi guna meningkatkan performa dan efisiensi produksi. Salah satu upaya yang umum dilakukan adalah penggunaan antibiotik dalam ransum untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen di saluran pencernaan. Namun, penggunaan antibiotik sintetis secara terus-menerus dalam jangka panjang menimbulkan berbagai dampak negatif, antara lain residu antibiotik pada produk ternak yang berisiko bagi kesehatan konsumen serta meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Kondisi ini mendorong perlunya pencarian alternatif antibakteri alami yang lebih aman, berkelanjutan, dan ramah lingkungan (Manyi-Loh *et al.*, 2022).

Pemanfaatan tanaman herbal sebagai sumber antibakteri alami merupakan salah satu pendekatan yang semakin banyak dikembangkan dalam sistem produksi ternak modern. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman herbal diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui berbagai mekanisme, seperti perusakan membran sel, penghambatan aktivitas enzim metabolik, serta gangguan terhadap proses respirasi sel bakteri. Mekanisme kerja yang bersifat non-spesifik tersebut menjadikan antibakteri alami relatif lebih aman dan berpotensi menekan risiko terjadinya resistensi bakteri (Gadde *et al.*, 2021).

Salah satu bahan herbal yang berpotensi dikembangkan sebagai antibakteri alami adalah kulit biji jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Kulit biji jambu mete merupakan limbah agroindustri yang dihasilkan dari proses pengacipan biji mete dan mengandung sekitar 32–37% minyak yang dikenal sebagai Cashew Nut Shell Liquid (CNSL). CNSL kaya akan senyawa fenolik bioaktif seperti asam anakardat, kardol, kardanol, dan 2-metil kardol

yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif maupun Gram positif (Silva *et al.*, 2020).

Senyawa asam anakardat diketahui mampu merusak integritas membran sel bakteri melalui peningkatan permeabilitas membran, sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan berujung pada kematian sel bakteri. Selain itu, senyawa kardanol dan kardol berperan dalam menghambat aktivitas enzim metabolik serta mengganggu sistem respirasi bakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit biji jambu mete dilaporkan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yang menunjukkan adanya hubungan dosis–respon yang jelas dalam penghambatan pertumbuhan bakteri patogen, termasuk *Escherichia coli* (Ferreira *et al.*, 2021).

Dalam konteks pemeliharaan ayam pedaging, penggunaan ekstrak kulit biji jambu mete sebagai *feed additive* antibakteri alami berpotensi memberikan manfaat ganda. Penurunan populasi bakteri patogen di saluran pencernaan dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora usus, meningkatkan kesehatan mukosa usus, serta mengoptimalkan proses penyerapan nutrisi. Kondisi tersebut pada akhirnya diharapkan mampu meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi produksi ayam pedaging (Alagawany *et al.*, 2022).

Aktivitas antibakteri ekstrak kulit biji jambu mete juga dipengaruhi oleh dosis atau konsentrasi yang diberikan. Beberapa kajian *in vitro* melaporkan bahwa ekstrak cashew nut shell liquid (CNSL) menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* pada kisaran konsentrasi rendah hingga menengah, dengan peningkatan daya hambat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Konsentrasi efektif yang sering dilaporkan berada pada kisaran 0,5–1%, tergantung pada metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan. Kisaran konsentrasi tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenolik dalam CNSL memiliki potensi antibakteri yang kuat meskipun digunakan pada dosis relatif rendah (Ogunjobi & Ogunwande, 2020). Selain sebagai antibakteri, kulit biji jambu mete juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian Musmalika *et al.* (2025) menunjukkan bahwa fraksi kulit biji jambu mete pada kisaran konsentrasi 80–320 ppm berpotensi sebagai sumber antioksidan alami, dengan peningkatan aktivitas antioksidan seiring meningkatnya konsentrasi, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai bahan aditif pakan unggas untuk membantu menekan stres oksidatif.

Hasil penelitian pada bagian lain tanaman jambu mete turut memperkuat potensi tersebut. Ginting *et al.* (2023) melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu mete dalam pakan ayam pada level 0,5% dan 1% mampu meningkatkan performa pertumbuhan, morfologi usus halus, serta parameter morfometrik ayam. Temuan ini mengindikasikan bahwa bagian lain dari tanaman jambu mete, termasuk kulit biji, juga berpotensi digunakan

sebagai *feed additive* alami untuk memperbaiki kesehatan pencernaan dan performa produksi ayam pedaging melalui aktivitas antibakterinya.

Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak kulit biji jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) pada ayam pedaging, khususnya dalam kaitannya dengan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* serta pengaruhnya terhadap performa produksi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka permasalahan yang dapat diidentifikasi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak kulit biji buah jambu mete?
- 1.2.3 Apakah kandungan antibakteri ekstrak kulit biji buah jambu mete memberi pengaruh terhadap produksi ternak ayam pedaging?
- 1.2.4 Apakah kandungan antibakteri ekstrak kulit biji buah jambu mete memberi pengaruh terhadap saluran pencernaan ayam pedaging?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian pemanfaatan ekstrak kulit biji buah jambu pada ayam pedaging terhadap aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut;

- 1.3.1 Untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak kulit biji buah jambu mete
- 1.3.2 Untuk mengevaluasi kandungan antibakteri ekstrak kulit biji buah jambu mete dapat memberi pengaruh terhadap produksi ternak ayam pedaging
- 1.3.3 Untuk mengevaluasi kandungan antibakteri ekstrak kulit biji buah jambu mete dapat memberi pengaruh terhadap saluran pencernaan ayam pedaging.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian pemanfaatan ekstrak kulit biji buah jambu pada ayam pedaging terhadap aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut;

- 1.4.1 Dapat menjadi solusi efektif sebagai antibakteri alternatif.
- 1.4.2 Dapat menjadi referensi inovasi dan teknologi dalam pengembangan pangatahuan ilmu peternakan berkelanjutan...

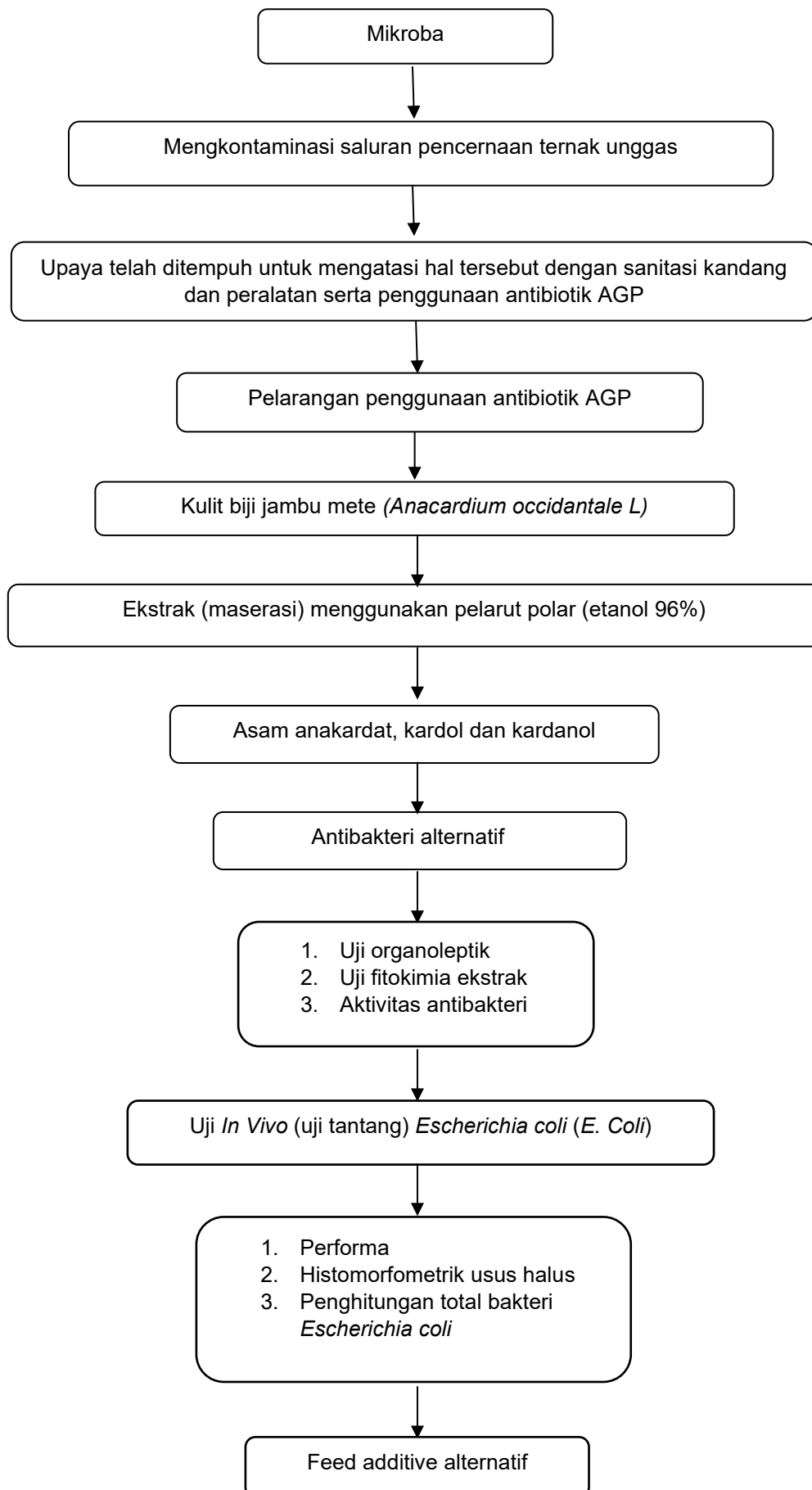
1.5 Kerangka Pikir

Mikroba seperti virus dan bakteri berpotensi membahayakan ternak yang dapat ditemukan diudara, makanan, dan air. Potensi yang ditimbulkan yaitu dapat mengkontaminasi produk daging atau telur yang akan dikonsumsi manusia. Menurut Halimatunnisroh et al (2017) Kesehatan usus salah satunya dipengaruhi oleh populasi mikroba yang ada didalamnya. Bakteri menguntungkan yang ada di usus halus misalnya bakteri asam laktat (BAL) sedangkan bakteri patogen misalnya bakteri *E.coli*.

Beberapa upaya telah ditempuh untuk mengatasi hal tersebut seperti melakukan sanitasi kandang dan peralatan serta penggunaan antibiotik. Upaya tersebut disamping

mempunyai banyak manfaat juga mempunyai keterbatasan, sebagai contoh untuk antibiotik sekarang ini ditemukan beberapa strain bakteri yang resisten terhadap antibiotic. Selain itu penggunaannya terutama pada negara maju termasuk Indonesia pengaturannya sudah sangat ketat karena pelarangan penggunaan antibiotik dalam pakan ternak telah diatur dalam Peraturan Menteri Pertanian Nomor 14 Tahun 2017 tentang klasifikasi Obat Hewan yang berlaku 1 Januari tahun 2018 yang dijelaskan pada Pasal 15 ayat 1 tentang Pelarangan penggunaan Obat Hewan terhadap ternak yang produknya untuk konsumsi manusia. Sehingga saat ini banyak masyarakat menengah telah beralih dari obatobatan kimia ke bahan herbal.

Bahan herbal atau tanaman obat diduga mempunyai potensi sebagai anti bakteri, selain itu harga lebih murah dan mudah diperoleh. Salah satu alternatif tanaman yang memiliki kandungan antibakteri misalnya Kulit jambu mete. Kulit biji jambu mete merupakan limbah pada pengolahan biji jambu mete yang terdapat disekitar 67 % dari mete glondong. Limbah padat ini mengandung 32-37 % minyak yang dikenal sebagai minyak laka atau CNSL (*Cashew Nut Shell Liquid*). CNSL mengandung senyawa fenolalam terdiri dari: asam anakardat, kardol, 2- metil kardol dan kardanol (Tyman, 1975). Senyawa fenol alam yang terkandung dalam kulit biji jambu mete mempunyai sifat khas, yang berperan dalam bidang industri, juga mempunyai sifat anti bakteri (Himejima, 1991). Kerangka piker dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Kerangka Pikir

BAB II

METERI DAN METODE

TAHAP 1 (IN VITRO)

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2024 di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo, Kendari.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, oven 65°C, blender, ayakan berukuran 30 mesh, toples kaca, corong kaca, labu erlenmeyer, paper disc, pipet steril 5 mm, pemanas, cawan petri, gelas beaker, kertas saring whatman, aluminium foil, evaporator, stirer, tanur, inkubator, tabung reaksi, spatula kaca, ose, bunsen, rak tabung, autoclave, korek api, jangka sorong, plastik wrap, dan tissue.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak kulit biji jambu mete, etanol 96%, nutrient agar, nutrient broth, aquades, alkohol, antibiotik Chemicals AGP sebagai kontrol positif dan biakan *Eschrechia coli*.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan rancangan acak lengkap (RAL) 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Sehingga total terdapat 15 unit percobaan. Perlakuan yang diterapkan adalah sebagai berikut:

Kontrol (+) = Antibiotik Chemicals AGP

P1 = Ekstrak kulit biji buah jambu mete konsentrasi 0,15%

P2 = Ekstrak kulit biji buah jambu mete konsentrasi 0,25 %

P3 = Ekstrak kulit biji buah jambu mete konsentrasi 0,5 %

P4 = Ekstrak kulit biji buah jambu mete konsentrasi 1 %

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Pengumpulan Bahan

Sampel kulit biji buah jambu mete dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 65°C selama 24 jam sampai benar-benar kering. Simplisia yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya, simplisia disimpan di tempat yang kering dan terhindar dari sinar

matahari langsung. Selanjutnya sampel diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

2.4.2 Ekstraksi Simplisia

Sebanyak 100 g simplisia kulit biji buah jambu mete diekstrak dengan metode maserasi (metode dingin) menggunakan pelarut etanol 96%. Perbandingan simplisia dan pelarut yang digunakan adalah 1:10 (b/V). Maserasi dilakukan pada suhu ruang selama 24 jam. Selama maserasi berlangsung, sampel diaduk setiap 1 jam pada 6 jam pertama. Maserat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi dengan rotary evaporator dengan suhu 45-50°C hingga didapat ekstrak kental (Candra et al, 2021). Selanjutnya dilakukan pemeriksaan organoleptik ekstrak yang terdiri dari bentuk, warna, dan bau (Depkes RI, 2000).

2.4.3 Kultur Bakteri

Media cair NB yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan dengan masing-masing bakteri yang sudah dikultur (*Escherichia coli*) sebanyak 100 µL kedalam tabung reaksi yang berbeda. Tutup dengan aluminium foil tiap tabung reaksi dan dimasukkan kedalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37 °C (Kumayas et al. 2015).

2.4.4 Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)

Media NA (Nutrient Agar) dibuat dengan cara menimbang media NA 2,8 gr dan larutkan dalam 100 ml aquades kemudian dipanaskan diatas hotplate hingga homogen, selanjutnya media dituang secara aseptis pada cawan petri steril untuk penggunaan. Sebelum menuang media, tunggu hingga suam-suam kuku ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) lalu dibiarkan pada suhu ruang hingga media memadat dengan sempurna (Juariah dan Sari 2018).

2.5 Parameter yang Diamati

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

2.5.1 Uji Fitokimia

Uji kualitatif kandungan fitokimia dalam ekstrak etanol kulit biji jambu mete dilakukan dengan metode reaksi warna untuk mengidentifikasi golongan tanin, saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, dan alkaloid (Yuniharni dan Marpaung, 2021).

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 mL kloroform, didiamkan selama 30 menit, kemudian disaring dan diambil filtratnya. Kemudian 2,5 mL amonia dan 2,5 mL H₂SO₄ ditambahkan ke dalam filtrat, kemudian dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Fraksi asam diambil dan ditambahkan pereaksi Dragendorff. Kandungan alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah pada pereaksi Dragendorff.

b. Uji Saponin

Ekstrak kental dilarutkan terlebih dahulu dengan air hangat. Setelah itu ditambahkan sedikit ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air, setelah itu didinginkan dan dikocok kuatkuat hingga terbentuk buih. Busa setinggi 1 cm yang berbentuk bulat menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Flavonoid

Ekstrak ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Tes positif jika membentuk warna merah, kuning, atau hijau.

d. Uji Steroid

Ekstrak ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann Burchard. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberi warna biru atau hijau.

e. Uji Tanin

Ekstrak dididihkan dalam 10 mL air, ditambahkan larutan 0,1% FeCl₃, bila timbul warna hijau atau biru hitam menandakan adanya tanin.

f. Uji Terpenoid

Menggunakan Salkowski test, 5 mL larutan ekstrak dalam kloroform ditambahkan 3 mL asam sulfat pekat, bila pada batas antara kedua fase terbentuk warna merah kecoklatan menandakan adanya terpenoid.

2.5.2 Uji Organoleptik Ekstrak

Organoleptik ekstrak kulit biji jambu mete diidentifikasi menggunakan panca indra untuk mengetahui bentuk, warna, dan bau. Parameter bentuk (padat, kental, dan cair), bau khas dan sangat khas, ditetapkan dengan pengamatan setelah bahan terkena udara selama 15 menit. Parameter organoleptik ekstrak bertujuan memberikan pengenalan awal terhadap simplisa dan ekstrak menggunakan panca indera dengan mendeksripsikan bentuk, warna, dan bau (Depkes RI 2000).

2.5.3 Uji Aktivitas antibakteri

Media NA cair dipipet sebanyak 20 mL, kemudian dimasukkan dalam *ependorf* dan ditambahkan 10 uL inokulum bakteri *Eschrechia coli* dan dihomogenkan. Setelah homogen tuangkan dalam cawan petri dengan gerakan melingkar sampai media merapat pada permukaan cawan petri, lalu di diamkan beberapa menit hingga memadat. Kemudian ditempatkan kertas cakram (berdiameter 0,5 cm) yang telah direndam dalam larutan uji (100% destilat CNSL, 0,15, 0,25, 0,5, dan 1 % serta Chemiclas sebagai kontrol positif) pada permukaan media padat. Setelah itu, cawan petri ditutup rapat dan dibungkus dengan plastik wrap. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu ruang (Nurliana dan Rustam, 2019).

2.6 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dan inferensial sesuai dengan jenis parameter yang diamati. Hasil uji organoleptik dan uji fitokimia ekstrak kulit biji buah jambu mete dianalisis secara deskriptif kualitatif, yaitu dengan mengamati perubahan warna, terbentuknya endapan, buih, atau reaksi khas lainnya pada masing-masing uji, kemudian dibandingkan dengan kriteria positif atau negatif berdasarkan metode standar yang digunakan. Sedangkan data uji aktivitas antibakteri di analisis menggunakan Anova, dilanjutkan dengan Kontras Ortogonal menggunakan aplikasi SPSS untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Model matematika (Gasperz, 1991) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

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

Keterangan :

- Y_{ij} : Nilai Pengamatan pada perlakuan dan ulangan
- μ : Nilai Tengah Umum
- α_i : Pengaruh perlakuan ke-i
- ϵ_{ij} : Galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

TAHAP 2 *IN VIVO*

2.7 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Februari 2025. Proses pemeliharaan dan pengambilan sampel dilakukan di kandang open house di Desa Bellabori, Kec. Parangloe, Kab. Gowa. Perhitungan Total Bakteri *E Coli* dan pembuatan preparasi sampel histomorfometrik dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Maros. Sedangkan pengamatan histomorfometrik dilakukan di Laboratorium Peternakan FST UIN Alauddin Makassar.

2.8 Materi Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, kandang penelitian, tempat pakan, tempat minum, lampu pijar, sapu, skop, plastik penampung pakan perlakuan, wadah pencampur pakan, pisau bedah, gunting bedah, pingset, penggaris, pita ukur, kotak preparat dan mikroskop.

Bahan utama pada penelitian ini adalah ayam ras pedaging umur satu hari (DOC) sebanyak 100 ekor, pakan komersil, antibiotik Chemicals AGP, sekam padi, NaCl, desinfektan, selotip, tissu, aquades, air dan formalin 10%.

2.9 Metode Penelitian

Penelitian menggunakan 100 ekor DOC ayam pedaging dengan Rancangan

Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan. Sehingga total terdapat 20 unit percobaan, setiap unit percobaan terdiri atas 5 ekor ayam. Penentuan level ekstrak kulit biji buah jambu mete didasarkan pada hasil uji aktivitas antibakteri sebagai dasar penetapan perlakuan pada tahap kedua. Adapun perlakuan pada penelitian ini terdiri atas:

P0 (+) = Ransum Komersial 100%

P1 (-) = Ransum Komersial 100 % + infeksi bakteri *E.coli* + Antibiotik Chemicals AGP

P2 = Ransum Komersial 100 % + infeksi bakteri *E.coli* + Ekstrak Kulit Biji Buah Jambu Mete 0,75 mL

P3 = Ransum Komersial 100 % + infeksi bakteri *E.coli* + Ekstrak Kulit Biji Buah Jambu Mete 1 mL

P4 = Ransum Komersial 100 % + infeksi bakteri *E.coli* + Ekstrak Kulit Biji Buah Jambu Mete 1,25 mL

2.10 Prosedur Uji Tantang Infeksi *Escherichia coli*

Uji tantang infeksi bakteri *Escherichia coli* dilakukan pada ayam pedaging umur 14 hari (2 minggu). Sebelum uji tantang, ayam dipastikan dalam kondisi sehat dan telah menerima perlakuan sesuai dengan rancangan penelitian.

2.10.1 Persiapan Suspensi Bakteri

Isolat bakteri *Escherichia coli* patogen yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Hasanuddin. Isolat tersebut ditumbuhkan pada media Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah inkubasi, suspensi bakteri disesuaikan konsentrasinya hingga mencapai sekitar 6×10^8 CFU/mL, menggunakan standar McFarland atau metode pengenceran bertingkat. Suspensi bakteri yang telah disiapkan digunakan segera untuk uji tantang.

2.10.2 Metode Pemberian Bakteri (Uji Tantang)

Uji tantang infeksi bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan metode pencekokan (*oral gavage*) sesuai dengan tujuan penelitian. Pada metode pencekokan, ayam dipegang secara hati-hati dengan posisi tubuh tegak dan kepala sedikit diangkat. S spuit steril tanpa jarum atau sonde oral dimasukkan secara perlahan melalui paruh menuju esofagus dengan memastikan alat tidak masuk ke saluran pernapasan. Suspensi bakteri *E. coli* sebanyak 1 mL per ekor kemudian dicekokkan secara perlahan ke dalam saluran pencernaan. Setelah pencekokan, ayam dikembalikan ke kandang dan diamati selama beberapa menit untuk memastikan tidak terjadi regurgitasi maupun gangguan pernapasan (Huff *et al.*, 2013)

2.11 Prosedur Penelitian

2.11.1 Kandang dan Peralatan

Pada penelitian ini, digunakan kandang tipe open house sebanyak 20 petak dengan menggunakan litter yang berasal dari sekam padi dengan ketebalan sekitar 5 cm. Seminggu 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 yang telah dicampur desinfektan. Kemudian melakukan pengapuran secara merata pada kandang untuk mematikan atau mengurangi bakteri yang masih tersisa seperti pada dinding dan lantai kandang. Kandang dilengkapi lampu pijar sebagai pemanas untuk fase brooding dengan suhu 32-33°C dan sebagai penerang pada malam hari.

2.11.2 Pemeliharaan Ayam Ras Pedaging

Penelitian ini menggunakan strain ayam Lohmann (MB202) sebanyak 100 ekor dengan jenis kelamin campuran (*unsexed*). Pemeliharaan dimulai pada umur 1 hari (DOC) sampai umur 35 hari dengan fase brooding selama 7 hari menggunakan lampu sebagai pemanas. Pengendalian penyakit dilakukan dengan penerapan biosekuriti pada kandang untuk mengurangi resiko penyebaran penyakit seperti pengendalian lalu lintas masuk dan keluar kandang. Serta melakukan sanitasi kandang seperti pembersihan dan desinfeksi untuk memperoleh lingkungan yang bersih, higienis, dan sehat.

Ayam ras pedaging ditempatkan secara acak pada kandang yang telah disiapkan dengan membagi menjadi 5 perlakuan dan 4 ulangan yang dimana setiap perlakuan terdiri dari 5 ekor ayam. Pakan yang digunakan adalah pakan komersial dengan kandungan nutrisi seperti pada Tabel 3 kemudian ditambahkan ekstrak kulit biji buah jambu mete sesuai dengan masing-masing perlakuan. Pemberian pakan dan pemberian air minum dilakukan secara *ad libitum*. Pakan fase starter diberikan pada umur 1 hari sampai umur 21 hari, sedangkan fase finisher diberikan pada umur 21 hari sampai 35 hari. Waktu pemberian pakan dilakukan pada pagi hari pukul 09.00 dan sore hari pukul 16.00.

Tabel 1 Kandungan Nutrisi Pakan Komersial

Zat Nutrisi	Persyaratan	Komposisi (%)		
		<i>Fase starter</i>	<i>Fase Grower</i>	<i>Fase finisher</i>
Kadar air	Maks	12,0	12,0	12,0
Protein kasar	Min	20,0	19,5	19,0
Lemak kasar	Min	5,0	5,0	5,0
Serat kasar	Maks	5,0	5,5	6,0
Abu	Maks	8,0	8,0	8,0
Kalsium (Ca)	Min	0,60	0,58	0,55
Fospor (P)	Min	0,50	0,48	0,45
Asam amino				
Lisin (min)	Min	1,20	1,12	1,05
Metionin (min)	Min	0,45	0,42	0,40
Metionin + Sistin (min)	Min	0,80	0,78	0,75
Triptopan (min)	Min	0,19	0,18	0,18
Treonin (min)	Min	0,75	0,70	0,65

Sumber: Hasil Analisis dari Produsen

2.12 Parameter yang Diamati

2.12.1 Performa Produksi

- a. Pertambahan Bobot Badan Harian (gram/ekor/ hari)

Pertambahan bobot badan harian (PBBH) dihitung dengan cara mengurangi bobot badan akhir ayam (BB_t) dengan bobot badan awal (BB_0), kemudian dibagi dengan lamanya waktu penelitian (Junita *et.,al.* 2025). Pertambahan bobot badan harian dihitung menggunakan rumus:

$$PBBH \text{ (kg)} = \frac{BB_t - BB_0}{\Delta t}$$

- b. Konsumsi Pakan (gram/ekor)

Konsumsi ransum dihitung dengan menghitung jumlah pakan yang digunakan setiap hari, kemudian dibagi dengan populasi ayam di dalam kandang (Junita *et.,al.* 2025).

$$\text{konsumsi pakan harian (g/ekor/hari)} = \frac{\text{jumlah pakan yang diberikan (g)} - \text{sisia pakan (g)}}{\text{jumlah ayam (ekor)} \times \text{Lama pemeliharaan (hari)}}$$

- c. Konversi Pakan

Konversi ransum dihitung dengan cara membagi konsumsi ransum dengan bobot badan yang dihasilkan di akhir masa pemeliharaan (Junita *et.,al.* 2025).. Rumus untuk menghitung nilai konversi ransum atau *feed conversion ratio* (FCR) adalah sebagai berikut:

$$FCR = \frac{\text{Konsumsi Ransum (g)}}{\text{Bobot Akhir} - \text{Bobot Awal (g)}}$$

2.12.2 Histomorfometrik

Pengambilan sampel usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) untuk melihat perkembangan vili dilakukan pada umur 35 hari. Duodenum didefinisikan sebagai segmen pertama usus halus yang dimulai dari pilorus (ujung lambung) hingga awal jejunum, berperan penting dalam proses pencernaan awal dan penyerapan nutrisi karena menerima sekresi enzim pencernaan dari pankreas serta empedu dari hati. Jejunum

merupakan segmen tengah usus halus yang terletak antara akhir duodenum dan Meckel's diverticulum, dan berfungsi utama dalam penyerapan zat-zat gizi seperti karbohidrat, protein, dan lemak hasil pencernaan. Ileum merupakan segmen terakhir usus halus yang membentang dari Meckel's diverticulum hingga awal percabangan sekum dan berperan dalam penyerapan sisa nutrisi serta reabsorpsi garam empedu. Luas vili diukur setelah jaringan usus diwarnai dengan hematoksin dan eosin (H&E), kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran objektif empat kali (4×), dan luas setiap vili dihitung dengan bantuan video mikrometer (Ducatelle *et al.*, 2021).

Sampel usus yang telah diperoleh kemudian dipotong sepanjang 2 cm untuk masing-masing segmen usus halus, yaitu jejunum dan ileum, lalu difiksasi dalam larutan 10% buffer formalin selama 24–48 jam untuk selanjutnya dibuat preparat histologis. Preparat histologi dengan pewarnaan hematoksin-eosin (H&E) disiapkan melalui proses dehidrasi menggunakan seri alkohol dengan konsentrasi bertingkat yang semakin tinggi. Setiap potongan jaringan direndam secara berurutan dalam tiap konsentrasi alkohol selama ±10 detik, kemudian dimasukkan ke dalam xylol dan akhirnya dicelupkan ke dalam parafin. Setelah itu, jaringan dipotong tipis menggunakan mikrotom, kemudian dilakukan pewarnaan hematoksin-eosin. Preparat histologi yang telah siap diletakkan pada kaca objek, diamati, dan diukur menggunakan mikroskop dengan bantuan komputer (Abd El-Hack *et al.*, 2023).

Langkah pengukuran luas permukaan vili dilakukan dengan mikroskop Olympus yang diatur pada pembesaran empat kali (4×). Citra histologi ditampilkan pada layar monitor JVCTMH 1750C, dan setelah diperoleh gambaran yang diinginkan, dilakukan pemotretan seluruh preparat yang akan diukur. Pengukuran dilakukan minimal tiga kali pada setiap slide untuk tiap parameter. Selanjutnya, luas vili diukur menggunakan komputer dengan program Microsoft Office Picture Manager pada pembesaran 20%. Sebelum pengukuran, standar ukuran mikrometer (μm) terlebih dahulu ditentukan melalui kalibrasi komputer untuk mengetahui nilai perbesaran yang dikonversikan ke satuan panjang (μm). Nilai satuan mikrometer yang diperoleh digunakan sebagai acuan dalam mengukur panjang dan lebar vili yang tampak pada layar monitor (Chen *et al.*, 2022)..

2.12.3 Penghitungan Total Bakteri *E. Coli*

Penghitungan total *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN). Proses diawali dengan pembuatan pengenceran berseri dari sampel digesta usus ke dalam larutan pengencer steril. Setiap tingkat pengenceran kemudian diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi media selektif cair, seperti *Lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB), yang dilengkapi dengan tabung Durham untuk mendeteksi produksi gas. Selanjutnya, tabung diinkubasi pada suhu 35–37 °C selama 24–48 jam. Tabung yang menunjukkan reaksi positif (terjadi perubahan warna, kekeruhan, atau

terbentuknya gas) kemudian dikonfirmasi dengan cara subkultur pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Koloni *E. coli* yang tumbuh akan menunjukkan ciri khas berupa koloni berwarna hijau metalik. Jumlah tabung positif dari tiga tingkat pengenceran dibandingkan dengan tabel MPN standar untuk memperoleh estimasi populasi bakteri, dan hasil akhir dinyatakan sebagai MPN/g sampel (APHA, 2017; FDA, 2018).

2.13 Analisis Data

Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis ragam ANOVA, dilanjutkan dengan Kontras Ortogonal menggunakan aplikasi SPSS untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Model matematika (Gasperz, 1991) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

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

Keterangan :

Y_{ij} : Nilai Pengamatan pada perlakuan dan ulangan

μ : Nilai Tengah Umum

α_i : Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} : Galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j