

**TOTAL LEUKOSIT DAN DIFERENSIAL LEUKOSIT BROILER  
JANTAN SETELAH PEMBERIAN *Echinacea purpurea* (*Radix*) SEBAGAI  
IMUNOMODULATOR DALAM AIR MINUM**

(Skripsi)

Oleh

**ARINDA KUSUMA WARDANI**



**JURUSAN PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2019**

## ABSTRAK

### TOTAL LEUKOSIT DAN DIFERENSIAL LEUKOSIT BROILER JANTAN SETELAH PEMBERIAN *Echinacea purpurea* (*Radix*) SEBAGAI IMUNOMODULATOR DALAM AIR MINUM

Oleh

Arinda Kusuma Wardani

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari total leukosit dan diferensial leukosit broiler yang diberikan *Echinacea purpurea* (*radix*) dengan dosis yang berbeda. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2018—Januari 2019 di unit kandang Laboratorium Lapang Terpadu yang berada di Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Pemeriksaan total leukosit dilakukan di Laboratorium Klinik Pramitra dan diferensial leukosit dilakukan di Balai Veteriner Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah P0 (tanpa pemberian *E. purpurea*), P1 (dosis 3 mg/kg BB), P2 (dosis 6 mg/kg BB), dan P3 (dosis 9 mg/kg BB). Data yang diperoleh dianalisis ragam menggunakan taraf nyata 5%. Peubah dalam penelitian ini yaitu total leukosit dan diferensial leukosit yang meliputi neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, dan limfosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *E. purpurea* tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap total dan diferensial leukosit.

Kata kunci: Leukosit, Diferensial leukosit, Broiler jantan, *E. purpurea*.  
Imunomodulator

## ABSTRACT

### TOTAL LEUCOCYTES AND DIFFERENTIAL LEUCOCYTE OF MALE BROILER AFTER GIVING *Echinacea purpurea* (Radix) AS AN IMMUNOMODULATOR IN DRINKING WATER

By

Arinda Kusuma Wardani

This research intended to study the level of total leucocytes and differential leucocyte of male broiler which is *Echinacea purpurea* (radix) with various dose. This research was conducted in December 2018 until January 2019 at Integrated Field Laboratory, Agriculture Faculty, Lampung University. The total leucocytes analysis was done in Balai Veteriner Lampung and the differential leucocyte analysis was done in Bioclinical Pramitra Laboratory Bandar Lampung. The research used Completely Randomized Design with 4 treatments and 3 replications. The treatment is used P0 (without *E. purpurea*), P1 (dose 3 mg/kg BW), P2 (dose 6 mg/kg BW), dan P3 (dose 9 mg/kg BW). The data obtained were analyzed for variance using the level 5%. Variable in this study are total leucocytes and differential leucocyte which includes neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes, and lymphocytes. The results showed that *E. purpurea* (radix) was not significant ( $P>0,05$ ) on male broiler's total leucocytes and differential leucocyte.

Key words: Leucocyte, Differential Leucocyte, Male broiler, *E. purpurea*, Immunomodulator

**TOTAL LEUKOSIT DAN DIFERENSIAL LEUKOSIT BROILER  
JANTAN SETELAH PEMBERIAN *Echinacea purpurea (Radix)* SEBAGAI  
IMUNOMODULATOR DALAM AIR MINUM**

Oleh

**Arinda Kusuma Wardani**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PETERNAKAN**

pada

**Jurusan Peternakan  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2019**

**Judul : TOTAL LEUKOSIT DAN DIFERENSIAL  
LEUKOSIT BROILER JANTAN SETELAH  
PEMBERIAN *Echinacea purpurea* (Radix)  
SEBAGAI IMMUNOMODULATOR DALAM AIR  
MINUM**

**Nama Mahasiswa : Arinda Kusuma Wardani**

**NPM : 1514141082**

**Jurusan : Peternakan**

**Fakultas : Pertanian**



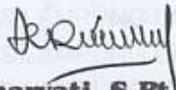
**Menyetujui,**

**Komisi Pembimbing**

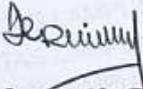
**Dosen Pembimbing Utama**

**Dosen Pembimbing Anggota**

  
**drh. Purnama Edy Santosa, M.Si.**  
NIP 19700324 199703 1 005

  
**Sri Suharyati, S.Pt., M.P.**  
NIP 19680728 199402 2 002

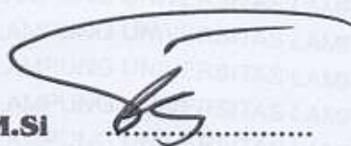
**Ketua Jurusan Peternakan**

  
**Sri Suharyati, S.Pt., M.P.**  
NIP 19680728 199402 2 002

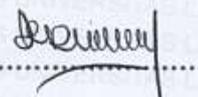
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : drh. Purnama Edy Santosa, M.Si**



**Sekretaris : Sri Suharyati, S. Pt., M.P.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Siswanto, S.Pt., M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**  
NIP. 19611020 198603 1 002

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 17 Juni 2019**

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Desa Gunung Pasir Jaya, Kecamatan Sekampung Udik, Kabupaten Lampung Timur pada 25 Januari 1997 merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, anak dari pasangan Bapak Suwardi dan Ibu Endang Lestari.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak Kristen 12 Gunung Pasir Jaya pada 2001; Sekolah Dasar Kristen 12 Gunung Pasir Jaya pada 2009; SMP Negeri 2 Gunung Pasir Jaya pada 2012; SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono pada 2015. Pada tahun 2015 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tanjung Sari, Lampung Selatan pada Januari—Februari 2018 dan penulis juga melaksanakan Praktik Umum di UPTD Balai Pengembangan Bibit, Pakan Ternak, dan Diagnostik Kehewan Dinas Pertanian Daerah Istimewa Yogyakarta pada Juli—Agustus 2018. Selama masa studi, penulis pernah menjadi Anggota Bidang Penelitian dan Pengembangan Himpunan Mahasiswa Peternakan periode 2016/2017 dan juga pernah menjadi asisten praktikum Anatomi dan Fisiologi Ternak, Biokimia Umum, Ilmu Tanaman Pakan, Produksi Ternak Perah, dan Teknologi Reproduksi.



*Alhamdulillahil'alaahirabbil'aalamiin.....*

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, karunia, dan hidayah-Nya serta suri tauladanku Rasulullah Muhammad SAW sebagai panutan hidup manusia dan satu-satunya Nabi dan Rasul pemberi syafat di hari akhir. Ku persembahkan karya kecilku ini kepada:

Kedua orang tua tercinta yang sangat aku hormati, Ayahku Suwardi dan Ibuku Endang Lestari yang dengan kasih sayangnya membesarkan dan membimbingku sedari kecil, serta doa dan dukungan yang tiada henti mengalir untuk keberhasilan ku di dunia dan akhirat.

Adikku tersayang Ahmada Fais Mustaqim dan Sinta Nuraini Manggaleh yang selalu memberikan motivasi demi keberhasilanku. Guru, Dosen, teman-teman, dan sahabat-sahabatku seperjuangan, atas doa, waktu, motivasi, dan pengorbanan kalian yang telah membantuku dalam menyelesaikan skripsi ini.

Serta

Almamater tercinta yang turut membentuk kepribaianku menjadi lebih dewasa dalam berpikir, bertutur kata, dan berperilaku.

وَإِذْ تَأَذَّنَ رَبُّكُمْ لَئِن شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ وَلَئِن كَفَرْتُمْ إِنَّ عَذَابِي لَشَدِيدٌ ﴿٧﴾ إبراهيم: ٧

Dan (ingatlah) ketika Tuhanmu memaklumkan,  
“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, niscaya Aku akan menambah (nikmat) kepadamu, tetapi jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka pasti azab-Ku sangat berat.”

(Q.S. Ibrahim: 7)

Ilmu tanpa agama adalah kepincangan. Agama tanpa pengetahuan adalah kebutaan

(Albert Einstein)

There is no failure only feedback

“Every time you try and do something and it doesn’t succeed as planned, you have feedback on what did or didn’t work and you become smarter because of it.”

(Presuppositions of NLP)

Rintangan bukan untuk menghentikanmu. Kalau kamu bertemu tembok, jangan berbalik dan menyerah. Cari cara untuk memanjatinya, menembusnya, atau memutarinya.

( Michael Jordan )

Segala sesuatu terjadi karena sebuah alasan. Meski kadang kamu tak mengerti alasannya, tapi dia selalu memberikan sebuah pelajaran.

(Arinda Kusuma Wardani)

## SANWACANA

Penulis mengucapkan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat-Nya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Broiler Jantan Setelah Pemberian *Echinacea purpurea (Radix)* sebagai Immunomodulator dalam Air Minum ”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.—selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung—yang telah memberikan izin;
2. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P.—selaku Ketua Jurusan Peternakan dan Dosen Pembimbing Anggota— yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman selama penulisan skripsi;
3. Bapak Dr. Kusuma Adhianto, S.Pt., M.P.—selaku Sekretaris Jurusan Peternakan—yang telah memberikan dukungan;
4. Bapak drh. Purnama Edy Santosa, M.Si.—selaku Dosen Pembimbing Utama—yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman selama penulisan skripsi;
5. Bapak Siswanto, S.Pt., M.Si.—selaku Dosen Penguji—yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, dan pemahaman selama penulisan skripsi;

6. Ibu Ir. Khaira Nova, M.P.—selaku Dosen Pembimbing Akademik—yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, dan bimbingan;
  7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan, yang telah memberikan pembelajaran dan pemahaman yang berharga;
  8. Bapak, Ibu, serta adikku tercinta, atas kasih sayang, doa, semangat, dan motivasi kebersamaan dan kebahagiaan yang diberikan selama ini;
  9. Sahabat-sahabatku yang telah memberikan bantuan, semangat, dan motivasi selama ini;
  10. Tim penelitian ini (Lusia, Fitri, Dahlia dan Bahari) yang telah sama-sama berjuang dan bekerjasama demi kelancaran dalam pelaksanaan penelitian ini;
  11. Teman seperjuangan sekaligus keluarga besar ku Peternakan Angkatan 2015, terimakasih atas pertemanan dan dukungan selama perkuliahan sampai sekarang, semoga sukses selalu bersama kita, Aamiin;
  12. Kakanda dan Ayunda Angkatan 2013 dan 2014, serta adik-adik Angkatan 2016, 2017, dan 2018 yang telah memberikan semangat, saran, dan motivasi;
  13. Seluruh pihak yang ikut terlibat selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
- Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan, akan tetapi penulis berharap skripsi yang sederhana ini dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya.

Bandar Lampung, 2019

Arinda Kusuma Wardani

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang dan Masalah .....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
C. Manfaat Penelitian.....	3
D. Kerangka Pemikiran .....	3
E. Hipotesis.....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
A. Broiler.....	7
B. <i>Echinacea purpurea</i> .....	8
C. Mekanisme <i>Echinacea purpurea</i> sebagai Imunomodulator.....	12
D. Leukosit .....	14
E. Diferensial Leukosit .....	16
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	24
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	24

B. Alat dan Bahan Penelitian .....	24
C. Rancangan Penelitian .....	26
D. Peubah yang Diamati .....	27
E. Pelaksanaan Penelitian .....	28
F. Analisis Data .....	31
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>32</b>
A. Pengaruh Perlakuan terhadap Total Leukosit pada Broiler.....	32
B. Pengaruh Perlakuan terhadap Diferensial Leukosit .....	36
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>51</b>
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran.....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Rata-rata total leukosit broiler.....	32
2. Rata-rata jumlah diferensial leukosit broiler.....	37
3. Perhitungan rata-rata total leukosit broiler jantan .....	59
4. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap total leukosit broiler jantan .....	60
5. Perhitungan rata-rata total neutrofil broiler jantan.....	60
6. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap total neutrofil broiler jantan .....	61
7. Perhitungan rata-rata total eosinofil broiler jantan.....	61
8. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap total eosinofil broiler jantan .....	63
9. Perhitungan rata-rata total basofil broiler jantan .....	63
10. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap total basofil broiler jantan .....	64
11. Perhitungan rata-rata total monosit broiler jantan .....	64
12. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap total monosit broiler jantan .....	65
13. Perhitungan rata-rata total limfosit broiler jantan .....	66
14. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap total limfosit broiler jantan .....	67
15. Rata-rata suhu dan kelembaban kandang .....	68

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Tanaman <i>Echinacea purpurea</i> .....	9
2. Tata letak rancangan penelitian .....	27
3. Rataan hasil pemeriksaan total leukosit broiler .....	35
4. Rataan hasil pemeriksaan neutrofil broiler .....	38
5. Rataan hasil pemeriksaan eosinofil broiler .....	41
6. Rataan hasil pemeriksaan basofil broiler .....	43
7. Rataan hasil pemeriksaan monosit broiler .....	45
8. Rataan hasil pemeriksaan limfosit broiler .....	48

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang dan Masalah

Perkembangan peternakan perunggasan di Indonesia semakin ditingkatkan, hal ini ditandai dengan bertambahnya peternakan unggas baru untuk mencukupi kebutuhan daging unggas di pasaran. Industri perunggasan terutama peternakan broiler ini memberikan kontribusi cukup besar dalam suplai pangan protein hewani. Salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam peternakan adalah kondisi kesehatan unggas, karena berkembangnya penyakit pada suatu peternakan dapat menurunkan tingkat produksi bahkan menimbulkan kerugian yang cukup besar bagi peternak.

Pemeliharaan broiler di Indonesia tidak lepas dari penggunaan obat-obatan kimiawi, antibiotik serta hormon yang sebenarnya digunakan untuk memacu pertumbuhan ternak dan menjaga kesehatan ternak (Sinurat *et al.*, 2009). Melihat kondisi tersebut, penggunaan bahan-bahan kimiawi dapat dikurangi dengan pemberian bahan-bahan alami (herbal) untuk menjaga kesehatan dan daya tahan tubuh (sistem imun) broiler. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi sistem imun adalah imunomodulator. Imunomodulator dapat didefinisikan sebagai suatu substansi, baik biologis maupun sintesis, yang dapat menstimulasi, menekan atau mengatur salah satu dari komponen sistem kekebalan, baik respon kekebalan

spesifik maupun non spesifik. Imunomodulator berfungsi mencegah perkembangan infeksi menjadi penyakit serta mencegah timbulnya infeksi sekunder.

Leukosit merupakan sel yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh ternak yang sangat tanggap terhadap agen infeksi penyakit. Leukosit berfungsi melindungi tubuh terhadap berbagai penyakit dengan cara fagosit dan menghasilkan antibodi (Junguera, 1977). Menurut Nurhadi dan Sudana (1988) pada ayam jumlah leukosit normal berkisar 20—40 ribu sel/ $\mu$ l. Dengan penambahan immunomodulator, diharapkan terjadi peningkatan sistem imun ayam yang ditandai dengan pertambahan sel darah putih pada tubuh ternak itu sendiri. Diferensial leukosit merupakan kesatuan dari sel darah putih yang terdiri dari dua kelompok yaitu granulosit yang terdiri atas heterosinofil/neutrofil, eosinofil, dan basofil, dan kelompok agranulosit yang terdiri dari limfosit dan monosit (Cahyaningsih *et al*, 2007). Tingkat kenaikan dan penurunan jumlah leukosit dalam sirkulasi menggambarkan ketanggapan sel darah putih dalam mencegah hadirnya agen penyakit dan peradangan (Nordenson, 2002).

Tanaman *Echinacea purpurea* merupakan tanaman herbal dari Eropa dan Amerika Utara yang bersifat sebagai immunomodulator dan dapat menstimulasi (*imunostimulator*) ketahanan imun. *Echinacea purpurea* juga merupakan tanaman pertama yang dibuktikan secara ilmiah khasiat stimulasinya terhadap sistem imun pada tahun 1914 (Tjay dan Rahardja, 2007; Rahardjo dan Santoso 2005).

Mengingat bahwa belum ada peneliti yang menyebutkan pengaruh pemberian *Echinacea purpurea* terhadap total leukosit dan diferensial leukosit broiler maka penulis tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian *Echinacea purpurea (radix)* guna meningkatkan kesehatan broiler yang dapat diamati dari total leukosit dan diferensial leukosit broiler.

## **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. mengetahui pengaruh ekstrak *Echinacea purpurea (radix)* terhadap total leukosit dan diferensial leukosit broiler jantan;
2. mengetahui dosis pemberian *Echinacea purpurea (radix)* yang optimal terhadap total leukosit dan diferensial leukosit broiler jantan.

## **C. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat khususnya peternak broiler mengenai pemberian dosis *Echinacea purpurea (radix)* yang tepat terhadap total leukosit dan diferensialnya sehingga dapat meningkatkan kesehatan dan produktivitas broiler.

## **D. Kerangka Pemikiran**

Broiler merupakan salah satu jenis ras unggulan hasil persilangan bangsa-bangsa ayam yang memiliki produktivitas tinggi terutama dalam memproduksi daging dengan kualitas baik. Daging broiler cenderung lebih populer di kalangan masyarakat dibandingkan dengan daging sapi karena harganya lebih terjangkau.

Broiler memiliki ciri khas yaitu penambahan bobot badan yang cepat, konversi ransum yang baik dan dapat dipotong dalam usia yang relatif muda sehingga periode pemeliharaannya lebih cepat dan efisien (Yuwanta, 2004).

Permasalahan yang sering timbul dalam peternakan broiler salah satunya adalah penurunan produktivitas karena masalah kesehatan. Masalah tersebut dapat menyebabkan tingkat kematian yang tinggi pada broiler sehingga merugikan bagi peternak. Untuk mengatasi masalah tersebut peternak lebih banyak menggunakan obat-obatan kimiawi atau antibiotik untuk menjaga kesehatan broiler. Namun, penggunaan bahan-bahan kimiawi ini tidak sepenuhnya terserap oleh tubuh ternak dan dapat menyebabkan residu. Residu tersebut mempunyai efek yang kurang menguntungkan terhadap ternaknya maupun manusia yang mengonsumsi hasil ternaknya. Melihat kondisi tersebut, penggunaan bahan-bahan alami dapat dimanfaatkan sebagai immunomodulator atau meningkatkan sistem imun untuk mencegah ternak terserang penyakit.

*Echinacea purpurea* merupakan tanaman herbal yang dapat bermanfaat sebagai immunomodulator. *Echinacea purpurea* dipilih karena di dalam terdapat kandungan aktif yaitu *chichoric acid* dan kandungan flavonoid yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun (immunomodulator) dan kegiatan lainnya, seperti stimulasi fagositosis, induksi *cytokins* dari makrofag dan aktivitas antioksidan. Asam *chichoric* terjadi dalam konsentrasi tinggi terutama di kepala bunga (ligul) dan di akar *Echinacea purpurea* (masing-masing 1,2-3,1% dan 0,6-2,1%) (Bauer *et al.*, 2015). Selain itu kandungan komponen polisakaridanya dapat berfungsi untuk menstimulasi sistem kekebalan tubuh dan regenerasi jaringan yang rusak serta meningkatkan jumlah sel fagosit dan makrofag

(Suhirman dan Winarti, 2005). Flavonoid berpotensi sebagai imunostimulan karena mampu meningkatkan produksi IL-2 yang terlibat dalam aktivasi dan proliferasi sel limfosit atau sel T (Wiranata *et al.*, 2013). Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4 yang akan menyebabkan sel Th1 teraktivasi (Ukhrowi, 2011). Flavonoid juga memiliki mekanisme kerja dengan cara mengaktivasi sel NK untuk merangsang produksi IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  merupakan sitokin utama MAC (*Macrophage Activating Cytokine*) yang mengaktifkan makrofag dan memacu peningkatan aktivitas fagositik (Susilo dan Sari, 2013). *Echinacea purpurea* mudah didapatkan karena telah banyak beredar produk ekstrak *Echinacea purpurea* dalam bentuk cair maupun kapsul di pasaran.

Indikasi adanya stres, infeksi atau kelainan dalam tubuh karena suatu penyakit dapat dilihat dari perubahan diferensial sel darah putih secara keseluruhan. Menurut Frandson (1992) masing-masing jenis sel darah putih mempunyai fungsi yang berbeda-beda dalam menjalankan mekanisme pertahanan tubuh. Harapannya dengan pemberian *Echinacea* dapat dilihat kondisi total dan diferensial leukosit yang nantinya akan berkorelasi positif dengan peningkatan daya tahan tubuh dan produktivitas.

Pada penelitian terdahulu dilakukan oleh Setha (2015) menyimpulkan bahwa pemberian kombinasi herba *Andrographis paniculata* dan herba *Echinacea purpurea* dapat berperan sebagai imunomodulator pada mencit yang dibuat stres dengan memberikan stressor panas pada mencit sebagai hewan cobanya. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* dapat berperan sebagai imunomodulator dengan mampu meningkatkan jumlah eosinofil pada hari ke-7 pada mencit.

### **E. Hipotesis**

1. Terdapat pengaruh pemberian *Echinacea purpurea (radix)* dengan dosis yang berbeda terhadap total leukosit dan diferensial leukosit broiler.
2. Terdapat dosis *Echinacea purpurea (radix)* yang terbaik terhadap total leukosit dan diferensial leukosit broiler.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Broiler

Ayam ras pedaging disebut juga broiler, yang merupakan jenis ras unggulan hasil persilangan dari bangsa-bangsa ayam yang memiliki daya produktivitas tinggi, terutama dalam memproduksi daging ayam (Rasyaf, 2006). Ciri khas broiler adalah pertumbuhan yang cepat, sebagai penghasil daging dengan konversi pakan rendah dan siap dipotong pada usia yang relatif muda. Pada umumnya broiler ini siap panen pada usia 28—45 hari dengan berat badan 1,2—1,9 kg/ekor (Murtidjo, 2003).

Klasifikasi ayam menurut Rose (2001), adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*  
Subkingdom : *Metazoa*  
Phylum : *Chordata*  
Subphylum : *Vertebrata*  
Divisi : *Carinathae*  
Kelas : *Aves*  
Ordo : *Galliformes*  
Family : *Phasianidae*  
Genus : *Gallus*  
Spesies : *Gallus gallus domestica*

Ditinjau dari genetik, broiler sengaja diciptakan agar dalam waktu singkat dapat segera dimanfaatkan hasilnya. Oleh karena itu, istilah broiler adalah untuk menyebut strain ayam hasil budidaya rekayasa genetika yang memiliki karakteristik ekonomis, memiliki pertumbuhan cepat sebagai penghasil daging, konversi pakan sangat irit, siap dipotong pada umur muda, serta mampu menghasilkan kualitas daging yang bersih, berserat lunak dengan kandungan protein yang tinggi. Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai pertambahan jumlah ataupun ukuran sel, bentuk dan berat jaringan-jaringan tubuh seperti tulang, urat daging, jantung, otak serta semua jaringan tubuh lainnya kecuali jaringan lemak dan pertumbuhan terjadi dengan cara yang teratur (Murtidjo, 2003).

Sifat-sifat dari broiler adalah ukuran badan besar dengan bentuk dada yang lebar, pendek, dan berisi, efisien terhadap pakan, pertumbuhan, penambahan berat badan sangat cepat yaitu pada umur 32 hari berat badan bisa mencapai 1,5 kg.

Dagingnya lembut, bersih dan menarik, memiliki asam amino lengkap, mudah diolah, serta harganya relatif murah (Summers dan Lesson, 2000).

### ***B. Echinacea purpurea***

Tanaman *E. purpurea* berasal dari Amerika Utara dan dikenal sebagai tumbuhan obat yang penting. *Echinacea* menunjukkan efek imunoregulasi, anti inflamasi dan sebagai antioksidan serta tidak mempunyai efek samping ataupun hipersensitivitas pada uji klinis. *Echinacea* mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain yaitu derivat asam kafein, alkamid, flavonoid dan poliasctilen. Alkamid dan derivat asam kafein merupakan senyawa aktif yang

menunjukkan efek imunoregulasi (Lee dan Scagel, 2009). Tanaman *Echinacea* dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Tanaman *Echinacea purpurea*  
(Sumber: Google images, 2018)

Klasifikasi menurut Kumar dan Ramaiah (2011) :

Nama Latin : *Echinacea purpurea*, *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*

Nama lain : *Echinacea*, *purple coneflower*, *coneflower*, *American coneflower*

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Traceobionta*

Division : *Magnoliyopita*

Class : *Magnoliopsida*

Subclass : *Asteridae*

Family : *Asteraceae*

Genus : *Echinaceae Moench*

Species : *Echinaceae Purpurea (L.) Moench*

Di Indonesia tanaman ini mulai diteliti pada tahun 1998 dan berdasarkan hasil adaptasi menunjukkan bahwa *Echinacea* mampu tumbuh baik di daerah Tropis dengan ketinggian 400--1200 m dpl. Pertumbuhan optimal dihasilkan apabila

*Echinacea* ditanam pada ketinggian 800 m dpl dengan curah hujan 2.000--3.000 mm/tahun serta jenis tanah andosol dan latosol yang mempunyai sifat fisik baik dengan kandungan bahan organik tinggi (Rahardjo, 2000).

*E. purpurea* adalah salah satu spesies utama *Echinacea*, obat ini telah lama digunakan untuk mengobati infeksi untuk membantu penyembuhan luka dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Alkamides *Echinacea* yang diturunkan memiliki imunomodulator dan aktivitas anti-inflamasi. Efek anti-inflamasi melalui penghambatan produksi mediator inflamasi tumor *necrosis factor-alpha* (TNF- ) dan oksida nitrat (NO). *Echinacea* menunjukkan efek stimulasi bila diterapkan pada sel-sel kekebalan dalam budaya atau intraperitoneal disuntikkan ke tikus. *Echinacea* merangsang neutrofil dan fungsi makrofag fagositosis. Estrak hidrofilik dan lipofilik kompleks *Echinacea* memiliki lebih pada aktivitas virus-infeksi fraksi inhibitor. Polisakarida yang berasal dari *Echinacea* telah menunjukkan aktivitas untuk merangsang aktivitas makrofag dan fungsi yang terkait dengan produksi sitokin dan kelompok senyawa fenolik serta alkamides, yang telah menunjukkan sifat antivirus dan antijamur ( Kumar dan Ramaiah, 2011).

*E. purpurea* yang mengandung senyawa *echinacin* dan *arabinogalactan* memiliki efek pada penyembuhan luka, terutama efek hambatan terhadap enzim *hialuronidase* dan stimulasi pertumbuhan dari fibroblast yang dapat mengurangi peradangan (inflamasi) dan memacu produksi sitokin tertentu ( TNF-g, IL-1, interferon) (Goel *et al.*, 2002). Menurut Joklik *et al.* (1992) dan Prescott dan Langsing (1999) enzim *hialuronidase* mampu menghidrolisis asam hialuronik

yang berada pada interseluler, sebagai substansi dasar jaringan penghubung, sehingga mempermudah penyebaran infeksi.

*E. purpurea* merupakan tanaman yang dapat ditumbuhkan baik dengan menggunakan bijinya atau juga dapat ditumbuhkan secara vegetatif, yakni melalui tunas batang yang tumbuh dari batang bawah di atas tumbuhnya akar. Apabila batang tanaman dipangkas tepat di atas permukaan tanah, maka akan muncul tunas-tunas baru (Rahardjo dan Santoso, 2005).

Ciri-ciri tanaman *Echinacea* adalah tinggi tanaman mencapai 82 cm, batang hijau keunguan. Daun berbentuk bulat telur memanjang, tepi daun bergerigi jarang, rasio panjang lebar daun 5:1. Bunga tepi berjumlah 18—21 buah berwarna merah muda dengan bentuk bulat telur memanjang. Warna bunga saat kuncup adalah merah (Subositi, 2011).

Komponen kimia yang terdapat pada *E. purpurea* meliputi karbohidrat: polisakarida (*arabinogalaktan, xyloglycan, echinacin*), inulin; glikosida: asam kafeat dan derivatnya (*chichoric acid, echinacoside, chlorogenic acid*), *cynarin*; *alkaloids: isotussilagine, tussilagine; alkylamides* seperti *echinacein*; *polyacetylenes; germacrene sesquiterpene alkohol*; komponen lain: glikoprotein, flavonoid, resin, asam lemak, minyak esensial, *phytosterol* dan mineral. Derivat asam kafeat, *cynarin*, polisakarida, dan glikoprotein bersifat polar sedangkan *alkylamides* dan *polyacetylenes* bersifat lipofilik (Schumacher *et al.*, 1991).

*E. purpurea* telah digunakan dengan aman selama berabad-abad. *E. purpurea* dapat meningkatkan jumlah leukosit dan meningkatkan daya tahan tubuh, merangsang sel-sel *killer* dan menunjukkan aktifitas antiviral. Kegunaan *E.*

*purpurea* adalah untuk terapi suportif *common cold*, infeksi *traktus respiratorius* kronik, pengobatan infeksi *traktus urinarius* bawah dan pengobatan luka superfisial bila diberikan secara eksternal. Pada percobaan manusia dan hewan, sediaan diberikan secara oral atau parenteral untuk menghasilkan efek imunostimulasi. Diantara aksi-aksi fisiologik yang lain, jumlah sel-leukosit meningkat, fagositosis granulosit manusia meningkat dan peningkatan temperatur tubuh (Bartram, 1995).

### **C. Mekanisme *E. purpurea* sebagai Immunomodulator**

Beberapa jenis tanaman obat yang mempunyai aktivitas sebagai immunomodulator antara lain *Echinacea purpurea*, mengkudu, jahe, meniran dan sambiloto. *E. purpurea* dapat mamacu aktivitas limfosit, meningkatkan fagositosis dan menginduksi interferon. *Echinacea* memiliki sembilan spesies, namun hanya *E. purpurea* yang direkomendasikan secara luas sebagai immunomodulator (Tyler, 1993).

Kandungan berkhasiat yang dimiliki *E. purpurea* yaitu polisakarida, flavonoid, asam cafein, minyak atsiri, poliasetilen, alkalamid. Polisakarida dan *chicoric acid* yang larut air berfungsi sebagai stimulan terhadap ketahanan tubuh, sedangkan komponen lemak yang larut seperti isobutilamid berfungsi untuk meningkatkan fagositosis sel granulosit dan menghambat enzim sikloogsigenase dan lipooksigenase (Suhirman dan Winarti, 2005).

*E. purpurea* mempengaruhi sistim imun terutama sistim imun non spesifik. Pemberian *E. purpurea* meningkatkan respon imun fase awal dan mempercepat terjadinya respon imun adaptif. *E. purpurea* dapat memacu makrofag untuk

menghasilkan sitokin yang akan membantu regulasi sistem imun. Kultur makrofag yang mendapat stimulasi *E. purpurea* menunjukkan efek antiviral dibandingkan dengan yang tidak distimulasi (Burger *et al.*, 1997). Sitokin yang dihasilkan makrofag darah perifer mencit yang mendapat *E. purpurea* akan mengaktifasi sel T helper untuk berproliferasi. Selain itu, menurut Karasawa *et al.* (2011) dan Rahmani *et al.* (2012) kandungan polifenol pada *E. purpurea* seperti *chlorogenic acid* dan *caffeic acid* dapat menstimulasi imun seluler melalui peningkatan IFN- $\gamma$ . Dilaporkan juga bahwa aktivasi makrofag yang berhubungan dengan aktivasi limfosit T akan meningkatkan produksi IFN- $\gamma$  dan merangsang proliferasi sel-sel T sitotoksik (Mishima *et al.*, 2004). Subowo (1993) juga berpendapat bahwa IFN- $\gamma$  akan meningkatkan aktifitas fagositosis dan mikrobisidal dari makrofag, peningkatan produksi antibody, peningkatan aktivitas sel NK dan CTL yang dapat mempertahankan tubuh terhadap infeksi virus. Namun menurut Baratawidjaja dan Rengganis (2010) produksi IFN- $\gamma$  dalam dosis tinggi dapat menghambat penggandaan sel B dan sel T.

*E. purpurea* memiliki kandungan flavonoid yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun (imunomodulator), selain kandungan komponen polisakaridanya berupa fruktofuranosida dikenal fungsinya untuk menstimulasi sistem kekebalan tubuh dan regenerasi jaringan yang rusak serta meningkatkan jumlah sel fagosit dan makrofag (Suhirman dan Winarti, 2005). *E. purpurea* bubuk akar kering (mengandung 1,5% dari total polifenol, dihitung sebagai asam klorogenat) meningkatkan ketahanan limfosit limpa untuk apoptosis; limfosit limpa diperoleh dari tikus diberikan tersebut *Echinacea* persiapan secara oral pada dosis 30 atau 100 mg / kg sehari selama 14 hari (Carlo *et al.*, 2003).

Studi farmakologi juga telah menunjukkan bahwa ekstrak *hydroalcoholic* dari akar *E. purpurea* dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, stimulasi fagositosis, penghambatan hialuronidase, interferon dimediasi, aktivitas antivirus, stimulasi *splenocytes* pada tikus, induksi sitokin *in vitro* dan *in vivo*, stimulasi aktivitas NK pada manusia dan stimulasi sel NK dan monosit pada tikus (Baurer, 2015).

#### **D. Leukosit**

Darah didefinisikan sebagai komponen penting yang berperan dalam proses fisiologis dalam tubuh yang mengalir melalui pembuluh darah dan sistem kardiovaskuler. Darah merupakan media transportasi yang membawa nutrisi dari saluran pencernaan ke jaringan tubuh, membawa kembali produk sisa metabolisme sel ke organ eksternal, mengalirkan oksigen ke dalam sel tubuh dan mengeluarkan karbon dioksida dari sel tubuh, dan membantu membawa hormon yang dihasilkan kelenjar endokrin ke seluruh bagian tubuh. Sekitar 55% dari volume darah yang beredar merupakan cairan dan sisanya 45% adalah sel-sel dan benda darah (Effendi, 2003).

Leukosit atau sel darah putih merupakan salah satu suspensi plasma darah yang berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh dari serangan bakteri, virus dan patogen melalui mekanisme pembentukan antibodi yang saat ini banyak digunakan sebagai salah satu indikator penentu kesehatan ternak. Status kesehatan ternak dapat diketahui melalui jumlah leukositnya yang memiliki agen penyerang untuk melawan bakteri (Yuniwati, 2015).

Leukosit merupakan komponen seluler yang berfungsi melawan infeksi dalam tubuh. Leukosit berfungsi untuk melindungi tubuh terhadap kuman-kuman penyakit yang menyerang tubuh dengan cara fagosit, menghasilkan antibodi. Hasil rata-rata normal leukosit broiler yaitu berkisar antara 20.000—40.000 sel/mm<sup>3</sup>. Persentase neutrofil pada umumnya berkisar 20--40%. Jumlah sel eosinofil pada ayam yaitu 2--10% dari jumlah total leukositnya. Jumlah monosit normal berkisar 3--9% dari jumlah leukosit di dalam darah. Persentase limfosit pada darah unggas berkisar 55--96%. Persentase basofil pada umumnya berkisar 1--4% (Nurhadi dan Sudana, 1988).

Moyes dan Schulte (2008) dan Soeharsono *et al.* (2010) menyatakan bahwa kesehatan fisik ternak dapat diukur melalui jumlah leukosit yang dihasilkan dimana peningkatan jumlah leukosit menandakan adanya peningkatan kemampuan pertahanan. Menurut Price *et al.* (1985) total leukosit yang bersirkulasi dalam pembuluh darah perifer diatur secara ketat dalam batas tertentu tetapi dapat berubah sesuai dengan kebutuhan jika timbul proses peradangan. Hal ini dapat dilihat pada gambaran diferensiasi leukosit yang mempunyai fungsi yang berbeda dalam pertahanan tubuh. Jumlah leukosit pada tiap-tiap unggas berbeda-beda dan mempunyai fluktuasi yang tinggi, keadaan ini bisa terjadi pada kondisi stres, aktivitas biologis yang tinggi, gizi, dan umur.

Leukosit dan diferensiasinya merupakan salah satu indikator yang pada umumnya digunakan untuk menunjukkan status kesehatan ternak termasuk ayam broiler (Sugiharto, 2014). Individu ternak terkadang memiliki perbedaan jumlah leukosit yang umumnya perbedaan tersebut disebabkan oleh beberapa faktor meliputi

aktivitas fisiologis, umur, gizi, stres dan lainnya, jumlah leukosit yang menyimpang dari kondisi normal mempunyai keterkaitan dengan kondisi kesehatan ternak tersebut (Suriansyah *et al.*, 2016). Menurut Falahudin *et al.* (2016) stres lingkungan dapat meningkatkan produksi kortikosteroid dan glukokortikoid yang berpengaruh buruk terhadap kesehatan ayam. Saputro *et al.* (2014) juga berpendapat ayam yang terinfeksi bakteri akan menyebabkan kesehatan ayam tersebut menurun ditandai dengan adanya peningkatan leukosit.

Faktor lain yang turut berpengaruh dalam perubahan leukosit adalah jenis kelamin, lingkungan, efek hormon, obat-obatan serta sinar ultraviolet atau sinar radiasi (Hodges, 1977) serta . Selain itu perlakuan vaksinasi juga mengakibatkan peningkatan leukosit , protein darah, dan laju endap darah (Roitt, 1990 ; Saputro *et al.*, 2014 ; Tizard, 2000). Sementara itu, Allan *et al.* (1978) menyatakan bahwa kadar protein darah dan sel-sel leukosit dalam darah ayam akan kembali normal pada tiga sampai lima minggu setelah vaksinasi.

#### **E. Diferensial Leukosit**

Diferensial leukosit dibagi ke dalam dua kelas berdasarkan penampakan histologis yaitu polimorfonuklear leukosit (granulosit) dan mononuklear leukosit (agranulosit). Leukosit granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil, sedangkan leukosit agranulosit terdiri dari monosit dan limfosit yang dapat dibedakan berdasarkan afinitas granula terhadap zat warna netral basa dan asam (Kelly, 1984). Perubahan jumlah leukosit dalam sirkulasi darah dapat diartikan sebagai timbulnya agen penyakit, peradangan, penyakit autoimun atau reaksi alergi (Lestari *et al.*, 2013). Menurut Guyton dan Hall (1997) jika tubuh ternak

mengalami gangguan fisiologis maka gambaran darah dapat mengalami perubahan. Perubahan gambaran darah dapat disebabkan faktor internal seperti penambahan umur, status gizi, kesehatan, stres, siklus estrus, dan suhu tubuh, sedangkan secara eksternal misalnya akibat infeksi kuman dan perubahan suhu lingkungan.

Peningkatan total leukosit dimediasi oleh hormon epinefrin dan hormon kortikosteroid (Jain, 1993). Menurut Falahudin *et al.* (2016) stres lingkungan dapat meningkatkan produksi kortikosteroid dan glukokortikoid yang berpengaruh buruk terhadap kesehatan ayam. Keadaan-keadaan tersebut dapat mempengaruhi proses pembentukan darah, adapun mekanisme pembentukan darah putih secara normal berlangsung dalam sumsum tulang dan jaringan limfoid untuk leukosit.

#### 1. Neutrofil

Neutrofil berkembang dalam sumsum tulang dikeluarkan dalam sirkulasi. Garis tengah sekitar 12  $\mu\text{m}$ , satu inti dan 2—5 lobus. Sitoplasma yang banyak diisi oleh granula-granula spesifik (0,3—0,8 $\mu\text{m}$ ) mendekati batas resolusi optik, berwarna salmon pink oleh campuran jenis *romanovsky*. Granul pada neutrofil ada dua :

- a. Azurofilik yang mengandung enzim lisozom dan peroksidase.
- b. Granul spesifik lebih kecil mengandung fosfatase alkali dan zat-zat bakterisidal (protein Kationik) yang dinamakan fagositin (Effendi, 2003).

Neutrofil merupakan garis depan pertahanan seluler terhadap invasi jasad renik, menfagosit partikel kecil dengan aktif. Adanya asam amino D-oksidas dalam granula *azurofilik* penting dalam pengenceran dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D. Selama proses fagositosis dibentuk peroksidase.

*Mielo peroksidase* yang terdapat dalam neutrofil berikatan dengan peroksida dan halida bekerja pada molekul tirosin dinding sel bakteri dan menghancurkannya (Melvin dan William, 1993). Dibawah pengaruh zat toksik tertentu seperti streptolisin toksin streptokokus membran granula-granula neutrofil pecah, mengakibatkan proses pembengkakan diikuti oleh aglutinasi organel-organel dan destruksi neutrofil (Tizard, 2000). Menurut Meyer *et al.* (1992) setelah memfagositosis benda asing, neutrofil akan mencerna benda asing tersebut kemudian akan mengalami autolisis dan melepaskan zat-zat hasil degradasi ke dalam jaringan limfe. Jaringan limfe akan mengeluarkan histamin yang merangsang sumsum tulang melepaskan cadangan neutrofil

Neutrofil mempunyai metabolisme yang sangat aktif dan mampu melakukan glikolisis baik secara *aerob* maupun *anaerob*. Kemampuan neutrofil untuk hidup dalam lingkungan anaerob sangat menguntungkan, karena mereka dapat membunuh bakteri dan membantu membersihkan debris pada jaringan nekrotik. Neutrofil memiliki rentang usia sekitar 14 jam. Fagositosis oleh neutrofil merangsang aktivitas *heksosa monofosfat shunt*, meningkatkan glikogenolisis (Akmal, 2017). Neutrofil melawan antigen dengan cara memakannya (fagositosis). Selain melakukan fagositosis terhadap kuman, neutrofil juga memakan jaringan tubuh yang rusak atau mati (Tizard, 2000). Menurut Meyer *et al.* (1992) setelah memfagositosis benda asing, neutrofil akan mencerna benda asing tersebut kemudian akan mengalami autolisis dan melepaskan zat-zat hasil degradasi ke dalam jaringan limfe.

## 2. Eosinofil

Eosinofil mempunyai garis tengah 9  $\mu\text{m}$  (sedikit lebih kecil dari neutrofil).

Eosinofil adalah sel yang besar dengan sitoplasma banyak mengandung granula, dan akan tampak merah jika diwarnai dengan pewarnaan yang bersifat basa (Ganong, 1996). Eosinofil melakukan fungsi sistem imun dengan cara melisiskan sebagaimana fungsi kimiawi yakni secara enzimatik (Wulandari *et al.*, 2014).

Lokapirnasari dan Yulianto (2014) menyatakan bahwa eosinofil memiliki dua fungsi utama yaitu mampu menyerang dan menghancurkan bakteri patogen serta mampu menghasilkan enzim yang dapat menetralkan faktor radang.

Eosinofil mempunyai pergerakan amuboid, dan mampu melakukan fagositosis, lebih lambat tapi lebih selektif dibanding neutrofil. Eosinofil memfagositosis kompleks antigen dan antibodi, ini merupakan fungsi eosinofil untuk melakukan fagositosis selektif terhadap kompleks antigen dan antibodi. Eosinofil mengandung profibrinolisin, diduga berperan mempertahankan darah dari pembekuan, khususnya bila keadaan cairnya diubah oleh proses-proses Patologi. Kortikosteroid akan menimbulkan penurunan jumlah eosinofil darah dengan cepat (Akmal, 2017). Eosinofil berperan dalam reaksi alergi, serangan parasit dan jumlahnya akan terus meningkat selama serangan alergi (Kresno, 2001). Faktor yang dapat mempengaruhi tinggi rendahnya eosinofil yaitu reaksi tubuh ayam yang berlebihan atau hipersensitivitas respon imun terhadap alergi dan parasit serta tingkat peradangan (Suriansyah *et al.*, 2016). Selain itu, menurut Campbell (2004) penurunan eosinofil pada unggas sulit untuk diketahui tetapi jika ditemukan diduga berhubungan dengan kondisi stres.

### 3. Basofil

Basofil ukuran garis tengah 12  $\mu\text{m}$ , inti satu, besar bentuk pilihan ireguler, umumnya bentuk huruf S, sitoplasma basofil terisi granul yang lebih besar, dan seringkali granul menutupi inti, granul bentuknya ireguler berwarna metakromatik, dengan campuran jenis *Romanovski* tampak lembayung. Granula basofil metakromatik dan mensekresi histamin dan heparin, dan keadaan tertentu, basofil merupakan sel utama pada tempat peradangan ini dinamakan hipersensitivitas kulit basofil. Hal ini menunjukkan basofil mempunyai hubungan kekebalan (Effendi, 2003).

Basofil mengandung banyak granula sitoplasmik dengan dua lobus. Seperti granulosit lainnya, basofil dapat ditarik keluar menuju jaringan tubuh dalam kondisi tertentu. Di dalam sirkulasi darah basofil dapat bertahan beberapa hari dan pada jaringan dapat bertahan sampai berminggu-minggu (Akmal, 2017).

Saat teraktivasi, basofil mengeluarkan antara lain *histamin*, *heparin*, *kondoitin*, *elastase*, dan *lisofosfolipase*, *leukotriena*, dan beberapa macam sitokina (Dharmawan, 2002). Basofil memainkan peran dalam reaksi alergi (seperti asma). Basofil mengeluarkan bahan alami anti pembekuan heparin, yang memastikan bahwa jalur pembekuan dan koagulasi tidak terus berlangsung tanpa pengawasan. Basofil juga terlibat dalam pembentukan respon alergi (Akmal, 2017). Menurut Guyton (1995) penyebab reaksi alergik dikarenakan kelas dai IgE memiliki kecenderungan melekat pada sel tersebut.

Basofil memiliki reseptor IgE yang menyebabkan terjadinya degranulasi melalui proses eksositosis (Dellman dan Brown 1992). Adanya reseptor tersebut,

mengakibatkan reaksi hipersensitifitas dengan mensekresikan mediator vasoaktif, sehingga dapat menyebabkan peradangan akut pada tempat antigen berada (Tizard, 1982).

#### 4. Monosit

Monosit merupakan sel leukosit memiliki diameter 9—10  $\mu\text{m}$  tapi pada sedian darah kering diameter mencapai 20  $\mu\text{m}$ , atau lebih. Inti biasanya eksentris, adanya lekukan yang dalam berbentuk tapal kuda. Tizard (1982) menyatakan bahwa monosit telah menjadi makrofag baik pada aliran darah (*fagositik mononuclear*). Monosit dalam melaksanakan fungsi sistem imun berperan sebagai *macrophage* yakni menelan dan menghancurkan sel, mikroorganisme dan benda asing yang bersifat patogen.

Monosit ditemui dalam darah, jaringan penyambung, dan rongga-rongga tubuh. Monosit tergolong *fagositik mononuclear (system retikuloendotel)* dan mempunyai tempat-tempat reseptor pada permukaan membrannya untuk imunoglobulin dan komplemen. Monosit beredar melalui aliran darah, menembus dinding kapiler masuk ke dalam jaringan penyambung. Dalam darah monosit dapat hidup selama 2—3 hari. Menurut Guyton (1995) monosit memiliki masa edar yang singkat dalam sirkulasi darah kemudian masuk ke dalam jaringan. Menurut Effendi (2003) monosit dalam jaringan bereaksi dengan limfosit dan memegang peranan penting dalam pengenalan dan interaksi sel-sel *immunocompetent* dengan antigen.

Jakson (2007) berpendapat bahwa tingginya jumlah monosit terjadi pada beberapa kondisi seperti reaksi stres akut, penyakit inflamasi, dan infeksi kronis terutama

jika banyak kotoran sel yang harus dikeluarkan. Menurut Chastain dan Ganjam (1986) stres dapat menyebabkan kortisol disekresi oleh kelenjar adrenal sehingga meningkatkan jumlah monosit.

## 5. Limfosit

Limfosit merupakan suatu famili sel yang berbentuk sferis dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan molekul-molekul permukaan yang mencolok, yang dapat dikenali dengan metode imunositokimia. Limfosit juga mempunyai beberapa peranan fungsional dan semuanya berhubungan dengan reaksi imun dalam pertahanan terhadap serangan mikroorganisme, makro-molekul asing dan sel kanker (Guyton dan Hall, 2007). Tingginya jumlah limfosit di atas normal dapat menyebabkan limfositosis karena adanya infeksi kronis dan adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh (Nordenson, 2002).

Limfosit adalah leukosit berinti satu dalam darah perifer. Pada sediaan darah, limfosit berupa sel bulat kecil berdiameter 7—12  $\mu\text{m}$  dengan nukleus berlekuk yang terpulas pool gelap dan sedikit sitoplasma biru terang. Tidak ada granula spesifik tetapi mungkin sedikit granula azurofil. Di bawah mikroskop elektron terlihat memiliki kompleks golgi, sepasang sentriol dan mitokondria. Retikulum endoplasma tidak ada, namun terdapat banyak ribosom bebas dalam sitoplasma (Effendi, 2003).

Limfosit memiliki rentang usia sekitar 100--300 hari. Selama periode ini, sebagian besar dari sel ini secara kontinu beredar di antara jaringan limfoid, limfa, dan darah dengan menghabiskan waktu beberapa jam saja di dalam darah.

Dengan demikian, hanya sebagian kecil limfosit total yang transit di daerah dalam setiap waktu tertentu. Limfosit paling banyak ditemukan dalam nodus limfe, namun juga dijumpai dalam jaringan limfoid khususnya, seperti limpa, daerah submukosa saluran cerna, timus dan sumsum tulang. Jaringan limfoid tersebar di lokasi-lokasi yang sangat menguntungkan di dalam tubuh untuk menahan invasi organisme atau toksin sebelum dapat menyebar luas (Guyton dan Hall, 2007).

Yalcinka *et al.* (2008) menyatakan bahwa limfosit merupakan unsur penting dalam sistem kekebalan tubuh, yang berfungsi merespon antigen dengan membentuk antibodi. Menurut Bikrisirna *et al.* (2013) limfosit berperan untuk merespon antigen (benda-benda asing) dengan membentuk antibodi dan pengembangan imunitas. Kresno (2001) juga menyatakan pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi yaitu sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sedangkan sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respon imun (sel T supresor).

Limfosit dapat lebih cepat merespon sistem imun apabila antigen yang masuk kedalam tubuh akan merangsang dan memunculkan respon awal yang disebut respon imun primer, respon ini memerlukan waktu lebih lama untuk memperbanyak limfosit dan membentuk ikatan imunologik berupa sel-sel limfosit yang lebih peka terhadap antigen, pada saat antigen yang sama kembali menginfeksi tubuh maka respon yang muncul berupa respon imun sekunder (Efendi, 2003).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2018—Januari 2019 di unit kandang Laboratorium Lapang Terpadu yang berada di Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sedangkan, analisis total leukosit dilaksanakan di Laboratorium Klinik Pramitra dan diferensial leukosit dilaksanakan di Balai Veteriner Lampung, Bandar Lampung.

#### **B. Alat dan Bahan Penelitian**

##### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

- a) kandang broiler;
- b) bambu untuk membuat sekat-sekat pada kandang;
- c) sekam dan koran bekas sebagai *litter*;
- d) plastik terpal untuk tirai;
- e) lampu sebagai sumber pemanas pada area *brooding*, 6 buah;
- f) tempat ransum (*baby chick feeder*) untuk broiler umur 1—28 hari, 12 buah;
- g) tempat air minum berbentuk tabung, 12 buah;

- h) nampan air *dipping*, 1 buah;
- i) ember, 2 buah;
- j) *hand sprayer*, 1 buah;
- k) timbangan kapasitas 10 kg sebanyak 1 buah yang digunakan untuk menimbang ransum;
- l) timbangan elektrik, 1 buah;
- m) *thermohygrometer* untuk mengukur suhu dan kelembaban udara di kandang, 1 buah;
- n) karung dan plastik;
- o) gelas ukur 200 ml untuk menghitung pemberian dosis *E. purpurea (Radix)*, 1 buah;
- p) *disposable syringe* 3 ml untuk mengambil sampel darah ayam, 12 buah;
- q) tabung *ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)*, 12 buah;
- r) *coller box* untuk membawa tabung *EDTA* yang berisi sampel darah;
- s) gunting dan pisau;
- t) peralatan pemeriksaan total leukosit (*Hematologi Analyzer Mindray BC 3600*);
- u) peralatan pemeriksaan diferensial leukosit (gelas obyek dan pipet tetes);
- v) alat tulis dan kertas untuk mencatat data yang diperoleh

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

- a) *doc broiler jantan strain new lohmann* sebanyak 60 ekor dengan pemeliharaan hingga umur 28 hari;

- b) ransum broiler komersial berupa Gold BR 1;
- c) vaksin yang meliputi vaksin ND dan AI;
- d) bahan untuk *biosecurity* seperti desinfektan dan kapur;
- e) sediaan *E. purpurea (radix)* dalam bentuk ekstrak kering;
- f) bahan yang digunakan untuk analisis total leukosit antara lain *diluent, rinse, lyse*, dan *probe cleanser*;
- g) bahan yang digunakan untuk analisis diferensial leukosit antara lain alkohol, methanol, Pewarna agrica 10%, dan *phosphate buffered saline (PBS)* 90%;
- h) air minum akan diberikan secara *ad libitum* baik pada air minum dengan perlakuan maupun tanpa perlakuan. Air minum yang diberikan terdiri dari empat macam yaitu P0 = air minum tanpa *Echinacea purpurea*, P1 = air minum dengan 3 mg/kg BB/hari, *Echinacea purpurea*, P2 = air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *Echinacea purpurea*, dan P3 = air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *Echinacea purpurea*.

### **C. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Setiap ulangan terdiri dari lima ekor broiler yang pembagian petaknya dapat dilihat pada Gambar 2. Pemberian *E. purpurea (Radix)* dalam bentuk ekstrak kering sebagai imunomodulator yang ditambahkan ke air minum dengan dosis yang berbeda pada 60 ekor broiler yang terbagi menjadi:

P0 : air minum tanpa *E. purpurea (radix)* (kontrol);

- P1 : air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *E. purpurea (radix)*;
- P2 : air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *E. purpurea (radix)*, dan;
- P3 : air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *E. purpurea (radix)*.

P3U1	P2U2	P1U3
P1U2	P3U2	P3U3
P0U3	P0U2	P2U3
P0U1	P2U1	P1U1

Gambar 2. Tata letak rancangan penelitian

Keterangan:

P : Perlakuan

U : Ulangan

Pemberian perlakuan *E. purpurea (radix)* dengan dosis yang berbeda dilakukan pada hari selanjutnya setelah *doc* datang di pagi hari. Pukul 07.00 WIB *E. purpurea (radix)* akan dilarutkan ke dalam seperlima kebutuhan air minum broiler setelah broiler dipuaskan 1 jam sebelumnya untuk memastikan *E. purpurea* habis dikonsumsi dalam sekali minum. Selanjutnya, pukul 08.30 WIB akan ditambahkan air minum biasa tanpa tambahan *E. purpurea (radix)* secara *ad libitum*.

#### **D. Peubah yang Diamati**

Peubah yang diamati pada saat penelitian adalah total leukosit dan diferensial leukosit berupa neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit.

## E. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Persiapan kandang

Persiapan kandang dilakukan minimal satu minggu sebelum *doc* datang (*chick in*), meliputi:

- a) memasang tirai kandang;
- b) memasang lampu penerangan pada kandang;
- c) mencuci lantai kandang dengan menggunakan air dan disikat dengan sabun;
- d) mencuci peralatan kandang seperti tempat pakan dan tempat minum dengan sabun yang mengandung desinfektan;
- e) menyekat kandang dengan bambu sebanyak 12 petak dengan ukuran 85x75 cm untuk 4 perlakuan dan 3 ulangan dengan setiap ulangan berisi 5 ekor ayam;
- f) menyemprot kandang dengan desinfektan;
- g) mengapur dinding, tiang, dan lantai kandang;
- h) membuat area *brooding* pada kandang;
- i) menaburi lantai kandang dengan sekam setebal 5–10 cm saat kandang sudah kering.

### 2. Pemeliharaan

- a) melakukan pemeliharaan selama 28 hari;
- b) memisahkan broiler ke dalam petak-petak kandang dengan setiap petak kandang terdiri dari 5 ekor ayam yang diberi nomor perlakuan;

- c) memelihara *doc* broiler di dalam area *brooding* selama 6 hari;
- d) menghidupkan lampu penerangan mulai pukul 17.30 sampai 06.00 WIB;
- e) menimbang bobot tubuh broiler pukul 06.00 WIB dengan metode sampel disetiap petak perlakuan masing-masing untuk menentukan dosis *E. purpurea (radix)* yang akan digunakan ;
- f) memberikan sediaan *E. purpurea (radix)* pukul 07.00 WIB;
- g) memberikan ransum pada pukul 07.00, 12.00, dan 17.00;
- h) pengukuran suhu dan kelembaban kandang setiap hari pada pukul 07.00, 12.00 dan 17.00 WIB.
- i) broiler umur 6 hari diberikan vaksin *ND* melalui tetes mata dan *AI* melalui injeksi pada bagian subkutan leher dan pada umur 19 hari dilakukan revaksinasi *ND* melalui air minum.

### 3. Pengambilan sampel darah

- a) menyiapkan broiler sebanyak 1 ekor pada setiap petak percobaan pada hari ke-28;
- b) membersihkan disekitar pembuluh darah broiler menggunakan kapas yang dibasahi dengan alkohol;
- c) mengambil sampel darah broiler menggunakan *disposable syringe* 3 ml melalui *vena brachialis* sebanyak 1–2 ml dan kemudian dimasukkan ke dalam tabung EDTA dan diberi label sesuai dengan perlakuan;
- d) meletakkan tabung sampel darah ke dalam *colling box*;

- e) sampel darah dalam tabung EDTA nantinya akan dikirim ke Balai Veteriner Lampung untuk dihitung deferensial sel darah putih dan dikirim ke Laboratorium Klinik Pramitra untuk dihitung total leukosit.

#### 4. Perhitungan total leukosit

Menurut Juwita (2018) perhitungan total leukosit dilakukan dengan cara :

- a) menyalakan alat *Hemologi Analyzer Mindray BC 3600*;
- b) menekan tombol (*Analysis*) pastikan pada menu *whole blood* (tulisan berada diposisi tengah bawah) dengan warna bagian bawah biru;
- c) menekan tombol (*next sample*) untuk mengisi/ menuliskan data;
- d) mengocok sampel dengan antikoagulan hingga merata;
- e) memasukkan sampel pada probe hingga menyentuh ke dasar tabung;
- f) menekan tombol probe , sampel akan diproses dan hasil akan tampil pada layar.

#### 5. Perhitungan diferensial leukosit

Menurut Balai Veteriner (2014) perhitungan diferensial leukosit yaitu :

- a) darah dibuat preparat ulas  $\pm 2$  cm dari ujung gelas objek;
- b) preparat ulas difiksasi dengan metanol 75% selama 5 menit kemudian diangkat sampai kering udara;
- i) ulasan darah direndam dengan pewarna agrica 10% dan *phosphate buffered saline* (PBS) 90% selama 30 menit, diangkat dan dicuci dengan menggunakan air kran yang mengalir untuk menghilangkan zat warna yang berlebihan, kemudian dikeringkan dengan kertas isap;

- c) preparat ulas diletakkan dibawah mikroskop perbesaran 40.000 kali kemudian dihitung neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, dan limfosit secara zig zag dengan perbesaran 40.000 kali sampai jumlah total 100 butir leukosit.

#### **F. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan kemudian dilakukan analisis secara statistik dan deskriptif. Analisis menggunakan Anova dengan taraf signifikansi 5 %.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perlakuan pemberian *Echinacea purpurea (radix)* pada broiler jantan tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap total leukosit dan diferensial leukosit. Total leukosit, eosinofil, monosit dan limfosit berada diatas kisaran normal, sedangkan total neutrofil dan basofil berada pada kisaran normal masing-masing pada setiap perlakuan.

### B. Saran

Berdasarkan penelitian ini, penulis menyarankan untuk dapat melakukan penelitian lanjut guna mengetahui total leukosit dan diferensial leukosit setiap minggu untuk mengetahui tingkat penggunaan *Echinacea purpurea (radix)* yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akmal. 2017. Basofil, Bagian Sel Darah Putih yang Berperan dalam Reaksi Alergi. <http://www.satujam.com/basofil/>. Diakses pada 28 Oktober 2018
- Allan, W.H., J. E. Lancaster, dan B. Toth. 1978. Newcastle Disease Vaccine. Their Production and Use. Food and Agricultural Organization of The United Nations. Rone
- Anonim. 2018. Tanaman Echinacea Purpurea. <http://www.jendela.alam.com>. Diakses pada 28 Oktober 2018
- Balai Veteriner. 2014. Penuntun Teknis Pengujian Laboratorium Patologi. Balai Veteriner Lampung. Bandar Lampung
- Baratawidjaja, G.K. dan I. Rengganis. 2010. Imunologi Dasar. Balai Penerbit FKUI. Jakarta
- Bartram, T. 1995. Encyclopedia of Herbal Medicine. Grace Publishers. Dorset. England
- Bauer, R., M. Netsch, dan M. H. Kreuter. 2015. *Echinacea Purpurea*. R & D Departmen Phytopharm and Phytochem Products. Flachsmann A. G. Zurich
- Bikrisirna, S. H. L., L. D. Mah fudz, dan N. Suthama. 2013. Ketahanan tubuh ayam broiler pada kondisi tropis yang diberi jambu biji merah (*Psidium guajava*) sebagai sumber antioksidan. J. Agromedia. 31:46—57
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2005. Jawetz, Melnick and Adelbergs, Mikrobiologi Kedokteran. Alih bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, E. B. Wasito, N. M. Mertaniasih, S. Harsono, dan Alimsarjono L. Salemba Medika. Jakarta. 317—325, 358—360
- Burger, R., A. Torres, R. Warren, V. Caldwell, dan B. Hughes. 1997. Echinacea-induced cytokine production by human macrophages. Int. J. Immunopharmacol. 19:371—379
- Cahyaningsih, U., H. Malichatin dan Y. E. Hedianto. 2007. Diferensial leukosit pada ayam setelah diinfeksi *Eimeria tenella* dan pemberian serbuk kunyit (*Curcuma domestica*) dosis bertingkat. J. Seminar Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor. 593—599

- Campbell, N. A. 2004. Biologi. Edisi Kelima Jilid 3. Alih bahasa oleh Manalu, W. Erlangga. Jakarta
- Campbell, W.B. 1991. Lipid-Derived Autacoids : Eicosanoids and Platelet-Activating Factor. dalam: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Ed 8. Pergamon Press. New York. 1:600—602, 605—606, 611
- Carlo, Di G., L. Nuzzo, R. Capazzo, M. R. Sanges, E. Galdiero, F. Capasso, dan C. R. Carratelli. 2003. Modulations of apoptosis in mice treated with Echinacea and St. John's Wort. J. Pharmacol Res. 48:273—277
- Chastain, C. B. dan V. K. Ganjam. 1986. Clinical Endocrinology of Companion Animals. Lea and Febiger. Philadelphia
- Dellman, H. D. dan E. M. Brown. 1992. Buku Teks Histologi Veteriner. Edisi 3. Alih bahasa oleh Hartono. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Dharmawan, N. S. 2002. Pengantar Patologi Klinik Veteriner. Pelawa Sari. Denpasar
- Effendi, Z. 2003. Peranan Leukosit sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh Bagian Histologi. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara
- Falahudin, I., E. R. Pane, dan Sugiati. 2016. Efektivitas larutan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza roxb.*) terhadap peningkatan jumlah leukosit ayam broiler (*Gallus-gallus domestica Sp.*). J. Biota. 1:68—74
- Fradson, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi 4. Alih bahasa oleh Srigandono, B. dan K. Praseno. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Ganong, W. F. 1996. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 20. Alih bahasa oleh Adrianto, P. EGC. Jakarta
- Goel, V., C. Chang, J. V. Slama, R. Barton, R. Bauer, R. Gahler, dan T. K. Basu. 2002. Alkylimides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. Int. J. of Immunopharmacology. 2:381—387
- Guyton, A. C, dan J. E. Hall. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Alih bahasa oleh Setiawan, I., K. A. Tengadi, dan A. Santoso. EGC. Jakarta
- \_\_\_\_\_. 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Alih bahasa oleh Setiawan, I., K. A. Tengadi, dan A. Santoso. EGC. Jakarta
- Guyton, A. C. 1995. Fisiologi Kedokteran dan Mekanisme Penyakit. Alih bahasa oleh Setiawan, I., K. A. Tengadi, dan A. Santoso. EGC. Jakarta

- Hodges, R. D. 1977. Normal Avian Haematology. Comparative Clinical Haematology. Jakarta
- Jackson, M. L. 2007. Veterinary Clinical Pathology. Blackwell Publishing. Iowa
- Jain, N. C. 1993. Essential of Veterinary Hematology. Lea and Febiger. Philadelphia
- Joklik, W. K., H. P. Willett, D. B Amos, dan C. M. Wilfert. 1992. Zinsser Microbiology. 20th. Appleton and Lange. California. 401—413
- Junguera, L. C. 1977. Basic Histology. Edisi 8. McGraw-Hill. New York
- Juwita. 2019. Prosedur Operasi Standar Penggunaan Alat Mindray BC-3600. Laboratorium Klinik Pramitra Biolab Indonesia. Bandar Lampung
- Karasawa, K., U. Yuji, H. Mitsuru, dan O. Hajime. 2011. A matured fruit extract of date palm tree (*Phoenix dactylifera L.*) stimulates the cellular immune system in mice. J. Agric. Food Chem. 59:11287—11293
- Kelly, W. R. 1984. Veterinary Clinical Diagnosis. Edisi 3. Bailliere Tindall. London
- Kresno, S. B. 2001. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi Ketiga. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 437
- Kumar, K. H., dan S. Ramaiah. 2011. Pharmacological importance of Echinacea purpurea. Int. J. of Pharma and Bio. Sci. 2:307—309
- Lee, J. dan C. F Scagel. 2009. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum l.*) leaves. J. of Food Chem. 115:650—656
- Lestari, S. H. A., Ismoyowati, dan M. Indradji. 2013. Kajian jumlah leukosit dan diferensial leukosit pada berbagai jenis itik lokal betina yang pakannya di suplementasi probiotik. J. Ilmiah Pet. 1:699—709
- Lohmann. 2004. Manual Guide Loghman Layer. Japfa Comfeed Indonesia Tbk. Jakarta
- Lokaspirnasari, W. R dan A. B. Yulianto. 2014. Gambaran sel eosinofil, monosit, dan basofil setelah pemberian spirulina pada ayam yang diinfeksi virus flu burung. J. Vet. 15:499—505
- Melvin, J. S dan O. R. William. 1993. Duke's Physiology of Domestic Animal. Edisi 13. Wiley-Blackwell. 11—14
- Meyer, D. J., E. H. Coles, dan L. J. Rich. 1992. Veterinary Laboratory Interpretation and Diagnosis. W. B. Saunders Company. Philadelphia

- Mishima, S., K. Saito, H. Maruyama, M. Inoue, T. Yamashita, dan Ishida T. 2004. Antioxidant and immuno-enhancing effects of *Echinacea purpurea*. *Biol. Pharm. Bull.* 27:1004—1009
- Moyes, C. D. dan P. M. Schulte. 2008. *Principles of Animal Physiology*. 2 Ed. Perason International Edition. New York
- Murtidjo, B. A. 2003. *Pedoman Beternak Ayam Broiler*. Kanisius. Yogyakarta
- Nordenson, N. J. 2002. *White Blood Cell Count and Differential*  
[http://www.Lifesteps.com/gm.Atoz/ency/white blood cell count and diffe rentil](http://www.Lifesteps.com/gm.Atoz/ency/white%20blood%20cell%20count%20and%20diffe%20rentil). Diakses pada 28 Oktober 2018
- Nurhadi, A dan I. G. Sudana. 1988. *Buku Spesimen Veteriner*. Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Peternakan. Jakarta
- Prescott, H. K. dan M. P. Langsing. 1999. *Microbiology*. 4th ed. WBC, MC The Graw–Hill Companies. Inc. 771
- Price, S. A., W. L. Mccarty, dan D. Aji. 1985. *Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit*. EGC. Jakarta
- Rahardjo. 2000. *Penyakit Gagal Ginjal Kronik*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi III. BPFKUI. Jakarta
- Rahardjo, A. H. D. dan B. S. Santoso. 2005. Kajian terhadap kualitas karkas broiler yang disimpan pada suhu kamar setelah perlakuan pengukusan. *J. of Ani. Prod.* 7:1—5
- Rahmani, A., M. Alzohairy, H. Khadri A. K. Mandal, dan M. A. Rizvi. 2012. Expressional evaluation of vascular endothelial growth factor (VEGF) protein in urinary bladder carcinoma patients exposed to cigarette smoke. *Int. J. of Clin. and Exp. Path.* 5:195—202
- Rasyaf, M. 2006. *Beternak Ayam Pedaging*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Roitt, I. M. 1990. *Immunology*. Second Edition. Gower Medical Publ. London
- Romano, M. dan J. Claria. 2003. Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase converging functions on cell proliferation and tumor angiogenesis: implications for cancer therapy. *J. FASEB.* 17:1986—1995
- Rose, S. P. 2001. *Principles of Poultry Science*. CAB International Cornell University Press. London
- Samuelson, D. A. 2007. *Text Book of Veterinary Histologi*. Universitas Indonesia Press. Jakarta

- Saputro, B., P. E. Santoso dan T. Kurtini. 2014. Pengaruh cara pemberian vaksin ND live pada broiler terhadap titer antibodi, jumlah sel darah merah dan sel darah putih. *JIPT*. 3:43—48
- Sasmito, E. 2017. *Imunomodulator Bahan Alami*. Rapha Publishing. Yogyakarta
- Schumacher, R., M. A. Soos, J. Schlessingerll, D. Brandenburgn, K. Siddlep, dan A. Ullrich. 1991. Signaling competent receptor chimeras allow mapping of major insulin receptor binding domain determinants. *The J. of Rlological Chem.* 2: 1087-1090
- Setha, B. V. 2015. Efek Imunomodulator Ekstrak Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Terhadap Total dan Hitung Jenis Leukosit Mencit (*Mus Musculus*) yang Terpapar Stres Panas. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya
- Sinurat, A.P., T. Purwadaria, T. Pasaribu, P. Ketaren, H. Hamid, Emmi, E. Fredrick, Udjianto, dan Haryono. 2009. *Proses Pengolahan Bungkil Inti Sawit dan Evaluasi Biologis pada Ayam*. Laporan Penelitian. Balai Penelitian Ternak. Bogor
- Soeharsono, L. A., E. Hernawan, K. A. Kamil, dan A. Mushawwir. 2010. *Fisiologis Ternak Fenomena dan Nomena Dasar, Fungsi dan Interaksi Organ pada Hewan*. Widya Padjajaran. Bandung
- Subositi, D. 2011. *Standarisasi Tanaman Echinacea Purpurea (L.) Moencq untuk Bahan Baku Imunomodulator*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Jawa Tengah
- Subowo. 1993. *Imunobiologi*. Penerbit Angkasa. Bandung
- Sugiharto, S. 2014. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 1—13
- Suhirman, S. dan C. Winarti. 2005. Prospek dan fungsi tanaman obat sebagai imunomodulator. *Jurnal Ilmiah Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*. USU Digital Library. Sumatera Utara
- Summer, D. J. dan S. Lesson. 2000. *3rd Edition of Commercial Poultry Nutrition*. Context Products. Canada
- Suriansyah, S., Pratikto, A. Suprpto dan Y. S. Irawan. 2016. The effect cryogenic cooling, martemper and temper of micro structure and hardness ductile cast iron. *fcd-45. International J. of Applied Engineering Research.* 10:19389—19400
- Susilo, A. W. dan I. A. Sari. 2013. Investigation of different characters of stomata on three cocoa clones with resistance level difference to VSD (vascular streak dieback) disease. *J. of Agric. Sci. and Tech.* 30:181—189

- Tizard, I. R. 1982. Pengantar Imunologi Veteriner. Edisi 2. Airlangga University Press. Surabaya
- \_\_\_\_\_. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Airlangga University Press. Surabaya
- \_\_\_\_\_. 2000. Veterinary Immunology and Introduction. Saunders. USA
- Tjay, T. H, dan K. Rahardja. 2007. Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya. Edisi Keenam. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 262, 269—271
- Tyler, V. E. 1993. The Honest Herbal. Pharmaceutical Products Press. New York. 233
- Ukhrowi, U. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) Terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida (NO) Makrofag Studi pada Mencit BALB/C yang Diinfeksi *Salmonella Typhimurium*. Diponegoro University. Semarang
- Werz, O., E. Burkert, L. Fischer, D. Szellas, D. Dishart, B. Samuelsson, O. Radmark, dan D. Steinhilber. 2002. Extracellular signalregulated kinases phosphorylate 5-lipoxygenase and stimulate 5-lipoxygenase product formation in leukocytes. J. FASEB. 16:1441—1443
- Wiranata, G. A., I G. A. M. K. Dewi, dan R. R. Indrawati. 2013. Pengaruh energi metabolisme protein ransum terhadap presentase karkas dan organ dalam ayam kampung. Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Denpasar. 1:87—100
- Wulandari, S., E. Kusumanti dan Isroli. 2014. Jumlah total leukosit dan diferensial leukosit ayam broiler setelah penambahan papain kasar dalam ransum. Ani. Agric. J. 3:517—522
- Yalcinkya, I., T. Gungor, M. Basmalah, dan E. Erdem. 2008. *Mannan oligosaccharides* (MOS) from *Saccharomyces cerevisiae* in broilers effects on performance an bloog chemistry. Turk. J. Vet. Ani. Sci. 12:38—46
- Yuniwanti, E. Y. W. 2015. Profil darah ayam broiler setelah vaksinasi AI dan pemberian berbagai kadar VCO. Buletin Anatomi dan Fisiologi. 1:36—48
- Yuwanta, T. 2004. Dasar Ternak Unggas. Fakultas Peternakan. Kanisius. Yogyakarta