



## (a) MATERI DAN METODE

### Lokasi dan Waktu

Penelitian dilaksanakan selama 3 bulan dari bulan Agustus hingga Oktober tahun 2011. Lokasi percobaan bertempat di Kandang Ternak Unggas Laboratorium Lapang Ilmu Produksi Ternak Unggas, pengukuran organ limfoid di Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas (Fapet, IPB), dan analisa parameter darah di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi (FKH, IPB).

### Materi

Ternak penelitian menggunakan 120 ekor ayam umur satu hari (day old chicken/DOC) *strain* Cobb CP 707 dari PT Charoen Pokphand Indonesia di Parung. Bahan baku ransum yang digunakan adalah jagung kuning, dedak padi, tepung ikan, bungkil kedelai, CPO (crude palm oil), CaCO<sub>3</sub> (calcium carbonate), DCP (dicalcium phosphate), premiks, L-lysin, DL-methionin, dan biji ketumbar. Bahan sanitasi kandang dan peralatan yang digunakan adalah sabun, karbol, kapur sirih, serta bahan kimia berupa larutan disinfektan. Kandang yang digunakan sebanyak tiga buah ukuran 5 m<sup>2</sup> dengan tipe kandang *litter* dan satu gudang penyimpanan ransum. Setiap kandang dibagi menjadi empat petak kandang ukuran 1 m<sup>2</sup>. Peralatan penunjang yang digunakan adalah tempat ransum (tray dan hanging), tempat air minum, seng pembatas, pemanas buatan (brooder), serta lampu pijar. Peralatan lain yang digunakan diantaranya tirai penutup, kertas koran, timbangan digital, ember, sapu, termometer, tali rafia, gelas ukur, pisau, tali tambang, selotip, karung, dan sikat.

### Prosedur

#### Pemilihan Biji Ketumbar

Biji ketumbar yang dipilih yaitu bulat dan berwarna kuning kecokelatan. Biji ketumbar digiling dengan mesin giling hingga bertekstur *mash* (tepung).

#### Tahap Pembuatan Ransum dan Ransum Penelitian

Pembuatan dan bahan baku ransum diperoleh dari PT Indofeed Bogor. Penimbangan bahan baku ransum sesuai formulasi. Bahan pertama yang dicampur adalah jagung kuning dan CPO (Crude Palm Oil). Bahan kedua yang dicampur adalah bungkil kedelai dan tepung ikan. Bahan ketiga yang dicampur adalah tepung

biji ketumbar, dedak padi,  $\text{CaCO}_3$  (calcium carbonate), DCP (dicalcium phosphate), premiks, L-lysin, dan DL-methionin. Seluruh bahan selanjutnya diaduk hingga homogen dalam mesin pencampur (mixer). Bahan yang telah homogen kemudian dibentuk menjadi *pellet* di mesin *pellet*. Proses selanjutnya adalah ransum dibentuk menjadi *crumble* di mesin *crumble*. Ransum yang telah jadi kemudian ditimbang dan dikemas sesuai perlakuan. Komposisi bahan dan nutrisi ransum penelitian disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Komposisi Bahan dan Nutrien Ransum Penelitian

Bahan Pakan	Starter				Finisher			
	R0	R1	R2	R3	R0	R1	R2	R3
Jagung kuning	54,14	54,26	53,68	53,82	60,41	60,01	59,61	59,22
Dedak Padi	6,00	5,17	4,85	4,01	5,17	4,73	4,30	3,86
Bungkil kedelai	28,00	28,00	28,00	28,00	19,46	19,33	19,19	19,06
Tepung ikan	6,05	5,99	5,93	5,88	9,39	9,45	9,52	9,58
Crude palm oil	3,61	3,38	3,34	3,09	3,37	3,27	3,18	3,08
Biji ketumbar <sup>1</sup>	0,00	1,00	2,00	3,00	0,00	1,00	2,00	3,00
$\text{CaCO}_3$	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Dicalcium phosphate	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premiks	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Lysin	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Methionin	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Komposisi Nutrien								
EM (Kkal/kg)	3050	3050	3050	3050	3100	3100	3100	3100
Protein Kasar (%)	22	22	22	22	20	20	20	20
Lemak Kasar (%)	6,19	6,10	6,20	6,10	6,17	6,22	6,27	6,32
Serat Kasar (%)	2,97	3,30	3,66	3,98	2,81	3,16	3,51	3,87
Kalsium (%)	0,96	0,97	0,97	0,97	1,16	1,17	1,18	1,20
Fosfor Tersedia (%)	0,53	0,53	0,53	0,52	0,62	0,62	0,62	0,63
Lysin (%)	1,44	1,43	1,43	1,42	1,35	1,34	1,34	1,34
Methionin (%)	0,54	0,53	0,53	0,53	0,55	0,54	0,54	0,54

Keterangan: <sup>1</sup> Komposisi nutrisi biji ketumbar (Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pakan Fapet IPB, 2011), komposisi nutrisi bahan pakan (Lesson dan Summers, 2005), dan EM (Energi Metabolis)



## Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah diambil saat umur ayam 35 hari. Waktu pengambilan pada pagi hari pukul 08.30 WIB setelah dipuaskan 3 jam. Ayam yang diambil berjumlah 12 ekor (10% populasi ulangan) yang berbobot mendekati rata-rata populasi ulangan. Bagian bawah sayap diusap dengan cairan alkohol. Darah kemudian diambil melalui *vena pectoralis* (pembuluh darah dibagian bawah sayap). Darah diambil sekali menggunakan *spoit* sebanyak 2 ml dan dimasukkan dalam tabung berantikoagulan.

## Nilai Hematologi

**Persentase Hematokrit (%).** Teknik analisis dengan metode Mikrohematokrit. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung kapiler sampai 4/5 volume tabung berukuran panjang 75 mm dan berdiameter 1 mm. Mulut tabung ditutup dengan dempul (clay). Proses berikutnya disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Tinggi volume padatan yang terbentuk diukur dengan alat pembaca hematokrit.

**Kadar Hemoglobin (g/100ml).** Teknik analisis dengan metode Sianmethemoglobin. Larutan pereaksi 5 ml (berbahan kalium ferrosianida 200 mg + KCN 50 mg + kalium hidrogen fosfat 140 mg + detergen 1 ml + aquadest 1.000 ml) dimasukkan ke dalam tabung reaksi berukuran panjang 75 cm dan berdiameter 10 mm. Sebanyak 0,02 ml sampel darah ditambahkan ke dalam 5 ml pereaksi dengan menggunakan mikropipet (dihindari terbentuknya gelembung). Sampel yang telah tercampur dibiarkan pada suhu kamar selama  $\pm$  5 menit, dan serapannya dibaca dalam spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm, dengan larutan pereaksi sebagai blangko.

**Jumlah Eritrosit ( $10^6$  butir/ $\text{mm}^3$ ).** Teknik analisis menggunakan metode Nuebauer. Larutan pengencer yaitu larutan Hayem (natrium sulfat 2,5 g + natrium klorid 0,5 g + merkuri klorid 0,25 g + aquadest 100 ml) disiapkan. Sampel darah dari tabung dihisap menggunakan pipet eritrosit sampai batas 0,5. Ujung pipet dibersihkan dengan tisu, lalu larutan pengencer dihisap hingga tanda tera 101. Pipet diangkat dari cairan dan ujung pipet ditutup dengan ujung jari, kemudian dikocok selama 30 detik. Kamar hitung dan kaca penutup diletakkan mendatar di atas meja. Cairan yang ada pada batang kapiler pipet dibuang 3 tetes. Mulut pipet disentuhkan ( $\pm$  sudut  $30^\circ$ ) dengan



menyinggung pinggir kaca penutup pada kamar hitung, dan diteteskan cairan sampel. Kamar hitung akan terisi cairan perlahan-lahan, dengan gaya kapilaritasnya sendiri. Kamar hitung yang sudah terisi cairan dibiarkan selama 2 menit agar mengendap. Kamar hitung terbagi dalam 25 kotak kecil-kecil. Sel eritrosit dihitung dalam 5 kotak, yaitu 1 kotak di tengah, 2 kotak pojok atas dan 2 kotak pojok bawah. Perhitungan di bawah mikroskop dengan lensa objektif besar (pembesaran 40 kali). Jumlah eritrosit dihitung dengan rumus :

$$\begin{aligned} &= \frac{E}{[\text{Jumlah kamar hitung} \times \text{Volume kamar hitung (mm}^3\text{)]} \times \text{Pengenceran (kali)} \\ &= \frac{E}{[5 \times 0,2 \times 0,2 \times 0,1]} \times 100 \\ &= \frac{E}{0,02} \times 100 \\ &= E \times 5.000 \end{aligned}$$

Dimana : E = jumlah sel eritrosit yang terhitung

**Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) dan Mean Corpuscular Volume (MCV).** Diagnosis kondisi normal, anemia, polisitemia, ukuran eritrosit, konsentrasi hemoglobin, dan defisiensi nutrisi tertentu dilakukan pengukuran *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC), dan *mean corpuscular volume* (MCV). Pengukuran MCHC dan MCV adalah dengan menghubungkan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan persentase hematokrit:

$$\text{MCHC (\%)} = \frac{\text{Kadar Hemoglobin (g/100ml)}}{\text{Hematokrit (\%)}} \times 100$$

$$\text{MCV (femto liter;fl)} = \frac{\text{Hematokrit (\%)}}{\text{Total Eritrosit (10}^6 \text{ butir/mm}^3\text{)}} \times 10$$

Sumber: Jain (1993)

**Jumlah Leukosit (10<sup>3</sup> butir/mm<sup>3</sup>).** Teknik analisis menggunakan metode Neubauer. Larutan pengencer yaitu larutan Turk (larutan gentianviolet 1% dalam air 1 ml + asam asetat glasial 1 ml + aquadest 100 ml) disiapkan. Sampel darah dari tabung dihisap menggunakan pipet leukosit dengan bantuan alat penghisap aspirator pada pipet sampai batas 0,5. Ujung pipet dibersihkan dengan tisu lalu hisap larutan pengencer hingga tanda tera 11. Pipet diangkat dari cairan dan ujung pipet ditutup dengan ujung jari kemudian dikocok selama 30 detik. Kamar hitung dan kaca penutup diletakkan mendatar di atas meja. Cairan yang ada pada batang kapiler pipet dibuang



3 tetes. Mulut pipet disentuhkan ( $\pm$  sudut  $30^\circ$ ) dengan menyinggung pinggir kaca penutup kamar hitung, dan diteteskan cairan sampel. Kamar hitung akan terisi cairan perlahan-lahan, dengan gaya kapilaritasnya sendiri. Kamar hitung yang sudah terisi dibiarkan selama 2 menit agar cairan mengendap. Jumlah leukosit dilihat dengan bantuan mikroskop pada 5 bidang pandang, yaitu 1 kotak di tengah (kotak eritrosit), 2 kotak pojok atas dan 2 kotak pojok bawah. Perhitungan di bawah mikroskop dengan lensa objektif kecil (10 kali). Jumlah leukosit dihitung dengan rumus :

$$\begin{aligned} &= \left( \frac{L}{5 \times 1 \times 1 \times 0,1} \right) \times 100 \\ &= L \times 200 \end{aligned}$$

Dimana : L = jumlah sel leukosit yang dihitung

#### **Deferensiasi Leukosit: Persentase Limfosit (%) dan Persentase Heterofil (%).**

Jenis leukosit granulosit yaitu eosinofil, basofil, dan heterofil. Eosinofil dengan ciri granula berwarna merah dan besar. Basofil dengan ciri granula berwarna biru tua dan besar-besar. Heterofil dengan ciri granula netral dan bentuk halus. Jenis leukosit agranulosit yaitu limfosit dan monosit. Limfosit dengan ciri inti bulat, berwarna biru tua, dan sitoplasma lebih sedikit. Monosit dengan ciri inti berlekuk, berwarna biru tua, dan sitoplasma lebih banyak. Deferensiasi leukosit dihitung dengan rumus:

$$\text{Deferensiasi leukosit (\%)} = \frac{\text{Jenis leukosit (10}^6 \text{ butir/mm}^3\text{)}}{\text{Leukosit (10}^6 \text{ butir/mm}^3\text{)}} \times 100\%$$

#### **Kadar Malondialdehida (MDA) Plasma Darah (Rice-Evans dan Anthony, 1991)**

Teknik analisis menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS). Sebanyak 1,78 ml HCL pekat, asam trikloroasetat (TCA) 0,25 ml dan asam tiobarbiturat (TBA) 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 80 ml aquadest untuk membuat larutan campuran. Larutan campuran tersebut diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam tabung, kemudian dicampurkan dengan sampel darah sebanyak 500  $\mu$ l. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu  $90-100^\circ\text{C}$  (oven) selama 1 jam. Selanjutnya didinginkan dengan air mengalir dan disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm.





## Persentase Bobot Organ Limfoid

Organ limfoid yang diukur bobotnya adalah limpa, bursa fabrisius, dan timus.

Bobot organ limfoid dihitung dengan rumus :

$$\text{Bobot Organ Limfoid (\%)} = \frac{\text{Bobot Organ Limfoid (g)}}{\text{Bobot Hidup (g)}} \times 100\%$$

## Rancangan dan Analisis Data

### Perlakuan

Penelitian menggunakan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Pelakuan yang diberikan adalah:

- R0 = Ransum tanpa biji ketumbar (kontrol)
- R1 = Ransum dengan penggunaan biji ketumbar 1%
- R2 = Ransum dengan penggunaan biji ketumbar 2%
- R3 = Ransum dengan penggunaan biji ketumbar 3%

### Peubah

Paubah yang diamati pada penelitian ini adalah:

1. Persentase Hematokrit (%)
2. Jumlah Eritrosit ( $10^6/\text{mm}^3$ )
3. *Mean Corpuscular Volume* (MCV) (femtoliter)
4. Kadar Hemoglobin (g/100ml)
5. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) (%)
6. Jumlah Leukosit ( $10^3/\text{mm}^3$ )
7. Persentase Heterofil (%)
8. Persentase Limfosit (%)
9. Persentase Bobot Organ Timus (%)
10. Persentase Bobot Organ Bursa Fabrisius (%)
11. Persentase Bobot Organ Limpa (%)
12. Kadar Malondealdehida Plasma Darah ( $\eta\text{g/ml}$ )

### Rancangan

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas empat perlakuan dan tiga ulangan. Setiap ulangan terdiri dari sepuluh ekor ayam. Model matematika dalam rancangan tersebut adalah sebagai berikut:



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

Keterangan :

Y : nilai pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  : nilai rata-rata umum

$\tau_i$  : efek perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  : galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati dilakukan analisis ragam (ANOVA). Perlakuan yang berpengaruh nyata ( $p < 0,05$  atau  $p < 0,01$ ) dilakukan uji lanjut polinomial ortogonal (Steel dan Torrie, 1993).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.