

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul Jumlah Leukosit dan Differensiasi Leukosit Ayam Broiler yang Diberi Minum Air Rebusan Kunyit (*Curcuma domestica* Val) dilaksanakan pada tanggal 25 Oktober–28 November 2016 di Kandang Tiktok Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Uji analisis data jumlah leukosit dan differensiasi leukosit darah ayam broiler dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Hewan Type B Purwokerto.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 200 ekor ayam *day old chick* (DOC) broiler dengan strain Lohman jenis kelamin jantan dan betina, bobot badan rata rata $41,48 \pm 0,99$ gram/ekor.

3.1.1. Kandang dan peralatan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan digital untuk menimbang ayam dan pakan, termohigrometer untuk mencatat suhu dan kelembaban kandang. Kandang pemeliharaan ayam dibuat dari bambu dengan ukuran 60 cm × 90 cm dan dilengkapi tirai plastik, sekam, lampu, tempat pakan dan tempat minum. Bahan dan alat yang digunakan dalam pembersihan kandang yaitu desinfektan, batu gamping dan larutan bio PK dan formalin. Peralatan yang digunakan dalam mengambil data meliputi tabung *Ethylen Diamine Tetra Acetic*

Acid (EDTA), alat suntik 3 ml, *cool box*, kapas, alkohol 70%, kertas label, mikroskop, *hemocytometer*, pipet *White Blood Cell* (WBC), aseton dan larutan turk serta untuk menyiapkan DOC yang akan datang dibutuhkan larutan gula jawa sebagai pengganti energi.

3.1.2. Pakan dan air rebusan kunyit

Pakan yang digunakan merupakan pakan komersil dengan kode B-11S untuk fase *stater* dan BR-1AJ untuk fase *finisher*. Rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val) diperoleh dari daerah Tembalang Semarang dengan umur panen kunyit 6 bulan. Kandungan nutrisi pakan *stater* dan *finisher* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Pakan

Kandungan Nutrien	B 11S (<i>Stater</i>)	BR 1AJ (<i>Finisher</i>)
%.....	
Kadar Air (Max)	13,0	13,0
Protein	21,0 – 23,0	20,5 – 22,5
Lemak (Min)	5,0	5,0
Serat kasar (Max)	5,0	5,0
Abu (Max)	7,0	7,0
Kalsium (Min)	0,9	0,9
Fosfor (Min)	0,6	0,6

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan yang masing masing ulangan

terdiri dari 8 ekor ayam. Perlakuan mulai diberikan pada air minum mulai pemeliharaan hari ke 11. Perlakuan yang diterapkan yaitu:

T0 = (100 % air minum),

T1 = (75 % air minum + 25 % air rebusan kunyit)

T2 = (50 % air minum + 50 % air rebusan kunyit)

T3 = (25 % air minum + 75 % air rebusan kunyit)

T4 = (100 % air rebusan kunyit)

Parameter yang diamati yaitu jumlah leukosit total dan differensiasi leukosit yang terdiri dari persentase heterofil, eosinofil, limfosit dan monosit.

3.2.2. Prosedur penelitian

Prosedur dalam penelitian ini meliputi tahap persiapan, tahap pemeliharaan dan tahap pengambilan data. Tahap persiapan yang dilakukan meliputi kegiatan sanitasi dan *biosecurity* kandang dengan cara lantai dan dinding dibersihkan dengan desinfektan, pembuatan unit percobaan dengan ukuran 60 cm × 90 cm dari bambu dan jaring yang telah dibuat kerangkanya. Dinding kandang yang terbuka ditutup menggunakan tirai plastik. Instalasi listrik berupa lampu dipasang pada setiap unit percobaan. Lantai kandang yang telah dibersihkan dengan desinfektan dan kandang unit percobaan telah dibuat selanjutnya disiram dengan batu gamping yang telah dilarutkan dengan air atau pengapuran. Alat makan dan minum dicuci kemudian di desinfeksi menggunakan destan dengan dosis 5ml/10 liter air dan setelah itu dikeringkan. Setelah alat pakan dan minum kering

kemudian dipasang pada setiap unit percobaan dan kemudian dilakukan fumigasi dengan larutan formalin dan bio PK untuk membunuh bibit penyakit.

Pembuatan air rebusan kunyit dilakukan setiap hari yaitu pada pagi hari untuk diberikan ke ternak pada malam hari atau pada malam hari untuk diberikan ke ternak pagi harinya. Prosedur pembuatan air rebusan kunyit yaitu kunyit yang telah dibersihkan ditimbang dengan dasar perbandingan 10 gram kunyit dalam 600 ml (Nurkholis dkk 2014), kunyit yang telah ditimbang sesuai kebutuhan dimasukkan dalam air yang telah mendidih, kemudian ditunggu sampai 10 menit, kemudian disaring dalam ember dan didiamkan agar cukup sesuai dengan suhu ruang sehingga siap untuk diberikan ke ternak.

Tahap pemeliharaan yang dilakukan meliputi penimbangan DOC yang baru tiba untuk mengetahui bobot badan awal dan kemudian diletakkan pada unit percobaan yang telah diberi alas sekam dan air minum gula sebagai pengganti energi ayam yang hilang selama perjalanan. Pemberian perlakuan air kunyit dilakukan pada pemeliharaan hari ke 11, sedangkan pada umur 1 sampai 10 hari dilakukan masa adaptasi, pakan dan minum diberikan secara *ad libitum* namun tetap terukur dengan menimbang pemberian maupun sisa. Penimbangan ayam dilakukan setiap minggu.

Tahap pengambilan data dilakukan pada pemeliharaan hari ke 28 dengan pemuasaan ternak selama 5 jam sebelum pengambilan darah. Ayam yang diambil darahnya berasal dari 1 ekor setiap unit percobaan yang diambil secara acak. Darah diambil dari *vena pectoralis* yang letaknya dibawah sayap dengan menggunakan *sputit* sebanyak 1–1,5 ml. Setelah itu darah ditampung dalam tabung

antikoagulan EDTA dan dikocok membentuk angka 8 dan kemudian disimpan dalam *cool box* yang telah berisi *ice gel*, atau disimpan dalam suhu rendah.

3.2.3. Perhitungan jumlah leukosit dan differensiasi leukosit

Perhitungan jumlah leukosit menggunakan cara manual dengan metode kamar hitung. Darah ayam yang telah dimasukkan ke dalam vacum tube dengan antikoagulan EDTA dihisap dengan pipet thoma leukosit sampai tanda 0,5. Bersihkan ujung pipet bagian luar dan hisap larutan turk sampai tanda 111. Darah yang diencerkan dengan larutan *turk* akan dilisiskan selain sel-sel leukosit. Pipet thoma kemudian dikocok hingga sampel darah dan larutan turk homogen. Larutan sampel kemudian ditetaskan pada neubeur (kamar hitung). Sel-sel leukosit dihitung dibawah mikroskop dengan perbesar 40 kali.

Penentuan persentase differensiasi leukosit yaitu dengan cara menyiapkan mikroskop dengan perbesaran 1000 x untuk memeriksa seluruh permukaan preparat dengan minyak emersi. Identifikasi sel darah putih dapat dideferensialkan menurut perbedaan ukuran, warna, jumlah dan granulasi sitoplasma, bentuk kromatin dan inti. Nilai relatif leukosit dinyatakan dalam satuan persen.

3.3. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji *analysis of variance* (ANOVA).

Model Linear Aditif

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad , i = \text{perlakuan}, \quad j = \text{ulangan}$$

Keterangan

- Y_{ij} = Profil sel darah putih ayam broiler ke - j yang memperoleh perlakuan air rebusan kunyit ke - i.
 μ = Nilai tengah umum (rata rata populasi) profil sel darah putih
 τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan air rebusan kunyit ke - i
 ε_{ij} = Perlakuan galat percobaan pada profil sel darah putih ke - j yang memperoleh perlakuan air rebusan kunyit ke - i

Pengambilan keputusan

$H_0 : \tau_0 = \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$ yang berarti tidak ada pengaruh perlakuan air rebusan kunyit terhadap jumlah leukosit dan differensiasi leukosit.

$H_1 : \tau_0 \neq \tau_1 \neq \tau_2 \neq \tau_3 \neq \tau_4 \neq 0$ yang berarti pengaruh perlakuan air rebusan kunyit yang berpengaruh terhadap jumlah leukosit dan differensiasi leukosit (minimal 1 perlakuan).

Pengujian dengan analisis ragam yaitu dengan kriteria:

$F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

$F_{hitung} \geq F_{tabel 5\%}$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

Apabila hasil analisis ragam berbeda nyata selanjutnya dilakukan uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.