

III. BAHAN DAN METODE

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada April 2014 di kandang ayam petelur Varia Agung Jaya Farm, Desa Varia Agung, Kecamatan Seputih Mataram, Kabupaten Lampung Tengah. Pengujian terhadap jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan kadar hemoglobin dilaksanakan di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung, Jln. Untung Suropati No. 2, Kelurahan Labuhanratu, Kecamatan Labuhanratu, Bandar Lampung.

B. Bahan Penelitian

1. Ayam

Ayam yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam petelur tipe medium strain *Isa brown* umur 7--10 minggu sebanyak 210 ekor dengan rata-rata bobot awal $576,00 \pm 19,58$ g/ekor dan koefisien keragaman sebesar 3,40%.

2. Ransum

Ransum yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrat dan ransum yang dibuat sendiri oleh peternak. Kandungan nutrisi ransum disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Kandungan nutrisi konsentrat

Nutrisi	Kandungan
Kadar air maksimum	12%
Protein kasar minimum	30%
Lemak kasar minimum	3%
Serat kasar minimum	8%
Abu maksimum	15%
Zaolene	420 ppm
Enramycin	15--30 ppm
Colistin	15--45 ppm

Sumber: PT. Cargil Indonesia, 2013

Tabel 2. Kandungan nutrisi ransum buatan peternak

Nutrisi	Kandungan (%)
Kadar Air	10,95
Protein kasar	11,63
Lemak kasar	6,09
Serat kasar	4,69
Abu	6,93

Sumber: Hasil analisis Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung (2014)

3. Air minum

Air minum yang digunakan pada penelitian ini berasal dari air sumur bor yang diberikan secara *ad libitum*.

4. Vaksin dan vitamin

Vaksin yang diberikan adalah Caprivac[®] ND IB PV (suntik) dan Volvac[®] ND IB MLV (air minum), sedangkan vitamin yang diberikan adalah Farm-O-San Perfexsol-L[®] dan Farm-O-San Orange[®].

5. Alkohol 70%, larutan Hayem, larutan Turk, dan HCl 0,1 N

Alkohol digunakan untuk desinfeksi kulit bagian sayap ayam petelur fase *grower* yang akan diambil darahnya pada *vena brachialis*. Larutan hayem digunakan

sebagai pengencer darah dan melisiskan leukosit serta trombosit sehingga memudahkan perhitungan jumlah eritrosit. Larutan Turk digunakan untuk mengencerkan darah dan melisiskan eritrosit. HCl 0,1 N digunakan untuk memberikan pH asam dalam penentuan kadar hemoglobin.

C. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

1. bambu untuk membuat sekat pada kandang panggung;
2. tempat ransum gantung (*hanging feeder*) sebanyak 20 buah;
3. tempat air minum berbentuk tabung sebanyak 20 buah;
4. timbangan kapasitas 5 kg untuk menimbang ayam dan ransum;
5. *thermohigrometer* 4 buah untuk mengukur suhu dan kelembaban kandang;
6. alat-alat kebersihan;
7. kapas;
8. spuit 1 cc;
9. tabung darah yang mengandung *Ethylen-Diamine-Tetraacetic-Acid* (EDTA);
10. termos es untuk menyimpan sampel darah;
11. peralatan untuk menghitung jumlah eritrosit, leukosit, dan kadar hemoglobin (*haemocytometer*, mikroskop Nikon Eclipse E200, tisu, *counter number*, dan *haemometer*);
12. alat tulis untuk melakukan pencatatan.

D. Metode Penelitian

1. Rancangan perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri atas empat perlakuan, setiap perlakuan diulang sebanyak lima kali. Keempat perlakuan tersebut adalah

R1 : Kepadatan 6 ekor m^{-2}

R2 : Kepadatan 9 ekor m^{-2}

R3 : Kepadatan 12 ekor m^{-2}

R4 : Kepadatan 15 ekor m^{-2}

2. Analisis Data

Data yang dihasilkan dianalisis ragam pada taraf nyata 5% (Steel dan Torrie, 1993).

E. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan kandang

Tahap awal yang dilakukan adalah :

- a. pembuatan petak kandang penelitian ayam petelur fase *grower* sebanyak 20 petak dengan ukuran 1 x 1 x 1,3 m;
- b. mencuci peralatan kandang *hanging feeder* dan tempat air minum;
- c. mengapur dinding, tiang, dan lantai kandang;

- d. setelah kapur mengering, dilakukan pemasangan kandang sesuai dengan petak kandang penelitian (Gambar 4) dan dilakukan penyemprotan kandang dengan desinfektan.

2. Kegiatan penelitian

Menimbang ayam petelur fase *starter* umur 7 minggu untuk mengetahui bobot tubuh pada awal fase *grower* sebanyak 210 ekor dengan rata-rata bobot awal $576,00 \pm 19,58$ g/ekor dan koefisien keragaman sebesar 3,40%. Selanjutnya, secara acak 210 ekor ayam petelur fase *grower* dengan bobot tubuh hampir seragam ditempatkan pada petak kandang penelitian sesuai dengan pengacakan perlakuan dan ulangan (Gambar 4). Satu petak kandang berisi 6, 9, 12, dan 15 ekor ayam petelur fase *grower strain Isa Brown* umur 7--10 minggu.

Pemberian ransum dilakukan 2 kali sehari, yaitu pada pukul 07.00 dan 14.00 WIB dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Suhu dan kelembaban diukur setiap hari, yaitu pada pukul 06.00; 13.00; dan 18.00 WIB. Suhu dan kelembaban kandang diukur menggunakan *thermohigrometer* yang diletakkan pada bagian dinding kandang.

Program vaksinasi yang dilakukan yaitu ND IB saat ayam berumur 60 hari melalui suntik di bawah kulit (*subcutan*). Vitamin yang diberikan yaitu Farm-O-San Perfexsol-L[®] sampai ayam berumur 65 hari dan Farm-O-San Orange[®] saat ayam berumur 66 hari sampai 71 hari.

3. Tahap koleksi data

Pengamatan dilakukan terhadap gambaran darah ayam petelur fase *grower* yang berumur 7 dan 10 minggu pada kepadatan kandang berbeda meliputi jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan kadar hemoglobin dengan jumlah sampel sebanyak satu ekor ayam petak kandang penelitian. Darah diambil sebanyak ± 1 ml pada *vena brachialis*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung darah yang mengandung EDTA untuk menghindari pembekuan darah dan dihomogenkan dengan gerakan membentuk angka 8, kemudian diletakkan dalam termos es sampai dilakukan analisis. Hasil sampel darah yang diambil langsung dibawa ke Balai Veteriner Lampung untuk dianalisis jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan kadar hemoglobin.

a. Eritrosit

Sampel darah yang akan dianalisis diambil menggunakan pipet eritrosit sampai batas 0,5. Ujung pipet terlebih dahulu dibersihkan dengan tisu kemudian menghisap larutan Hayem sampai batas 101. Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari telunjuk kanan, kemudian isi pipet dikocok dengan gerakan membentuk angka 8. Setelah homogen, cairan yang tidak terkocok pada ujung pipet dibuang dengan menempelkan pipet ke kertas tisu. Sebelum diteteskan ke dalam kamar hitung, kamar hitung dibersihkan terlebih dahulu.

Selanjutnya, memasukkan setetes darah ke dalam kamar hitung, kemudian ditutup dengan gelas penutup, lalu dilakukan penghitungan jumlah eritrosit di bawah mikroskop. Penghitungan eritrosit dalam kamar hitung *Neubauer*, yang digunakan adalah 5 bujur sangkar dari 25 bujur sangkar, yaitu satu kotak pojok

kanan atas dan kiri atas, satu kotak pojok kanan bawah dan kiri bawah, serta satu kotak di tengah (Dharmawan, 2002).

b. Leukosit

Sampel darah yang akan dianalisis diambil menggunakan pipet leukosit sampai batas 0,5. Ujung pipet terlebih dahulu dibersihkan dengan tisu kemudian menghisap larutan Turk sampai batas 11. Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari telunjuk kanan, kemudian isi pipet dikocok dengan gerakan membentuk angka 8. Setelah homogen, cairan yang tidak terkocok pada ujung pipet dibuang dengan menempelkan pipet ke kertas tisu sebanyak lima tetes. Sebelum ditetaskan ke dalam kamar hitung, kamar hitung dibersihkan terlebih dahulu.

Selanjutnya, memasukkan setetes darah ke dalam kamar hitung, kemudian ditutup dengan gelas penutup, lalu dilakukan penghitungan jumlah leukosit di bawah mikroskop. Penghitungan eritrosit dalam kamar hitung *Neubauer* pada 4 kotak yang besar, yaitu pojok kanan atas dan kanan bawah serta kiri atas dan kiri bawah (Dharmawan, 2002).

c. Hemoglobin

Metode yang digunakan adalah metode sahli. Sampel darah dihisap dengan pipet sahli sampai batas 0,02 ml. Kemudian, sampel darah dimasukkan ke dalam tabung sahli dan diletakkan antara kedua bagian standar warna dalam alat hemoglobinometer. Selanjutnya, menambahkan HCl 0,1 N sampai angka 2 pada tabung sahli dan homogenkan. Setelah itu, larutan tersebut ditetesi dengan

aquades sedikit demi sedikit sambil diaduk, sampai warna larutan sama dengan warna standar hemoglobinometer (Dharmawan, 2002).

E. Peubah yang Diamati

Peubah yang akan diamati dalam penelitian ini adalah:

1. Jumlah eritrosit

Jumlah eritrosit mm^{-3} dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Jumlah eritrosit } \text{mm}^{-3} &= E \times 400/80 \times 200/0,1 \text{ atau} \\ &= E \times 10000 \end{aligned}$$

Keterangan:

E : Jumlah eritrosit yang terhitung

400 : jumlah seluruh bilik kecil

80 : Jumlah bilik kecil dari ke lima bilik

200 : Pengenceran

0,1 : Volume bilik-bilik kecil (1 mm x 1 mm x 1 mm) (Dharmawan, 2002).



Gambar 2. *Haemocytometer*

2. Jumlah leukosit

Jumlah leukosit mm^{-3} dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Jumlah leukosit } \text{mm}^{-3} &= L \times 20 \times 10/4 \text{ atau} \\ &= L \times 50\end{aligned}$$

Keterangan:

L : Jumlah leukosit yang terhitung

20 : Pengenceran

10 : Dalamnya kotak (0,1 mm)

4 : Jumlah kotak dalam mm^3 (Dharmawan, 2002).

3. Kadar hemoglobin darah

Nilai hemoglobin diketahui dengan membaca tinggi permukaan pada tabung sahli, dilihat dari skala jalur 95%, yang menunjukkan jumlah hemoglobin dalam gram per 100 ml darah atau dengan kata lain membandingkan larutan dalam tabung pengencer dengan warna larutan standar (Dharmawan, 2002).



Gambar 3. *Haemometer*