

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “ Jumlah Sel Leukosit dan Diferensial Leukosit Ayam Broiler yang Diberi Ransum dengan Tambahan Asam Butirat dan Asam Format” dilaksanakan pada tanggal 27 April – 1 juni 2018. Tempat pemeliharaan ayam broiler berada di kandang unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis jumlah leukosit dan diferensial leukosit dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Hewan Type B di Jalan Setiabudi, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan adalah *Day Old Chicken* (DOC) Ayam Broiler sebanyak 200 ekor dengan rata-rata bobot awal yaitu $36,69 \pm 1,56$ g. Asam organik yang digunakan adalah jenis asam format dan butirat. Spesifikasi dari asam format terdiri dari $\geq 27,0\%$ asam format, $\geq 16,7\%$ asam sitrat dan $\geq 10,5\%$ asam laktat (Dr. Eckel, Niederzissen, Jerman), sedangkan spesifikasi dari asam butirat yaitu terdiri dari 97,1% granulometri 500 - 2000 mikron dan 47,0% kalsium butirat (Kemin, Cavriago, Italia). Dosis pencampuran asam format dalam pakan sebesar 0,1 g dalam setiap 1 kg pakan, dosis pencampuran asam butirat dalam pakan sebesar 0,03 g dalam setiap 1 kg pakan, sedangkan dosis kombinasi asam format dan butirat sebesar 0,1 g asam format ditambah 0,03 g asam butirat dalam setiap 1 kg pakan. Pencampuran asam format dan asam butirat dalam pakan dilakukan dengan cara

manual dengan tangan sampai diperoleh hasil homogen. kandungan nutrisi ransum fase *starter* dan fase *finisher* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Nutrien Ransum Ayam Broiler Fase *Starter* dan *Finisher*

Kandungan Nutrien	Fase <i>Starter</i> *	Fase <i>Finisher</i> *
	------(%)-----	
EM (kkal/kg)**	3200,00	3064,00
Protein Kasar (%)	22,00	20,04
Lemak Kasar (%)	5,00	5,17
Serat Kasar (%)	5,00	5,13

Keterangan :

(*) Komposisi perhitungan

(**) Nilai Energi Metabolis (EM) dihitung berdasarkan rumus Balton (Siswoharjono, 1982)

$$EM = 40,81 \times (0,87(PK + (2,25 \times LK) + BETN) + 2,5$$

Pakan disusun dari bahan-bahan *crude palm oil* (CPO), dedak, jagung, tepung gandum, tepung roti, *meat bone meal* (MBM), *corn feed meal* (CFM), *corn gluten meal* (CGM), *distillers grains with soluble* (DDGS), *soya bean meal* (SBM), L treonin, lisin, methionin, tepung tulang, garam, premix, minyak kelapa, *poultry meat meal* (PMM), bungkil kedelai, DL-methionine 990 g, L-lysin 780 g dan *dicalcium phosphate*.

Perlengkapan dan peralatan kandang yang digunakan meliputi tempat pakan, tempat minum, lampu bohlam, timbangan digital dan termohigrometer. Perlengkapan dan peralatan pengambilan darah meliputi *sputit*, tabung darah *vacutainer* yang berisi dengan antikoagulan *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA) dan kotak pendingin (*ice box*). Peralatan analisis total leukosit dan diferensial leukosit meliputi *Hematology Analyzer* dan pipet hisap.

3. 2. Metode

Prosedur yang dilakukan pada penelitian terdiri dari 3 tahap yaitu : tahap persiapan, tahap pemeliharaan dan tahap pengambilan data.

3.2.1. Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dengan 5 ulangan. Perlakuan yang diterapkan meliputi T0 : pakan tanpa asam butirat dan asam format (kontrol), T1 : pakan + 0,1% asam format, T3 : pakan + 0,03% asam butirat, T4 : pakan + 0,1% asam format + 0,03% asam butirat. Parameter yang diukur meliputi jumlah sel leukosit dan diferensial leukosit (heterofil, eosinofil dan limfosit). Data yang didapat selanjutnya diolah secara statistik dengan analisis ragam pada taraf 5% dan apabila ditemukan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji wilayah Ganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993). Model matematis dan hipotesis statistik yang diterapkan adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

Y_{ij} : Hasil pengamatan ke-i yang memperoleh perlakuan ke-j

μ : Nilai tengah umum (rata-rata populasi) hasil pengamatan

τ_i : Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

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.

3.2.2. Hipotesis penelitian

H_0 : $\tau = 0$, tidak ada pengaruh perlakuan penambahan asam butirat dan asam format dalam ransum terhadap parameter yang diukur.

H_1 : $\tau \neq 0$, terdapat pengaruh perlakuan penambahan asam butirat dan asam format dalam ransum terhadap parameter yang diukur.

3.2.3. Kriteria pengujian

Data yang telah diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam.

Adapun kriteria pengujian adalah sebagai berikut :

Jika F hitung $< F$ tabel, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Jika F hit $\geq F$ tabel, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

3.2.4. Prosedur penelitian

Tahap persiapan meliputi persiapan asam format dan butirat, persiapan kandang dan persiapan pakan. Persiapan kandang dimulai dengan pembersihan area kandang, pengapuran kandang dan fumigasi.

Tahap Pemeliharaan dimulai dari penerimaan DOC dengan *strain* MB 202 Lohmann yang berasal dari PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk dan penimbangan

bobot badan awal DOC. Ayam dibagi secara acak ke dalam 4 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 5 kali sehingga terdapat 20 unit percobaan, dimana setiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor ayam. Lama pemeliharaan ayam broiler adalah 35 hari. Kandang yang digunakan sebanyak 20 petak, masing-masing petak berukuran 100 cm x 100 cm. Pakan perlakuan diberikan sejak ayam berumur 1 hari - 35 hari. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Penimbangan sisa pakan dilakukan setiap pagi hari untuk menghitung konsumsi pakan. Penimbangan bobot badan dilakukan setiap minggu untuk menghitung pertambahan bobot badan harian (PBBH). Pengukuran suhu dan kelembaban kandang setiap pagi, siang dan sore.

3.2.5. Tahap pengambilan data

Pengambilan darah dilakukan melalui *vena brachialis* pada umur 35 hari. Satu ekor ayam secara acak dari tiap ulangan diambil darahnya sebanyak ± 2 cc, darah kemudian dimasukkan ke dalam *vacutainer* yang berisi antikoagulan *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA) dan diletakan pada kotak pendingin (*cooling box*) untuk menghindari rusaknya sampel darah.

Parameter yang diukur meliputi jumlah sel leukosit dan diferensial leukosit yang terdiri dari heterofil, eosinofil dan limfosit. Prosedur analisis darah dilakukan dengan menggunakan metode *electric impedance* dan menggunakan alat berupa *Hematology Analyzer*. Sampel darah yang ada didalam tabung diencerkan dengan cairan konduktif, karena pada dasarnya sel darah merupakan cairan yang tidak konduktif. Sampel darah yang telah diencerkan dengan cairan konduktif akan melewati sensor *aperture*, lalu elektroda akan terendam dalam cairan dan setiap sisi

bukan untuk menciptakan arus kontinu. Sel darah saat melewati *aperture* terjadi resistensi yang meningkat antara elektroda seiring dengan volume sel yang juga meningkat. Selanjutnya, sel darah akan melewati sirkuit pembesaran, sinyal tegangan akan diperbesar dan kebisingan akan disaring, kemudian akan diperoleh hasil analisis. Hasil analisis akan masuk ke ruang perhitungan dan rangkaian deteksi untuk menghitung sel darah putih. Instrumen mikroprosesor akan menghitung dan menganalisis sel darah putih, lalu mengeluarkan histogram untuk mengetahui masing-masing dari fraksi sel darah putih yang meliputi heterofil, eosinofil dan limfosit.