

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan bulan Desember 2016–Januari 2017. Lokasi pemeliharaan ayam broiler di Peternakan milik Bapak Hadi Desa Sodong Kecamatan Mijen Kota Semarang. Analisis jumlah dan diferensial leukosit dilaksanakan di Rumah Sakit Hewan (RSH) Prof. Soeparwi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah 100 ekor ayam broiler *unsex* berumur satu hari dengan bobot badan awal rata-rata $36,165 \pm 1,325$ g (CV 2,60) yang diproduksi oleh PT. Charoend Pokphand Indonesia dengan merek dagang CP 707. Pakan yang diberikan yaitu pakan komplit butiran yang diproduksi oleh PT. Charoend Pokphand Indonesia dengan merek dagang B-11SB yang diberi aditif tepung Jahe. Kandungan nutrisi pakan B-11SB (PT. Charoend Pokphand Indonesia) disajikan pada Tabel 2, sedangkan kandungan nutrisi tepung Jahe disajikan pada Tabel 3. Perlengkapan dan peralatan kandang berupa tempat pakan, tempat minum dan lampu pemanas pada tiap petak. Termohigrometer digunakan untuk mengukur suhu dan kelembaban. Perlengkapan dan peralatan pengambilan darah meliputi spuit, tabung darah dengan antikoagulan EDTA dan *cool box* (kotak pendingin). Perlengkapan dan peralatan analisis total leukosit meliputi mikroskop, pipet leukosit, larutan Turk, bilik hitung *improve neubauer*, kaca

penutup, kapas dan kertas tisu. Peralatan dan perlengkapan untuk analisis diferensial leukosit meliputi kaca objek, pipet tetes, batang kaca, pewarna Giemsa, larutan metanol, botol semprot dan air destilasi.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Pakan B-11SB (PT. Charoend Pokphand Indonesia)

Kandungan Nutrisi Pakan	Jumlah
	----- (%) -----
Kadar Air	13,00
Protein	21,00 - 23,00
Lemak	5,00
Serat Kasar	5,00
Abu	7,00
Kalsium	0,90
Fosfor	0,60

Tabel 3. Kandungan Nutrisi Tepung Jahe

Kandungan Nutrisi Tepung Jahe	Jumlah
	----- (%) -----
Kadar Air	13,50
Protein	5,00
Lemak	9,40
Serat Kasar	5,15
Abu	5,42
Kalsium	0,09

Keterangan: Berdasarkan analisa proksimat BPPT (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian) Jawa Tengah

Kandungan nutrisi pakan yang terkandung dalam B-11SB (PT. Charoend Pokphand Indonesia) meliputi kadar air, protein, lemak, serat kasar, abu, kalsium dan fosfor. Kandungan nutrisi tepung Jahe meliputi kadar air, protein, lemak, serat kasar, abu dan Kalsium.

3.2. Metode

Penelitian ini meliputi tiga tahap, tahap pertama yaitu persiapan, tahap kedua yaitu pemeliharaan dan tahap terakhir adalah pengambilan data.

3.2.1. Rancangan penelitian

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dengan 5 ulangan, sehingga ada 20 unit percobaan, masing-masing unit berisi 5 ekor ayam. Data yang terkumpul selanjutnya diolah secara statistik dengan analisis ragam uji (F) yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Data hasil pengamatan jumlah leukosit sebelum dianalisis menggunakan uji (F) ditransformasikan menggunakan logaritma berbasis 10, data hasil pengamatan heterofil ditransformasikan menggunakan arcsin, data hasil pengamatan eosinofil ditransformasikan menggunakan arcsin yang dilanjutkan dengan transformasi akar dan data hasil pengamatan rasio heterofil dan limfosit ditransformasikan menggunakan logaritma $[Y+1]$. Perlakuan yang diterapkan berupa penambahan tepung Jahe dalam pakan yang dimulai dari ayam berumur 1 hari yaitu

T0: Pakan basal tanpa penambahan tepung Jahe

T1: Pakan basal+0,5% tepung Jahe

T2: Pakan basal+1% tepung Jahe

T3: Pakan basal+1,5% tepung Jahe

3.2.2. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi persiapan pakan dan pembuatan tepung Jahe.

Pembuatan tepung Jahe dilakukan dengan membersihkan terlebih dahulu Jahe yang telah diperoleh kemudian diparut. Setelah diparut, jahe dijemur di bawah sinar matahari selama kurang lebih 2 hari sampai diperoleh serbuk Jahe yang benar-benar kering. Setelah kering, serbuk Jahe dihaluskan lagi dengan cara ditumbuk untuk menghindari serbuk jahe yang menggumpal. Kemudian hasil tepung Jahe tadi ditimbang dan dicampurkan dalam ransum sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan.

3.2.3. Tahap pemeliharaan

Kandang yang digunakan dalam memelihara ayam broiler selama perlakuan adalah jenis panggung. Terdapat 20 petak (unit) yang masing-masing berisi 5 ekor ayam. Ayam dipelihara selama 31 hari.

3.2.4. Tahap pengambilan data

Kegiatan yang dilakukan dalam tahap ini adalah pengukuran parameter, yaitu jumlah dan diferensial leukosit. Tahap pengambilan parameter dijelaskan pada uraian selanjutnya.

3.2.4.1. Preparasi darah, darah diambil dari *vena brachialis*, yang letaknya di bawah sayap. Setelah itu darah ditampung dalam *vacum tube* dengan antikoagulan EDTA 5ml dan diletakkan pada *cool box* (kotak pendingin) untuk menghindari rusaknya sampel darah.

3.2.4.2. Pengukuran parameter, parameter yang diukur meliputi total leukosit dihitung menggunakan metode bilik hitung dan diferensial leukosit yang terdiri dari heterofil, eosinofil dan limfosit dihitung menggunakan metode preparat apus. Adapun prosedur pengukuran parameter adalah sebagai berikut.

Prosedur pengukuran total leukosit dengan cara menghisap sampel darah dengan pipet leukosit sampai skala 0,5 dan kemudian menambahkan larutan turk sampai skala 11 dan dilanjutkan dengan menghomogenkan larutan dalam pipet membentuk angka delapan kurang lebih selama 2 menit, selanjutnya meneteskan sampel yang telah homogen di kanan atau kiri kamar hitung yang sudah diberi kaca penutup (Mc.Curnin dan Bassert, 2006). Kemudian melihat serta menghitung menggunakan mikroskop perbesaran $400\times(10\times$ lensa okuler dan $40\times$ lensa objektif) dengan bantuan *hand counter*.

Prosedur analisis diferensial leukosit dilakukan dengan pembuatan preparat apus darah dengan gelas objek dengan cara menghomogenkan sampel darah sebelum diambil dengan batang kaca, satu tetes kecil darah diletakkan dekat dengan ujung kaca objek selanjutnya menempatkan kaca objek yang kedua dengan bagian ujung menyentuh permukaan kaca objek yang pertama sehingga membentuk sudut $30-45^\circ$, selanjutnya menggores kaca objek ke samping secara halus namun cepat, sehingga mencapai $2/3$ bagian gelas obyek, membiarkan ulasan darah mengering di udara terbuka (Samuelson, 2007). Pewarnaan Giemsa dilakukan dengan cara memfiksasi preparat ulasan darah dengan larutan methanol kurang lebih selama 3-5 menit. Setelah kering merendamkan preparat kedalam larutan Giemsa kurang lebih selama 30 menit, selanjutnya mencuci preparat

dengan air dan biarkan mengering di rak dan mengamati menggunakan mikroskop (Maskoeri, 2008).

3.3. Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan sidik ragam sesuai Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan model matematika sebagai berikut (Sastrosupadi, 2000):

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

$$i = 1, 2, 3, 4$$

$$j = 1, 2, 3, 4, 5$$

Keterangan:

Y_{ij} = Hasil pengamatan dari jumlah dan diferensial leukosit pada penggunaan tepung Jahe ke-i dengan ulangan ke-j

μ = Rata-rata pengamatan

τ_i = Pengaruh perlakuan tepung Jahe ke-i

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Data dianalisis dengan analisa ragam dengan uji F untuk mengetahui pengaruh perlakuan, yang dilanjutkan Uji Wilayah Ganda Duncan (Gomez dan Gomez, 2007).

Hipotesis statistika penelitian adalah :

$H_0 : \tau = 0$ = Tidak terdapat pengaruh perlakuan penambahan tepung Jahe dalam ransum terhadap leukosit.

$H_1 : \tau \neq 0$ = Terdapat pengaruh perlakuan penambahan tepung Jahe dalam ransum terhadap leukosit.

Adapun kriteria pengujian yang diterapkan yaitu, jika F hitung $<$ F tabel maka H_0 diterima dan H_1 ditolak dan jika F hitung \geq F tabel maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.