

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen dengan pendekatan kuantitatif sebagai metode dalam proses pengumpulan dan analisis data. Penelitian eksperimen merupakan suatu pendekatan sistematis yang digunakan untuk menguji validitas hipotesis dengan cara melakukan perubahan atau modifikasi terhadap variabel input (variabel independen) dalam suatu sistem, sehingga dapat diamati dampaknya atau variabel output yang menjadi fokus kajian (Aliviameata & Puspitasari, 2020). Melalui pendekatan ini, diamati perubahan yang terjadi akibat pemberian perlakuan tertentu dan mengidentifikasi hubungan sebab-akibat secara objektif.

Pada kerangka metode kuantitatif, jenis penelitian ini dirancang dengan tujuan untuk mengevaluasi sejauh mana suatu variabel bebas mampu memengaruhi variabel terikat, yang dilakukan dengan cara memberikan perlakuan yang bervariasi pada kelompok objek penelitian dalam lingkungan yang terkendali. Metode ini memungkinkan peneliti untuk melakukan pengukuran secara sistematis dan terstruktur, dengan tujuan untuk menguji hipotesis yang telah dirumuskan melalui analisis data statistik (Darwin *et al.*, 2021). Pada kelompok eksperimen, data hasil perlakuan dari subjek atau variabel yang diteliti (variabel terikat) akan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mendapat perlakuan. Perbandingan hasil antara kedua kelompok ini yang nantinya menjadi dasar dalam menarik kesimpulan mengenai pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati.

#### **3.2 Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang dipilih karena kondisi penelitian dimana perlakuan yang digunakan memiliki karakteristik yang relatif seragam atau homogen. Dalam rancangan penelitian, membagi ayam broiler secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan yang berbeda. Pembagian tersebut meliputi satu kelompok kontrol negatif (tidak diberi perlakuan), satu kelompok kontrol positif (diberi perlakuan standar), serta tiga kelompok lainnya yang masing-masing diberikan perlakuan dengan konsentrasi

bahan yang berbeda. Seluruh kelompok perlakuan tersebut diberikan secara konsisten selama 30 hari periode penelitian. Untuk memastikan validitas data dan akurasi analisis statistik, Jumlah ulangan pada setiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus yang dikembangkan oleh Federer (1963) dengan formulasi sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

**Keterangan:**

t = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan.

Berdasarkan hasil hitung kebutuhan jumlah pengulangan menggunakan rumus Federer, ditentukan bahwa setiap kelompok perlakuan perlu adanya pengulangan sebanyak lima kali, sehingga total sampel ayam broiler yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 25 ekor (Tabel 3.1). Pelaksanaan penelitian ini, sampel yang digunakan adalah ayam broiler yang secara sengaja diberi perlakuan berupa pemberian air minum yang telah ditambahkan bahan aditif alami, yaitu ekstrak air jahe emprit pada tiga tingkat konsentrasi berbeda, yaitu 5%, 10%, dan 15%. Parameter yang diamati dalam penelitian mencakup aspek pertumbuhan ayam broiler, meliputi bobot mutlak, laju pertumbuhan, konsumsi pakan dan minum, serta parameter hematologi, meliputi jumlah eritrosit, hematokrit, leukosit, dan rasio H/L.

Tabel 3.1 Randomisasi DOC Ayam Broiler

T15%-1	T10%-15	T5%-4	T5%-25	T5%-11
T15%-7	TN-9	TP-8	TP-24	TN-3
TN-10	T10%-12	T15%-16	TN-23	TP-14
T5%-2	T10%-6	TP-18	TP-19	T15%-17
T10%-5	T10%-20	TN-21	T15%-13	T5%-22

**Keterangan:**

TP = Kontrol Positif (*vitachick* dalam air minum ayam)

TN = Kontrol Negatif (air minum tanpa tambahan apapun)

T5% = 5% ekstrak air jahe emprit dalam air minum ayam

T10% = 10% ekstrak air jahe emprit dalam air minum ayam

T15% = 15% ekstrak air jahe emprit dalam air minum ayam

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian yang digunakan adalah ayam broiler (*Gallus gallus domesticus*) strain Ross pada fase awal kehidupan atau *Daily Old Chicken* (DOC), sebanyak 25 ekor ayam broiler yang digunakan diperoleh dari salah satu peternakan ayam di Bandung. Sampel yang digunakan yaitu ekstrak air jahe emprit dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 5%, 10%, dan 15% yang ditambahkan ke dalam air minum.

### 3.4 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan selama tiga bulan dimulai pada bulan Desember 2024 hingga bulan Maret 2025. Pada bulan Desember, dilakukan persiapan alat dan bahan yang diperlukan untuk penelitian. Pemeliharaan ayam akan berlangsung selama 30 hari dimulai pada bulan Januari 2025 dan berlanjut hingga Februari 2025. Pada tahap persiapan sampai pada tahap pemeliharaan ayam broiler akan dilaksanakan di Peternakan Ayam Broiler Paranje, yang berlokasi di Cijanggal, Desa Kertawangi, Kecamatan Cisarua, Bandung Barat (Gambar 3.1) Pengambilan data hematologi akan dilaksanakan di Laboratorium Struktur Hewan, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FPMIPA), Universitas Pendidikan Indonesia. Pengujian antioksidan sampel ekstrak air jahe dilaksanakan di Laboratorium Cendikia Nanotech Utama, Semarang.



Gambar 3.1 Peternakan Ayam Broiler Paranje  
(Dok. Pribadi, 2025).

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pengajuan Surat Pembebasan Etik (*Ethical Exemption*)

Surat pembebasan etik adalah surat keterangan etik sebagai syarat dalam penelitian yang menggunakan hewan uji, didapatkan dari komite etik penelitian Universitas Pendidikan Indonesia (Lampiran 1).

#### 3.5.2 Persiapan Penelitian

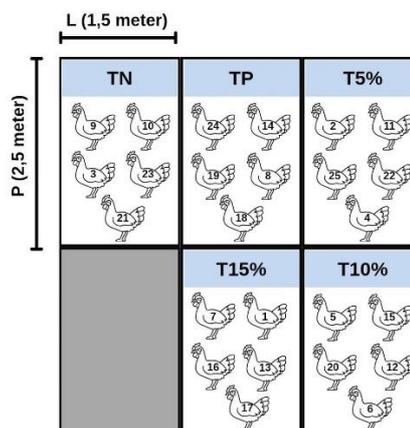
Penelitian ini diawali dengan serangkaian tahapan persiapan yang bertujuan untuk menunjang kelancaran pelaksanaan penelitian. Adapun tahapan persiapan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

##### a. Persiapan Alat dan Bahan

Sebelum diberikan perlakuan pada hewan uji, 25 DOC dilakukan penimbangan bobot badan untuk mendapatkan berat rata-rata. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian, berupa alat-alat yang dibutuhkan untuk manajemen pemeliharaan di Kandang Paranje, alat dan bahan penunjang pengujian hematologi, serta penunjang pengujian fitokomia maupun antioksidan yang dipinjam dari Laboratorium Riset Bioteknologi dan Laboratorium Struktur Hewan, Program Studi Biologi FPMIPA UPI. Daftar alat bahan yang digunakan terlampir pada Lampiran 3.

##### b. Persiapan Pembuatan Kandang Pemeliharaan Ayam

Kandang broiler yang digunakan adalah lima petak kandang dengan ukuran masing-masing petak, yaitu P (2 meter) x L (1,5 meter), dimana masing-masing petak kandang diisi dengan lima ekor ayam broiler (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 Penempatan Ayam pada Setiap Kandang (Dok.Pribadi, 2025).

Kandang yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang dengan sistem tertutup (*Close house*). Pemeliharaan ayam broiler umumnya menggunakan kandang alas litter dari serbuk kayu. Penggunaan tipe kandang ini bertujuan untuk memberikan lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan ayam broiler, sehingga pemeliharaan ayam broiler terjaga dari kondisi fisik, cuaca, maupun serangan penyakit. Kandang disanitasi terlebih dahulu dengan menggunakan desinfektan, begitupun semua peralatan kandang dibersihkan.

### c. Pembuatan *Feed Additive*

Rimpang jahe emprit yang digunakan adalah rimpang yang sudah tua. Proses pembuatan ekstrak air jahe emprit dimodifikasi dari penelitian oleh Lestari *et al.*, (2020), diawali dengan rimpang jahe emprit terlebih dahulu dibersihkan dengan air mengalir, dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran, mikroorganisme, dan residu yang mungkin menempel pada permukaan rimpang. Jahe emprit yang sudah bersih kemudian dikupas dari kulitnya, ditiriskan dengan cara diangin-anginkan. Jahe yang telah bersih ditimbang, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu sekitar 40° C selama 5 jam hingga kadar air jahe berkurang. Simplisia yang sudah kering, disortasi untuk memisahkan bagian-bagian yang tidak dapat dibersihkan pada saat sortasi sebelumnya. Setelah disortir, dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Ditimbang serbuk jahe sebanyak 50 gram, dimasukkan ke dalam gelas *beaker* dan ditambahkan air 500 mL (perbandingan 1:10). Ekstrak jahe dibuat dengan pelarut air dan dipanaskan pada *waterbath* bersuhu 70°C.

### d. Pemberian Pakan dan Air Minum selama Perlakuan

Pemberian perlakuan dilakukan dengan cara penambahan ekstrak air jahe emprit pada air minum dengan masing-masing konsentrasi perlakuan. Sedangkan, untuk kontrol positif (TP) berupa air minum dengan penambahan *vitamin chicken* dan kontrol negatif (TN) tanpa perlakuan apapun. Adapun dosis pemberian *vitamin chicken* dapat dilihat pada Tabel 3.2

Tabel 3.2 Dosis Pemberian Vitamin Chicken untuk Ayam Broiler

Umur	Dosis <i>Vitamin chicken</i> (gram/L/ekor)
0 – 2 minggu	0,714 gram dalam 1 liter air minum
3 – 4 minggu	0,417 gram dalam 1 liter air minum

Pemberian air minum diberikan secara *adlibitum*, dengan pola 3 hari pemberian perlakuan pada air minum dan 2 hari tidak diberikan perlakuan pada air minum berdasarkan asumsi dari penelitian Ayomi (2015) bahwa konsumsi tanaman herbal sebagai *feed additive* secara terus menerus dapat berdampak negatif pada absorpsi nutrisi dalam saluran pencernaan. Jeda waktu pemberian perlakuan pada air minum ditujukan untuk memberikan kesempatan kepada fungsi fisiologis ayam untuk memanfaatkan ekstrak air jahe emprit dan *vitachick* secara maksimal (Hartini *et al.*, 2023). Setiap hari sisa air minum diukur untuk memantau konsumsi air minum harian ayam.

Pemberian pakan dilakukan setiap hari dengan jenis pakan *starter* dan *finisher*. Pakan *starter* berupa pakan komersil yang diproduksi dari PT. Sinar Indochem, yang terbagi menjadi tiga jenis, yaitu B150 (berbentuk *mash*) diberikan pada ayam umur 0–21 hari, sedangkan pakan B152 (berbentuk *crumble*) dan B153 (berbentuk *pellet*) untuk fase *finisher* diberikan pada ayam umur 22–30 hari. Bahan pakan yang digunakan terdiri dari beberapa komponen yang mengandung berbagai macam nutrisi. Adapun, secara lengkap kandungan nutrisi pada pakan disajikan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Kandungan Nutrisi Pakan Ayam

Nutrisi	Kandungan (%)
Protein Kasar	Min. 22
Serat Kasar	Maks. 4
Lemak Kasar	Min. 5
Kadar Air	Maks. 14
Abu	Maks. 8
Kalsium (Ca)	0,8 – 1,10
Fosfor (P)	Min. 0,50
Lisin	Min. 1,30
Metionin	Min. 0,50
Metionin + Sistin	Min. 0,90
Treonin	Min. 0,80
Triptofan	Min. 0,20

Sumber: Label Pakan PT. Sinar Indochem.

Setiap hari, pakan sisa ditimbang untuk memantau konsumsi pakan harian ayam. Pada Tabel 3.4 menyajikan jumlah kebutuhan pakan yang dikonsumsi satu ekor ayam per satu hari, sesuai dengan fase pertumbuhannya setiap minggu.

Tabel 3.4 Jumlah Kebutuhan Pakan Ayam

Umur	Kebutuhan pakan (g/ekor)
Minggu ke-1	17
Minggu ke-2	43
Minggu ke-3	66
Minggu ke-4	91

Sumber: Alzari & Kamil, (2022)

#### e. Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada penelitian dilakukan untuk mendeteksi keberadaan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada sampel ekstrak air jahe emprit (Tabel 3.5). Merujuk pada penelitian Lestari *et al.*, (2020) uji fitokimia yang dilakukan meliputi di antaranya:

##### 1). Uji alkaloid

Sebanyak 5 ml ekstrak ditambahkan dengan 5 ml HCl 1% lalu diaduk dan disaring. Diambil 1 ml filtrat hasil penyaringan kemudian ditambahkan dengan 1 tetes pereaksi dragendorf. Warna biru kehitaman menunjukkan adanya alkaloid.

##### 2). Uji Flavonoid

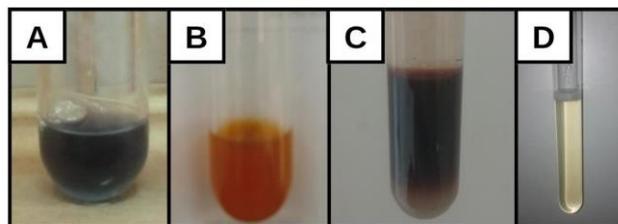
Sebanyak 0,5 mL ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol 70% kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium dan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavon, dan merah padam hingga keunguan dapat disimpulkan bahwa mengandung flavonoid.

##### 3). Uji Terpenoid

Sebanyak 1 ml sampel ekstrak jahe emprit ditambahkan 2 mL kloroform dan 3 mL H<sub>2</sub>S<sub>0</sub>4. Uji terpenoid menunjukkan hasil positif jika terbentuk cincin merah kecoklatan pada tabung.

##### 4). Uji Saponin

Ekstrak jahe emprit sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 10 mL akuades, kemudian dikocok dengan kuat. Setelah didiamkan selama 15 menit, terbentuk busa stabil yang menandakan keberadaan saponin dalam ekstrak tersebut.



**Keterangan:** Keberadaan senyawa alkaloid (A), senyawa flavonoid (B), senyawa terpenoid (C), dan senyawa saponin (D).

Gambar 3.3 Uji Fitokimia Sampel Jahe Emprit Segar (Dok.Pribadi, 2025).

Pengujian fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel segar jahe emprit antara lain: senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin (Gambar 3.3).

Tabel 3.5 Hasil Uji Fitokimia

Perlakuan	Senyawa Metabolit			
	Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Saponin
T1 (Ekstrak air jahe emprit 5%)	+	+	++	+
T2 (Ekstrak air jahe emprit 10%)	++	++	+++	++
T3 (Ekstrak air jahe emprit 15%)	+++	+++	+++	++

**Keterangan:** (+++) = kuat; (++) = sedang; (+) = lemah.

#### f. Uji Antioksidan *Radical Scavenging Activity* (RSA)

Uji Antioksidan ekstrak air jahe emprit pada penelitian, dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Pengujian Antioksidan menggunakan beberapa alat di antaranya neraca analitik (spesifikasi NADE FA2104), mikropipet, pipet ukur 1 mL, tabung reaksi, dan spektrofotometer dengan tipe *Go Direct SpectroVis Plus Vernier*. Adapun bahan-bahan yang digunakan antara lain: etanol 96%, DPPH, dan larutan akuades. Prosedur kerja dari pengujian antioksidan, dimulai dari sampel ekstrak jahe sebanyak 0,2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan pelarut etanol sebanyak 9,8 mL sampai tanda tera, hingga didapatkan larutan stok. Setelah itu, sebanyak 0,6 mL larutan stok diambil menggunakan mikropipet ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 3 mL larutan DPPH 0,05 mM ditambahkan, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit di tempat gelap. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 513 nm. Aktivitas antioksidan dari sampel dihitung berdasarkan kemampuan ekstrak dalam menghambat

penyerapan radikal bebas DPPH (Tabel 3.6), yang dinyatakan dalam bentuk persentase inhibisi, menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Serapan kontrol} - \text{Serapan sampel}}{\text{Serapan kontrol}} \times 100\%$$

Tabel 3.6 Hasil Uji antioksidan

Sampel	Absorban Blanko	Absorban Sampel	% Inhibisi
T1 (Ekstrak air jahe emprit 5%)	0,522	0,297	43,10
T2 (Ekstrak air jahe emprit 10%)	0,522	0,194	62,83
T3 (Ekstrak air jahe emprit 15%)	0,522	0,182	65,13

### 3.6 Teknik Pengumpulan Data

#### a. Pengukuran Pertumbuhan Ayam Broiler

Pengukuran pertumbuhan ayam broiler meliputi, pengukuran bobot badan serta laju pertumbuhan relatif. Pengukuran dilakukan dalam dua tahap, yaitu sebelum perlakuan diberikan dan setelah perlakuan selesai, dengan tujuan untuk mengetahui adanya perubahan pertumbuhan yang terjadi akibat perlakuan tersebut. Penentuan bobot badan ayam mengacu pada metode yang dikemukakan oleh Everhart *et al.* (1975), dengan rumus sebagai berikut:

$$H = W1 - W0$$

#### Keterangan :

W1 = Bobot total pada akhir pemeliharaan (gram)

W0 = Bobot total pada awal pemeliharaan (gram)

H = Pertumbuhan bobot mutlak (gram).

Adapun laju pertumbuhan relatif ayam dihitung menggunakan rumus *Specific Growth Rate* oleh Hariati (1989), dengan rumus sebagai berikut:

$$SGR = \frac{Wt - W0}{W0 \times t} \times 100\%$$

#### Keterangan :

SGR = Pertumbuhan bobot relatif / laju pertumbuhan relatif (%)

Wt = Bobot rata-rata ayam pada akhir penelitian (cm)

W0 = Bobot awal ayam pada awal penelitian (cm)

t = Waktu pemeliharaan (hari)

### b. Pengukuran Konsumsi Pakan dan Minum Ayam Broiler

Konsumsi pakan diperoleh dari selisih antara jumlah pemberian pakan selama satu hari dengan pakan yang tersisa, dinyatakan dalam g/ekor/hari. Adapun rumus untuk konsumsi pakan harian menurut Rasyaf (2008) sebagai berikut.

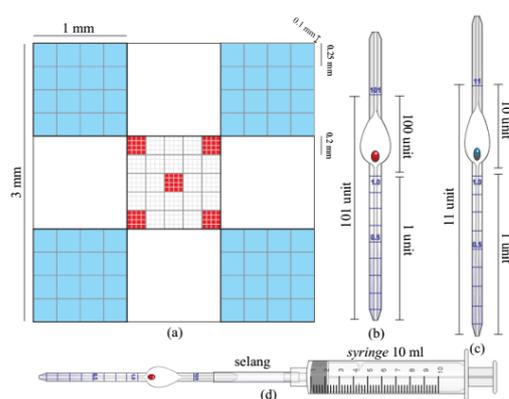
$$\text{Konsumsi pakan harian} = \text{Pakan yang diberikan (g)} - \text{Pakan sisa (g)}$$

Adapula konsumsi minum diperoleh dari selisih antara jumlah pemberian minum selama satu hari dengan air minum yang tersisa, dinyatakan dalam mL/ekor/hari. Rumus untuk konsumsi minum sebagai berikut:

$$\text{Konsumsi minum harian} = \text{air minum yang diberikan (mL)} - \text{sisa air minum (mL)}$$

### c. Pemeriksaan Hematologi Ayam Broiler

Mengetahui pemberian perlakuan terhadap kondisi kekebalan tubuh ayam broiler, dilakukan analisis profil darah sebagai bagian dari uji hematologi. Proses ini diawali dengan pengambilan sampel darah dari setiap individu ayam yang menjadi subjek penelitian. Pengambilan darah ayam dilakukan sebanyak dua kali, yaitu sebelum perlakuan diberikan dan setelah pemberian perlakuan selesai dilakukan. Sampel darah ayam diambil menggunakan teknik *venipuncture* (pengambilan darah vena). Darah ayam diambil dari *vena brachialis* yang berada di bawah sayap menggunakan *syringe* sebanyak 1 ml. Darah disimpan dalam tabung *vacutainer* yang telah berisi antikoagulan agar darah tidak cepat mengental dan rusak, kemudian dimasukkan ke dalam kotak es (*cool box*). Sampel darah yang didapat kemudian dilakukan uji hematologi, yakni: jumlah eritrosit, hematokrit, jumlah leukosit, dan rasio H/L.



Gambar 3.4 Kamar Hitung Neubauer

(Hendrian *et al.*, 2020)

Perhitungan jumlah eritrosit dan leukosit pada sampel darah ayam dilakukan menggunakan alat hematologi manual berupa *haemocytometer*, dengan tipe *Improved Neubauer*. Alat ini terdiri dari kaca objek khusus dengan ruang hitung yang memiliki grid mikroskopis yang telah terkalibrasi. Selain itu, digunakan pipit pengisap dan pengencer *thoma* (Gambar 3.4). Terdapat dua jenis pipet thoma, yaitu yang berskala 101 untuk pengukuran jumlah eritrosit, dan pipet thoma berskala 11 untuk mengukur jumlah leukosit.

Tahapan pengukuran jumlah eritrosit ini, diawali dengan pengambilan darah dari tabung *vacutainer* dengan menggunakan pipet *thoma* eritrosit hingga skala 0,5 yang kemudian ditambahi dengan larutan hayem hingga pada skala 101 dan dihomogenkan dengan cara digoyangkan selama 2-5 menit. Setelah homogen, dilanjutkan dengan penuangan cairan darah pada pipet thoma ke dalam preparat *neubauer* pada lima kamar hitung yang kecil. Penghitungan jumlah eritrosit dilakukan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40 kali. Formula hitung eritrosit menurut Muhamad *et al.* (2020), sebagai berikut:

$$\sum \text{eritrosit (10}^6\text{/mm}^3\text{)} = \text{jumlah eritrosit terhitung} \times 10.000$$

Pengukuran jumlah leukosit hampir sama dengan tahapan pada pengukuran jumlah eritrosit. Prosedur awal yakni dengan mengambil darah menggunakan pipet thoma khusus leukosit hingga skala 0,5 dan ditambahkan larutan hayem hingga skala 11, kemudian dihomogenkan. Setelah homogen, perhitungan jumlah leukosit menurut Jumadin & Samai (2020) dilakukan pada preparat *neubauer* pada empat bidang kamar hitung dengan formulasi hitung sebagai berikut:

$$\sum \text{leukosit} = \text{jumlah eritrosit terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}$$

**Keterangan:** 50 = faktor pengenceran

Proses penentuan jumlah heterofil dan limfosit dilakuakn melalui teknis analisis mikroskopis menggunakan preparat apus darah (*blood smear*). Pengujian ini dilakukan selama dua kali, yaitu awal sebelum perlakuan dan akhir setelah perlakuan. Pembuatan preparat apus darah, dimulai dengan meneteskan sejumlah kecil darah pada ujung *object glass*, dibuat apusan tipis dengan arah seragam agar sel tersebar merata. Setelah itu, difiksasi dengan metanol untuk mempertahankan

struktur sel, kemudian preparat diwarnai dengan giemsa untuk membedakan jenis sel berdasarkan morfologi dan afinitas warnanya. Setelah pewarnaan selesai, preparat dicuci dengan air bersih, dikeringkan kembali pada suhu ruang, dan siap untuk diamati di bawah mikroskop untuk dihitung perbandingan heterofil dan limfosit yang didapat (Bain *et al.*, 2005). Penentuan rasio heterofil/ limfosit didapat dengan membagi jumlah heterofil dengan jumlah limfosit (Koen Praseno *et al.*, 2013).

$$\text{Rasio (H/L)} = \frac{\text{Jumlah Heterofil}}{\text{Jumlah Limfosit}}$$

Pengukuran nilai hematokrit memiliki prinsip, bahwa darah yang telah bercampur dengan antikoagulan akan mengalami pemisahan komponen-komponennya saat diputar menggunakan alat sentrifugasi (*centrifuge*), sehingga terbentuk lapisan-lapisan berdasarkan densitasnya. Lapisan yang terdiri atas butir-butir eritrosit, akan mengendap dan membentuk lapisan paling bawah. Langkah awal dalam pengukuran nilai hematokrit ini, diawali dengan pengambilan sampel darah pada tabung *vacutainer* yang kemudian dimasukkan ke dalam pipa mikrokapiler hematokrit sebanyak kurang lebih 4/5 bagian, sementara ujung dari pipa mikrokapiler ditutup dengan bahan lilin atau malam agar darah dalam mikrokapiler hematokrit tidak keluar saat sentrifugasi. Dilanjutkan dengan sentrifugasi darah yang ada pada tabung kapiler hematokrit selama 5 menit pada kecepatan 12.000 rpm. Kemudian panjang endapan eritrosit pada mikrokapiler diukur menggunakan mistar/penggaris untuk dihitung volume persentasenya. Formulasi persentase hematokrit dihitung menggunakan rumus yang dikembangkan oleh Anderson & Siwicki (1995), yaitu sebagai berikut:

$$\text{Hematokrit} = \frac{\text{Panjang endapan eritrosit pada pipa kapiler}}{\text{Panjang total}} \times 100\%$$

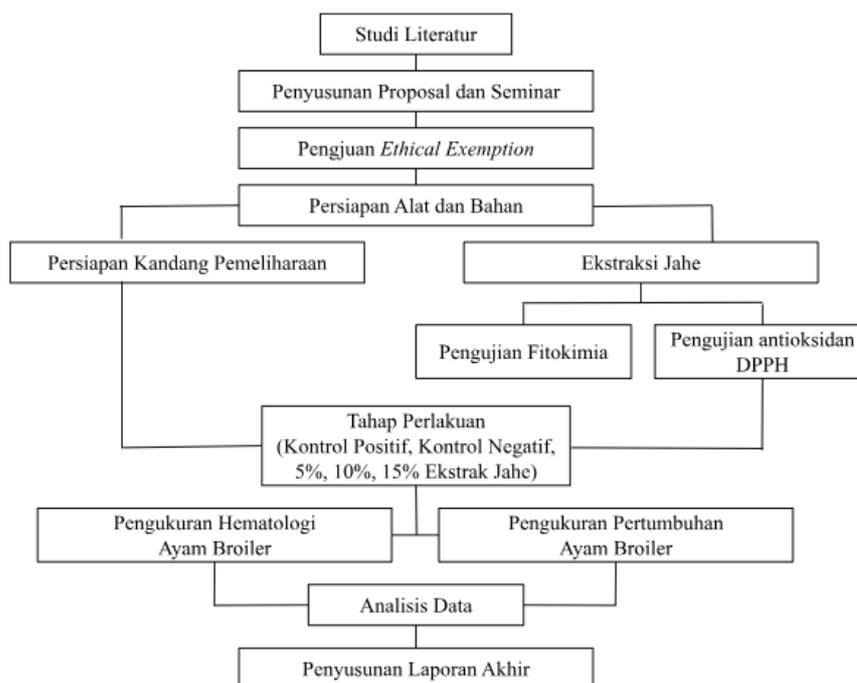
### 3.7 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini mencakup pengukuran parameter pertumbuhan ayam broiler yang terdiri dari bobot tubuh, laju pertumbuhan relatif, konsumsi pakan dan konsumsi minum, serta pengukuran parameter hematologi

ayam yang terdiri dari jumlah eritrosit, persentase hematokrit, jumlah leukosit, dan rasio H/L. Seluruh data dianalisis secara statistika menggunakan *software* IBM SPSS versi 22 untuk melihat respon yang paling signifikan dari pemberian perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan dan hematologi ayam broiler.

Analisis awal dimulai dengan uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Laven's*) untuk menunjukkan apakah data terdistribusi normal dan homogen, dengan taraf kepercayaan 95% atau taraf signifikansi ( $P \geq 0,05$ ). Apabila data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, maka data yang didapatkan setelahnya dianalisis menggunakan uji *Analysis of Variance (One-Way ANOVA)* sebagai uji parametrik. Sementara, jika data tidak memenuhi asumsi tersebut, maka digunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Apabila terdapat data yang menunjukkan perbedaan nyata ( $P \leq 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan signifikansi antar kelompok perlakuan yang memberikan pengaruh paling optimal terhadap setiap parameter yang diukur selama penelitian.

### 3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.5 Alur Penelitian

Tahapan penelitian dimulai dari mempersiapkan pra-penelitian hingga penyelesaian laporan penelitian dimulai dari pembuatan proposal penelitian, dilanjutkan pengajuan kode etik hewan uji, persiapan penelitian hingga pemeliharaan bagi sampel uji, yang dilanjutkan dengan uji kandungan *feed additive* serta pengukuran morfologi dan hematologi ayam sebelum dan sesudah diberikan perlakuan untuk kemudian dilanjutkan dengan analisa secara statistik (Gambar 3.5).