

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian mengenai pengaruh penggunaan gathot dalam ransum terhadap total leukosit dan diferensial leukosit ayam broiler dilaksanakan pada tanggal 16 Oktober 2015 sampai dengan 22 November 2015 selama 5 minggu di Kandang Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis darah dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Hewan Prof. Soeparwi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

3.1. Materi

Materi penelitian yang digunakan pada penelitian yaitu 160 ekor DOC ayam broiler (*unsex*), strain Lohmann tipe MB-202 kualitas platinum. Kebutuhan ransum yang digunakan yaitu ransum basal (BR1) pada umur 1-14 hari, sedangkan ransum perlakuan pada umur 14-35 hari dengan protein kasar 20% dan energi metabolis 2900 kkal/kg. Bahan penyusun ransum terdiri dari gathot, jagung, bekatul, tepung ikan, bungkil kedelai, *Poultry Meat Meal* (PMM), *pollard* dan *top mix*. Ransum diberikan kepada ayam broiler dalam bentuk *mash*. Selain itu, bahan yang digunakan untuk pemeliharaan adalah air gula, *Vita chick*, vaksin ND (*Newcastle Diseases*) 1, desinfektan, deterjen, kapur gamping dan sekam padi. Kandang terdiri dari 20 petak dengan ukuran 1 m × 1 m untuk 8 ekor setiap kandang, dimana setiap petak dilengkapi satu tempat pakan dan tempat minum serta lampu pijar 60 watt sebagai pemanas buatan. Peralatan yang digunakan

timbangan untuk menimbang bobot badan, bahan pakan dan sisa pakan; termometer untuk mengukur suhu dalam kandang, *hygrometer*, *spraying*, ember dan nampan.

3.2. Metode

Tahap persiapan terdiri dari analisis proksimat gathot, persiapan kandang, desinfeksi, pengapuran, fumigasi kandang dan lingkungan sekitar, persiapan peralatan yang digunakan selama pemeliharaan, pembuatan perhitungan formulasi ransum, menghitung kebutuhan pakan selama 5 minggu, pengadaan ransum basal, pengadaan gathot, pemesanan DOC, pengadaan bahan pakan. Kandungan nutrisi bahan penyusun ransum ayam broiler dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Bahan Penyusun Ransum Ayam Broiler

Bahan Pakan	Lemak Kasar	Serat Kasar	Protein Kasar	Ca	P	Abu	Air	Energi Metabolis
(%).....							(kkal/kg)
Gathot ^a	1,51	2,81	1,95	-	-	1,43	13,25	3568,92 ^d
Jagung Kuning ^c	3,72	2,55	9,56	0,01	0,26	-	-	3283,00
Tepung Ikan ^c	4,53	8,31	58,51	7,62	3,39	-	-	2150,00
Bungkil Kedelai ^c	2,04	4,25	49,88	0,27	0,76	-	-	2911,00
Bekatul ^b	13,00	6,00	12,90	0,07	0,22	-	-	2400,00
PMM ^c	11,19	8,09	54,59	6,45	3,26	-	-	2780,00
Pollard ^c	3,88	11,30	15,56	0,08	0,78	-	-	2786,00

Sumber : ^a = Hasil analisis proksimat di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak Fakultas Peternakan dan Pertanian UNDIP (2015).

^b = Nurulmukhlis, (2014).

^c = Setiawan *et al.* (2013).

^d = Hasil perhitungan didasarkan rumus Balton, Anggorodi (1994).

BETN = 100- (%Air + %Abu + %PK + %LK + %SK)

EM = 40,81 {0,87(PK + 2,25LK + BETN) + 2,5}

Kandungan nutrisi ransum basal (BR1) ayam broiler dapat dilihat pada Tabel 2., sedangkan komposisi dan kandungan nutrisi ransum perlakuan ayam broiler dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Kandungan Nutrien Ransum Basal Ayam Broiler

Nutrisi	Kandungan
(%).....
Kadar Air	13,00
Lemak	5,00
Protein	22,00
Serat	5,00
Kalsium (Ca)	0,90
Phospor (P)	0,60
Energi Metabolis (kkal/kg)	2900,00

Sumber : Charoen Pokphand Indonesia (2012).

Tabel 3. Komposisi dan Kandungan Nutrien Ransum Perlakuan Ayam Broiler

Bahan Pakan	Perlakuan			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
(%).....			
Gathot	0	2,5	5,0	10,0
Jagung Kuning	57,0	53,5	49,0	41,0
Tepung Ikan	9,7	10,0	9,8	8,0
Bungkil Kedelai	7,0	9,3	9,0	12,1
Bekatul	11,2	11,3	10,4	12,6
PMM	5,1	4,0	4,2	4,5
Top Mix	1,0	1,0	1,0	1,0
Pollard	9,0	8,4	11,6	10,8
Kandungan nutrisi	100	100	100	100
PK (%)	20,04	20,40	20,26	20,37
LK (%)	3,94	3,77	3,74	3,57
SK (%)	5,86	5,81	6,03	6,21
Ca (%)	1,10	1,05	1,05	0,94
P (%)	0,83	0,81	0,82	0,77
EM (Kkal/kg)	2944	2947	2949	2954

Tahap pemeliharaan ayam broiler selama 35 hari meliputi pemberian pakan perlakuan penggunaan *gathot* pada umur 14-35 hari. Tahap awal meliputi menimbang berat badan DOC dan menghitung jumlah DOC awal, kemudian memberikan larutan air gula berkadar 2% setelah DOC *chick in*. Tahap selanjutnya yaitu ransum basal (BR1) diberikan pada umur 1-14 hari dan pakan perlakuan diberikan pada umur 14-35 hari sesuai kebutuhan ransum periode *finisher* dengan protein kasar 20% dan energi metabolis 2900 kkal/kg. Ayam diberikan pakan 3 kali sehari dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Pakan perlakuan yang diberikan adalah T0 = Ransum tanpa *gathot* (ransum kontrol), T1 = Ransum dengan 2,5% tepung *gathot*, T2 = Ransum dengan 5% tepung *gathot*, T3 = Ransum dengan 10% tepung *gathot*

Pembersihan kandang, tempat pakan dan minum, pengontrolan penyakit dan pengaturan tinggi tirai kandang dilakukan setiap hari, penggantian sekam padi serta penimbangan bobot badan dilakukan setiap minggu.

3.3. Tahap Pengambilan Data

Tahap pengambilan data meliputi pengukuran konsumsi ransum, penambahan bobot badan, pengambilan sampel darah. Cara pengambilan sampel darah adalah ayam diambil secara acak sebanyak 1 ekor dari setiap unit percobaan dilakukan pada hari ke-34. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *vena brachialis* dengan menggunakan *sprit* berukuran 3 ml, darah dimasukkan ke dalam tabung *Ethylene Diamine Tetraacetik Acid* (EDTA). Selanjutnya, sampel darah dianalisis pada hari yang sama.

3.3.1. Konsumsi ransum

Konsumsi ransum dihitung berdasarkan selisih ransum yang diberikan dengan sisa ransum setiap hari pada setiap unit perlakuan.

3.3.2. Pertambahan bobot badan harian

Rataan pertambahan bobot badan dihitung dari rata-rata bobot badan per ekor setiap minggu mulai minggu ke 2 sampai minggu ke 5, kemudian dijumlahkan dan dibagi dengan jumlah hari.

3.3.3. Perhitungan jumlah leukosit

Sampel darah dihisap menggunakan pipet leukosit hingga tertera tanda 0,5 atau 1,0 dengan aspirator. Ujung pipet dibersihkan dengan menggunakan tisu, lalu larutan pengencer *Rees Ecker* dihisap hingga tepat tanda 5. Kemudian diputar dengan membentuk angka 8 hingga homogen, jangan sampai tumpah dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya, teteskan 3-4 tetes ke dalam kamar hitung (*hemocytometer*), usahakan tidak ada udara yang masuk lalu didiamkan selama 3 menit. Setelah itu, menghitung jumlah sel leukosit di bawah mikroskop dalam 4 kotak besar dengan perbesaran 10x dan didapatkan hasil jumlah leukosit sesuai standar yang berlaku.

3.3.4. Perhitungan diferensial leukosit

Sampel darah dipastikan tidak ada bekuan. Sampel darah diambil dengan mikropipet dan diteteskannya pada kaca objek yang bersih pada sisi kanan ± 1 cm

dari tepi kanan kaca objek. Kaca objek lainnya ditempatkan pada tepi yang halus dan rata pada tetesan darah (biarkan darah menyebar pada sisi tepi penggeser), kemudian didorong penggeser ke kiri secara cepat dengan sudut kemiringan 25° dan dibiarkan kering di udara. Apusan darah diletakkan di rak pengecatan lalu digenangi dengan *Cat Wright* selama 2 menit. Setelah itu, ditambahkan larutan buffer fosfat pH 6,8 sama banyak, dicampur lalu didiamkan 10-15 menit. Dicuci apusan darah dengan air kran lalu dikeringkan di udara.

Apusan darah tersebut dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x dan dicari daerah yang penyebaran diferensial leukositnya merata, daerah tersebut kemudian ditetesi dengan minyak imersi. Lensa obyektif digeser ke pembesaran 100x, dengan menggunakan *differential cell counter*, kemudian dihitung jenis sel leukosit sampai didapat 100 sel dan dilaporkan dalam %. Hasilnya yang akan keluar dapat dibandingkan dengan interpretasi normal meliputi eosinofil (1-4%), basofil (0-1 %), heterofil (36-66%), limfosit (22-40 %), monosit (2-8 %).

3.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Statistik

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan, sehingga terdapat 20 unit percobaan. Setiap unit percobaan diisi oleh 8 ekor DOC ayam broiler (*unsex*). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam (Anova) dengan uji F hitung untuk mengetahui pengaruh perlakuan, jika perlakuan hasilnya berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) atau uji wilayah ganda (Steel and Torrie, 1995).

Model Linier dari Rancangan Acak Lengkap (Steel and Torrie, 1995) yaitu

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} ; i = (1, 2, 3, 4) \text{ dan } j = (1, 2, 3, 4, 5)$$

Keterangan :

Y_{ij} = Jumlah leukosit dan diferensial leukosit ayam broiler ke-j akibat pengaruh penggunaan tepung gathot dengan persentase penggunaan tepung *gathot* ke-i

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi)

τ_i = Pengaruh penggunaan tepung gathot dengan persentase penggunaan ke-i yang berbeda

ε_{ij} = Perlakuan galat percobaan sesuai parameter ke-j akibat pengaruh penggunaan tepung gathot yang dengan persentase penggunaan tepung gathot ke-i

Hipotesis statistik dari penelitian ini yaitu :

$H_0 : \tau = 0$: penggunaan gathot pada ransum tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah leukosit dan diferensial leukosit ayam broiler

$H_1 : \tau_i \neq 0$: penggunaan gathot pada ransum berpengaruh nyata terhadap jumlah leukosit dan diferensial leukosit ayam broiler

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam. Adapun kriteria pengujian adalah sebagai berikut:

Jika $F_{hit} < F_{tabel}$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Jika $F_{hit} \geq F_{tabel}$, maka H_1 diterima dan H_0 ditolak.