

**PENGARUH PENAMBAHAN POLIFENOL SEBAGAI ANTIOKSIDAN  
DALAM PAKAN TERHADAP TOTAL LEUKOSIT DAN  
DIFERENSIAL LEUKOSIT AYAM PETELUR**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**NASWA UZDAH ALFIYANA**



**PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2025**

PENGARUH PENAMBAHAN POLIFENOL SEBAGAI ANTIOKSIDAN  
DALAM PAKAN TERHADAP TOTAL LEUKOSIT DAN  
DIFERENSIAL LEUKOSIT AYAM PETELUR

Oleh

NASWA UZDAH ALFIYANA  
NIM : 23010121120033

Salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi S-1 Peternakan  
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2025

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Naswa Uzdah Alfiyana  
N I M : 23010121120033  
Program Studi : S1 Peternakan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Pengaruh Penambahan Polifenol sebagai Antioksidan dalam Pakan terhadap Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Ayam Petelur** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.** dan **Dr. Dra. Endang Widiastuti, M.Si.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Agustus 2025

Penulis,

Naswa Uzdah Alfiyana

Mengetahui:

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Dr. Dra. Endang Widiastuti, M.Si.

Judul Skripsi : PENGARUH PENAMBAHAN POLIFENOL  
SEBAGAI ANTIOKSIDAN DALAM PAKAN  
TERHADAP TOTAL LEUKOSIT DAN  
DIFERENSIAL LEUKOSIT AYAM PETELUR

Nama Mahasiswa : NASWA UZDAH ALFIYANA

Nomor Induk Mahasiswa : 23010121120033

Program Studi/Departemen : S1 PETERNAKAN / PETERNAKAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji  
dan dinyatakan lulus pada tanggal .....

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Dr. Dra. Endang Widiastuti, M.Si.

Ketua Program Studi

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM

Agung Subrata, S.Pt., M.P.

Dekan

Ketua Departemen

Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM

## RINGKASAN

**NASWA UZDAH ALFIYANA.** 23010121120033. 2025. Pengaruh Penambahan Polifenol sebagai Antioksidan dalam Pakan terhadap Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Ayam Petelur. (Pembimbing: **SUGIHARTO** dan **ENDANG WIDIASTUTI**).

Penelitian bertujuan untuk mengkaji pengaruh penambahan polifenol sebagai antioksidan dalam pakan terhadap total leukosit dan diferensial leukosit ayam petelur. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2024 di CV. E & E, Kecamatan Mijen, Kota Semarang. Analisis profil leukosit darah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang. Analisis kandungan bahan pakan dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi yang digunakan adalah 300 ekor ayam petelur strain *Isa Brown* berumur 67 minggu. Penelitian ini membandingkan 2 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari 15 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu (T0) ransum basal dan (T1) ransum basal dan polifenol 1%. Perlakuan dilakukan selama 10 minggu pemeliharaan. Parameter yang diamati adalah total leukosit, limfosit, heterofil, rasio H/L dan trombosit ayam petelur. Data dianalisis menggunakan uji *Independent Sample T-test* pada taraf signifikansi 5%.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata total leukosit berkisar antara 32,37 – 38,73 x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>, limfosit berkisar antara 30,87 – 37,99 x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>, heterofil berkisar antara 1,50 x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>, rasio H/L berkisar antara 0,02 – 0,05 dan trombosit berkisar antara 21,53 – 22,27 x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>. Analisis statistik menunjukkan penambahan polifenol tidak memberikan pengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap total leukosit, limfosit, heterofil dan trombosit, namun memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) meningkatkan rasio H/L ayam petelur.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan polifenol 1% dalam pakan tidak memberikan dampak terhadap total leukosit, limfosit, heterofil, dan trombosit.

## KATA PENGANTAR

Ayam petelur berperan penting dalam memenuhi kebutuhan protein hewani terutama di Indonesia yang beriklim tropis. Namun, suhu tinggi dapat menyebabkan cekaman panas (*heat stres*) dan stres oksidatif yang berdampak pada kesehatan serta produktivitas ayam. Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan sehingga merusak sel dan menurunkan respons imun. Polifenol sebagai antioksidan alami berpotensi menetralkan radikal bebas serta meningkatkan daya tahan tubuh ayam. Oleh karena itu, penambahan polifenol dalam pakan diharapkan dapat menstabilkan stres oksidatif, menjaga kesehatan ayam dan meningkatkan produktivitas telur.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Pengaruh Penambahan Polifenol sebagai Antioksidan dalam Pakan terhadap Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Ayam Petelur” ini dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana (S1) di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama, serta Dr. Dra. Endang Widiastuti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Koordinator Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, yang telah tulus membantu dan sabar dalam memberikan bimbingan, masukan serta motivasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini;

2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM., selaku Ketua Departemen Peternakan serta Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM., selaku Ketua Program Studi S1 Peternakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan arahan selama masa perkuliahan;
3. Prof. Dr. Ir. Luthfi Djauhari, M.Sc. dan Dr. Istna Mangisah, S.Pt., M.P. selaku dosen penguji skripsi serta Nuruliarizki Shinta Pandupuspitasari, S.Pt., M.Si., M.Sc., Ph.D. selaku dosen panitia skripsi yang telah memberikan saran dan masukan dalam skripsi penulis agar menjadi lebih baik lagi;
4. Prof. Dr. Ir. Edjeng Suprijatna, M.P., selaku Dosen Wali yang telah memberikan motivasi dan arahan selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro;
5. drh. Ikania Agusetyaningsih, M.Pt., Teysar Adi Sarjana, S.Pt., M.Si., Dr. Istna Mangisah, S.Pt., M.P., Lilik Krismiyanto, S.Pt., M.Si., Hanna Dzawish Shihah, S.Pt., M.Pt., dan Arif Maulana, S.Pt., selaku tim dosen penelitian SHS serta Dr. Ir. Antonius Hintono, M.P. selaku pemilik peternakan beserta karyawan yang telah memberikan fasilitas, bimbingan, serta arahan dari awal penelitian hingga pengambilan data;
6. Kedua orang tua tercinta, Bapak Dartok Bachtiar dan Ibu Mukhayaroh serta Adik Faiq Husni Mubaroq yang selalu memberikan dukungan moral dan material, semangat, serta selalu mendoakan dan mengusahakan penulis sehingga bisa menyelesaikan skripsi;

7. Fanisya Listyaningsih, Erni Fitria, Awanda Salsa Awalla, dan Nisriina Intan Wibowo serta Ibu Siti Maesaroh yang senantiasa memberikan dukungan, motivasi, semangat serta kebersamaan sejak awal perkuliahan hingga penyelesaian skripsi ini;
8. Tim Penelitian SHS, yaitu Riqla Anis Khanifah, Banu Rizqi Febianzani dan Kevin Sun Elfrando Sinaga yang telah bekerja sama dalam menjalankan penelitian;
9. Tim Asisten Fisiologi angkatan 2021 yaitu Riqla Anis Khanifah, Lucky Alfiannisa, Rizqi Ibnu Awwalin, Mala Hayati Siregar, Nicholas Martin Bramanda Sianturi, Titan Maura Aditya, serta asisten fisiologi angkatan 2022;
10. Miftahul Luqman Basari seseorang yang istimewa, terimakasih telah hadir dengan segala bentuk dukungan yang tulus mulai dari semangat yang menguatkan, doa yang menenangkan, hingga kenyamanan, dan kebersamaan yang tidak ternilai selama proses penyusunan skripsi ini;
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu;

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca serta menjadi referensi yang berguna dalam bidang ilmu yang relevan.

Semarang, Agustus 2025

## DAFTAR ISI

|                                    | Halaman |
|------------------------------------|---------|
| KATA PENGANTAR .....               |         |
| vi                                 |         |
| DAFTAR TABEL .....                 | xi      |
| DAFTAR LAMPIRAN.....               | xii     |
| BAB I. PENDAHULUAN.....            | 1       |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....      | 4       |
| 2.1. Ayam Petelur .....            | 4       |
| 2.2. Pakan .....                   | 5       |
| 2.3. Stres Oksidatif .....         | 6       |
| 2.4. Polifenol .....               | 7       |
| 2.5. Darah .....                   | 8       |
| BAB III. MATERI DAN METODE .....   | 15      |
| 3.1. Materi .....                  | 15      |
| 3.2. Metode .....                  | 16      |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN ..... | 21      |
| 4.1. Total Leukosit .....          | 21      |
| 4.2. Limfosit .....                | 23      |
| 4.3. Heterofil .....               | 24      |
| 4.4. Rasio H/L .....               | 26      |
| 4.5. Trombosit .....               | 27      |
| BAB V. SIMPULAN DAN SARAN .....    | 29      |
| 5.1. Simpulan .....                | 29      |
| 5.2. Saran .....                   | 29      |

|                      |    |
|----------------------|----|
| DAFTAR PUSTAKA ..... | 30 |
| LAMPIRAN .....       | 42 |
| RIWAYAT HIDUP.....   | 67 |

## DAFTAR TABEL

| Nomor |                                                                                                    | Halaman |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1.    | Kandungan Nutrien Pakan .....                                                                      | 16      |
| 2.    | Rataan Profil Leukosit Ayam Petelur yang Diberi Polifenol<br>sebagai Antioksidan dalam Pakan ..... | 21      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor                                                      | Halaman |
|------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Analisis Statistik Total Leukosit .....                 | 42      |
| 2. Analisis Statistik Limfosit .....                       | 46      |
| 3. Analisis Statistik Heterofil .....                      | 51      |
| 4. Analisis Statistik Rasio H/L .....                      | 55      |
| 5. Analisis Statistik Trombosit .....                      | 60      |
| 6. Perhitungan HSI dan <i>Comfort Index</i> .....          | 64      |
| 7. Data Frekuensi Panting Ayam Petelur .....               | 66      |
| 8. Hasil Data Profil Darah Putih pada Umur 70 Minggu ..... | 66      |

## BAB I

### PENDAHULUAN

Ayam petelur merupakan salah satu jenis unggas yang berperan penting dalam industri peternakan sebagai penghasil telur. Seiring dengan peningkatan jumlah penduduk dan kesadaran masyarakat terhadap pentingnya asupan protein hewani mengakibatkan permintaan telur terus meningkat. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS), produksi telur di Indonesia tercatat sebesar 5.579.246 ton pada tahun 2022, 6.117.905,40 ton pada tahun 2023, dan 6.342.705 ton pada tahun 2024 (BPS, 2022; BPS, 2023; BPS, 2024) untuk memenuhi kebutuhan tersebut, produktivitas ayam petelur perlu ditingkatkan.

Indonesia sebagai negara beriklim tropis memiliki suhu dan kelembapan tinggi yang dapat menyebabkan cekaman panas atau *heat stres* pada ayam petelur. *Heat stres* dapat berdampak negatif terhadap keseimbangan hormonal dan proses fisiologis sehingga menyebabkan penurunan produktivitas ternak (Djaelani *et al.*, 2020). Selain itu, *heat stres* juga dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam tubuh yang berpotensi mengganggu kesehatan dan sistem reproduksi ayam petelur (Fouad *et al.*, 2016). Akumulasi radikal bebas tersebut berkontribusi terhadap terjadinya stres oksidatif yang dapat memperburuk kondisi fisiologis ayam petelur dan menurunkan performa produksi.

Stres oksidatif terjadi akibat kondisi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan kapasitas antioksidan tubuh dalam menetralkannya (Wibawa *et al.*, 2020). Ketika produksi *reactive oxygen spesies* melebihi kapasitas antioksidan di dalam

tubuh, maka ROS dapat merusak membran sel, protein dan DNA. *Reactive oxygen species* (ROS) merupakan senyawa yang bersifat reaktif dan mempunyai elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat memicu reaksi berantai yang memperburuk stres oksidatif (Yunita, 2021). Apabila kondisi ini tidak dikendalikan maka dapat berdampak negatif terhadap performa produksi ayam petelur. Oleh karena itu diperlukan adanya upaya untuk menekan stres oksidatif salah satunya dengan pemberian antioksidan dalam pakan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mendonorkan elektron untuk menurunkan kadar radikal serta mengurangi atau mencegah dampak negatif stres oksidatif (Berawi dan Marini, 2018). Secara khusus, antioksidan berfungsi menghambat reaksi rantai oksidatif yang dapat merusak sel (Gusti *et al.*, 2024). Selain itu, antioksidan juga berperan sebagai imunostimulan yang dapat menstabilkan jumlah leukosit dalam darah serta mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen pada ternak (Nasrullah *et al.*, 2020; Djaelani *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penambahan antioksidan dalam pakan ayam petelur diharapkan dapat meningkatkan respons imun, menjaga kesehatan ternak serta mendukung produktivitas telur yang optimal.

Salah satu sumber antioksidan alami yang potensial adalah polifenol. Polifenol banyak ditemukan dalam tanaman, buah, dan sayuran yang memiliki kemampuan untuk melawan radikal bebas dan melindungi sel tubuh dari kerusakan. Polifenol berfungsi untuk menetralkan radikal bebas yang diproduksi di dalam tubuh, sehingga dapat membantu menekan dampak stres oksidatif. Berdasarkan penelitian Tarigan *et al.* (2020), pemberian jus buah naga merah yang mengandung

flavonoid dan polifenol sebagai antioksidan terbukti mampu menstabilkan jumlah leukosit hingga berada pada kisaran normal. Dengan demikian, penambahan polifenol dalam pakan diharapkan tidak hanya meningkatkan respon imun terhadap patogen tetapi juga memperbaiki kualitas kesehatan ayam petelur, yang dapat berdampak positif terhadap produktivitas telur yang dihasilkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penambahan polifenol sebagai antioksidan dalam pakan terhadap total leukosit dan diferensial leukosit ayam petelur. Manfaat penelitian adalah mendapat informasi mengenai penambahan suplemen yang mengandung polifenol sebagai sumber antioksidan pada ayam petelur. Hipotesis penelitian adalah penambahan suplemen yang mengandung polifenol dapat menurunkan stres oksidatif pada ayam petelur yang refleksi dari total leukosit dan diferensial leukosit.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Ayam Petelur

Ayam petelur adalah salah satu jenis unggas yang berpotensi dipelihara secara komersial dengan tujuan utama menghasilkan telur. Ayam ras petelur merupakan hasil persilangan antara ayam Arab betina dengan ayam Kampung pejantan (Trisiwi, 2017). Berdasarkan karakteristiknya, ayam petelur dibagi menjadi dua tipe yaitu tipe medium dan tipe ringan (Salehani dan Pabendon, 2022). Dalam sistem pemeliharaan, ayam petelur melalui beberapa fase pertumbuhan yaitu fase *starter* 0-6 minggu, fase *grower* 6-14 minggu, fase *pullet*/dara umur 14-20 minggu dan fase *layer* umur 20-75 minggu (Ariati *et al.*, 2022).

Strain ayam petelur yang sering dibudidayakan di Indonesia antara lain *Isa Brown* dan *Lohmann Brown*. Ayam petelur strain tersebut dikenal memiliki kemampuan adaptasi lingkungan yang cepat serta konsumsi ransum yang baik sehingga banyak dipilih dalam industri peternakan (Dirgahayu *et al.*, 2016). Strain *Isa Brown* memiliki ciri khusus bulu berwarna coklat kemerahan, dengan warna kerabang telur coklat, rata-rata berat telur 63,1 g/butir serta jumlah telur 351 butir (Larasati *et al.*, 2023). Ayam petelur strain ini memulai produksi telur pada umur 18 minggu, mencapai 50% produksi pada umur 20 minggu dan mencapai puncak produksi pada umur 25-29 minggu (Huda *et al.*, 2019). Sementara itu, strain *Lohmann Brown* memiliki bentuk tubuh yang penuh dan memanjang, dengan telur berukuran lebih besar, serta bulu berwarna krem pada bagian leher dan ekor serta

pial berwarna merah segar (Milenia *et al.*, 2022). Periode produksi ayam petelur strain ini dimulai pada umur 18 minggu, dengan produksi mencapai 50% pada umur 25 minggu dan mencapai puncak produksi pada umur 30 minggu dengan tingkat produksi sekitar 92-94% (Hasanah *et al.*, 2023).

## **2.2. Pakan**

Pakan merupakan bahan yang diberikan kepada ternak yang tidak mengandung racun serta berfungsi sebagai penunjang kehidupan, produksi dan reproduksi (Tinangon *et al.*, 2023). Dalam industri perunggasan pakan menjadi faktor utama yang menentukan keberhasilan produksi (Barus *et al.*, 2022). Supaya dapat meningkatkan produksi ayam petelur, kualitas pakan yang diberikan harus terjamin baik dari segi kuantitas maupun kualitasnya sehingga mampu memenuhi kebutuhan hidup pokok ternak. Pakan dengan kualitas yang baik akan mendukung performa ayam meningkatkan produksi telur serta menghasilkan kerabang telur yang kuat (Shin *et al.*, 2018). Oleh karena itu, ayam petelur memerlukan pakan dengan keseimbangan nutrisi yang optimal agar dapat mencapai produktivitas telur yang maksimal.

Pakan ayam petelur terdiri dari beberapa campuran bahan yang mengandung zat gizi untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Nutrisi yang diperlukan meliputi protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral, yang berperan penting dalam mendukung pertumbuhan dan produksi telur. Komponen utama dalam formulasi ransum adalah kandungan energi dan protein, yang menjadi faktor kunci dalam menjaga produktivitas ayam petelur (Herni *et al.*, 2022). Pada fase *layer*, ayam

petelur membutuhkan kandungan protein sebesar 18% dan energi sebesar 2800 kkal/kg dalam pakannya agar dapat memproduksi secara optimal (Alwi *et al.*, 2019). Selain itu, kalsium dan fosfor merupakan nutrient esensial dalam ransum karena berperan pembentukan kerabang telur (Harmayanda *et al.*, 2016). Dengan demikian, pemberian pakan yang berkualitas dan sesuai standar kebutuhan ternak sangat penting untuk menunjang pertumbuhan dan produksi telur secara maksimal.

### **2.3. Stres Oksidatif**

Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kapasitas sistem antioksidan dalam tubuh (Wibawa *et al.*, 2020). Menurut Efrizal (2022) menyatakan bahwa radikal bebas yang berlebihan dapat merusak komponen seluler penting seperti lemak, protein dan DNA sehingga mengganggu fisiologis tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga dapat memicu reaksi kimia yang merusak sel (Yunita, 2021). Radikal bebas dapat diproduksi melalui dua mekanisme utama yaitu secara endogen (sel inflamasi, fibroblast, sel epitel, *xanthine* dan rantai pernafasan) serta eksogen (asap rokok, polusi, radiasi, karsinogen dan obat-obatan) (Haeria *et al.*, 2016). Produksi radikal bebas yang melebihi kapasitas antioksidan dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya apoptosis sel dengan berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif dan stres oksidatif.

Stres oksidatif pada unggas terjadi akibat faktor lingkungan, salah satunya adalah cekaman panas yang mengganggu homeostatis dan meningkatkan produksi

radikal bebas (Ariqoh *et al.*, 2019). Suhu lingkungan tinggi memicu peningkatan metabolisme tubuh, memicu kerusakan oksidatif membran sel serta mengganggu fungsi seluler dan fisiologis ayam (Effendy *et al.*, 2024). Ayam petelur berada dalam kondisi yang optimal ketika suhu lingkungan berada pada kisaran 18-24 °C (Priastoto *et al.*, 2016) dengan tingkat kelembaban berkisar 67-88% (Luthfi *et al.*, 2020). Kondisi lingkungan yang tidak sesuai dapat memicu radikal bebas yang menghambat aliran darah dan berpotensi menyebabkan gangguan fungsi organ unggas (Mulyani *et al.*, 2019). Akumulasi radikal bebas dapat memicu terjadinya peningkatan peroksidasi lipid, merusak membran sel serta menghasilkan senyawa reaktif (Hafez *et al.*, 2022). Stres oksidatif pada unggas dapat menyebabkan penurunan konsumsi pakan, inefisiensi nutrisi, serta penurunan bobot hidup ayam (Hidayat *et al.*, 2020) yang berdampak pada menurunnya kesehatan dan produktivitas ayam (Nawab *et al.*, 2019).

#### **2.4. Polifenol**

Polifenol merupakan senyawa bioaktif yang termasuk dalam kelompok fenol dan memiliki gugus hidroksil (Tristante *et al.*, 2017). Secara umum, polifenol terbagi menjadi dua kelompok utama yaitu flavonoid dan asam fenolat (Fadhilah *et al.*, 2021). Flavonoid merupakan kelompok polifenol terbesar yang memiliki aktivitas antioksidan kuat serta berperan sebagai kardioprotektif yang dapat melindungi sistem kardiovaskular dari stres oksidatif (Sudaryat *et al.*, 2015). Salah satu fungsi utama polifenol adalah menangkal radikal bebas karena mampu menyumbangkan hidrogen (Diniyah *et al.*, 2020). Sebagai antioksidan, polifenol mampu menetralkan radikal bebas dan meningkatkan imunitas tubuh (Liu *et al.*,

2020). Aktivitas antioksidan yang tinggi pada senyawa polifenol memungkinkan senyawa ini untuk menyumbangkan elektron guna menetralkan radikal bebas sehingga berperan penting menjaga kesehatan sel dan jaringan dalam tubuh (Dhianawaty dan Ruslin, 2015).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang berperan dalam menurunkan kadar radikal serta membantu mengurangi atau mencegah dampak stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Berawi dan Marini, 2018). Berdasarkan mekanismenya, antioksidan dibagi menjadi dua jenis utama yaitu antioksidan enzimatik dan non enzimatik (Mareta, 2020). Aktivitas antioksidan dapat diklasifikasikan ke dalam empat golongan yaitu <50 ppm (rendah), 50-100 ppm (sedang), 101-150 ppm (kuat) dan 151-200 ppm (sangat kuat) (Surjanto *et al.*, 2019). Antioksidan memiliki peran penting dalam mencegah terjadinya stres oksidatif, yaitu kondisi keseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang dapat menyebabkan kerusakan lipid, protein dan DNA (Kusmiyati *et al.*, 2022). Stres oksidatif terjadi akibat akumulasi radikal bebas, yang merupakan hasil samping dari proses metabolisme energi dalam tubuh (Gusti *et al.*, 2024). Oleh karena itu, keberadaan antioksidan termasuk polifenol sangat diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dan menjaga stabilitas seluler guna mencegah berbagai gangguan kesehatan serta meningkatkan produktivitas unggas.

## **2.5. Darah**

Darah merupakan jaringan ikat cair yang terbentuk dalam tubuh dan memiliki beberapa fungsi penting. Darah berfungsi sebagai alat transportasi oksigen dari paru-paru ke sel-sel tubuh dan membawa karbondioksida dari sel kembali ke paru-

paru untuk dibuang (Alfian *et al.*, 2017) serta sebagai sistem imunitas (Frandsen, 1993). Darah juga berfungsi dalam mempertahankan homeostatis tubuh, yang mencakup menjaga keseimbangan berbagai komponen tubuh dalam kondisi normal dan stabil.

Darah terdiri atas plasma darah yang menyumbang sekitar 55% dan sel darah 45% dari volume darah (Setyawati *et al.*, 2019). Komposisi darah ini menjadi parameter fisiologis yang penting dalam menilai kondisi kesehatan ternak, mencakup fungsi sistem kekebalan tubuh dan respons terhadap berbagai penyakit (Syamsuryadi *et al.*, 2020). Sel darah terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan trombosit. Sel darah merah berfungsi dalam pengangkutan oksigen ke seluruh tubuh, sedangkan sel darah putih terdiri dari beberapa jenis yang dikenal dengan diferensial leukosit berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi. Kemudian trombosit berperan dalam proses pembekuan darah untuk mencegah pendarahan.

### **2.5.1. Leukosit**

Leukosit adalah sel darah putih yang berfungsi melindungi tubuh dari penyakit dengan cara fagositosis yakni menelan dan menghancurkan patogen seperti bakteri dan virus yang masuk ke dalam tubuh (Djaelani *et al.*, 2020). Selain itu, leukosit juga berperan dalam sistem pertahanan tubuh membentuk antibodi yang membantu melawan infeksi. Leukosit diproduksi di sumsum tulang merah dan jumlah serta jenis leukosit yang dihasilkan diatur oleh protein yang disebut *colony stimulating factor* (CSF) (Sirat *et al.*, 2022). Pada ayam petelur, jumlah leukosit

berkisar antara  $31,30-38,40 \times 10^3/\text{mm}^3$  (Nasrullah *et al.*, 2020). Jumlah leukosit dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain aktivitas biologis, kondisi lingkungan, umur dan pakan yang diberikan pada ternak (Jumadin *et al.*, 2020).

Leukosit terdiri dari dua kategori utama yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit adalah sel darah putih yang memiliki granula pada sitoplasmanya, sedangkan agranulosit tidak memiliki granula dalam sitoplasmanya (Maheshwari *et al.*, 2017). Jumlah leukosit serta differensial leukosit digunakan untuk memantau kondisi kesehatan ternak secara lebih akurat. Peningkatan jumlah leukosit sering kali disebabkan oleh stres lingkungan, yang menyebabkan peningkatan produksi kortikosteroid dan glukokortikoid. Peningkatan hormon ini dapat menurunkan sistem imunitas tubuh dan mengganggu respons tubuh terhadap patogen (Falahudin *et al.*, 2016). Naik turunnya jumlah leukosit dalam darah merupakan bagian dari mekanisme respon fisiologis dan patologis tubuh ayam dalam merespons kondisi stres atau infeksi (Olivia *et al.*, 2017).

### **2.5.2. Diferensial leukosit**

Diferensial leukosit merupakan jenis-jenis leukosit yang terdiri atas heterofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit (Anggraeni *et al.*, 2016). Setiap unggas memiliki jumlah diferensial leukosit berbeda-beda yang disebabkan oleh umur, status gizi, dan kondisi fisiologis (Suriansyah *et al.*, 2016).

Limfosit adalah salah satu jenis sel darah putih yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh (Resvina dan Mahrom, 2022). Limfosit terbagi menjadi dua tipe yaitu limfosit T yang berfungsi dalam imunitas seluler dan limfosit

B yang berperan dalam respons imun humoral (Tae *et al.*, 2023). Limfosit berfungsi untuk mengidentifikasi infeksi penyakit dan mempercepat respons tubuh dalam menghancurkan mikroorganisme penyebab penyakit (Kurnianto *et al.*, 2016). Selain itu, limfosit juga berperan dalam memori imun, yaitu kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk mengingat patogen yang pernah dihadapi. Hal ini memungkinkan tubuh untuk memberikan respons imun yang lebih cepat dan efektif saat terpapar patogen yang sama.

Limfosit diproduksi oleh sumsum tulang dan kemudian dimatangkan di dalam jaringan limfoid terutama timus (Arfanda *et al.*, 2019). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi jumlah limfosit antara lain *heat stres*, suhu lingkungan tinggi, umur, dan kepadatan kandang (Sulaibah *et al.*, 2019). Selain itu, infeksi bakteri atau virus serta paparan imunostimulan atau immunosupresif juga dapat mempengaruhi jumlah limfosit. Pada ayam petelur jumlah limfosit berkisar antara  $25,10 - 31,80 \times 10^3/\mu\text{L}$  (Nasrullah *et al.*, 2020). Penurunan jumlah limfosit yang disebut limfopenia dapat terjadi akibat infeksi virus, gangguan autoimun, atau pengaruh obat-obatan. Sebaliknya, peningkatan jumlah limfosit atau limfositosis dapat terjadi akibat tingginya hormon kortikosteroid dalam darah yang mengakibatkan terhambatnya pembentukan limfosit (Beny *et al.*, 2024).

Heterofil berperan sebagai garis pertahanan pertama dalam melawan infeksi bakteri dengan bereaksi dengan merespons secara cepat setelah bakteri masuk ke dalam tubuh (Harahap *et al.*, 2023). Sel ini memiliki aktivitas amuboid dan bersifat fagositosis, yang berfungsi untuk mempertahankan sistem kekebalan tubuh (Widowati *et al.*, 2015). Heterofil mampu merespons patogen lebih cepat pada

tahap awal peradangan (Sunu *et al.*, 2021). Nilai normal heterofil pada ayam berkisar antara 18,8 – 34,6 % (Jannah *et al.*, 2017).

Jumlah heterofil dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya adalah suhu lingkungan tinggi. Suhu lingkungan terlalu panas dapat meningkatkan jumlah heterofil dan menyebabkan ternak mengalami *heat stres* (Nurhidayah *et al.*, 2022). Selain itu, peningkatan heterofil juga dapat terjadi akibat peradangan akut pada ternak (Jannah *et al.*, 2017). Sebaliknya, jumlah heterofil yang berada di bawah standar dapat menyebabkan neutropenia, yang beresiko melemahkan sistem kekebalan tubuh (Rosanti *et al.*, 2019). Faktor utama penyebab neutropenia antara lain penyakit autoimun dan penggunaan obat dalam dosis berlebihan (Aji *et al.*, 2023).

Rasio Heterofil/Limfosit (H/L) merupakan salah satu indikator fisiologis yang digunakan untuk melihat tingkat stres pada unggas, terutama akibat cekaman panas atau faktor lingkungan lainnya (Sunu *et al.*, 2020). Rasio normal H/L pada ayam petelur berkisar antara 0,5 – 0,7 (Nissa *et al.*, 2019). Peningkatan nilai rasio H/L menunjukkan semakin tingginya tingkat stres yang dialami oleh ternak, terutama akibat *heat stres* yang akan berdampak negatif pada kesehatan dan produktivitas ayam (Ain *et al.*, 2020). Salah satu dampak dari peningkatan rasio H/L adalah involusi jaringan limfoid seperti limpa dan bursa fabricius yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh ayam (Wandari *et al.*, 2017).

Ayam yang mengalami *heat stres* dalam jangka panjang maupun pendek maka nilai rasio H/L akan semakin tinggi (Haerul *et al.*, 2024). Selain itu, rasio H/L yang tinggi juga dapat mengindikasikan adanya infeksi atau penyakit sehingga

penting untuk memantau kondisi kesehatan ternak (Amini *et al.*, 2020). Berbagai faktor dapat mempengaruhi rasio H/L diantaranya suhu lingkungan yang tinggi, kepadatan kandang, kualitas pakan serta stres akibat perlakuan atau manajemen pemeliharaan (Robinson *et al.*, 2019). Oleh karena itu, pengelolaan lingkungan dan pakan yang optimal sangat diperlukan untuk menjaga keseimbangan rasio H/L agar ayam tetap sehat dan produktif.

Trombosit merupakan garis pertahanan pertama dalam melawan pendarahan, berkontribusi dalam proses trombosis, inflamasi dan neoplasia (Holinstat, 2017). Jumlah trombosit dalam sirkulasi darah enam kali lebih banyak dibandingkan heterofil sehingga menjadikannya salah satu sel darah dengan jumlah tertinggi (Yuliani dan Sakan, 2018). Trombosit dapat melepaskan berbagai mediator inflamasi yang dapat memodifikasi peran leukosit dan respons endotel sehingga akan menentukan derajat stimulus inflamasi (Thomas dan Storey, 2015). Selain itu, trombosit juga memiliki peran utama dalam sistem hemostasis yaitu proses pembekuan darah untuk mencegah pendarahan berlebih dan mempercepat proses penyembuhan luka (Merlina *et al.*, 2024).

Jumlah trombosit yang normal pada ayam petelur berkisar 216.000-314.000 sel/mm<sup>3</sup>, sementara kisaran normal pada unggas secara umum adalah 200.000-500.000 sel/mm<sup>3</sup> (Agboola *et al.*, 2017). Penurunan kadar trombosit dapat terjadi akibat infeksi virus atau bakteri sehingga terjadi penurunan respons imunitas (Fanmira *et al.*, 2022). Trombosit akan aktif apabila terjadi kerusakan pembuluh darah dan akan membentuk suatu bekuan darah untuk mencegah kehilangan darah yang berlebih (Putri *et al.*, 2023). Oleh karena itu, pengelolaan kesehatan unggas

yang baik sangat diperlukan untuk menjaga stabilitas jumlah trombosit guna mendukung sistem kekebalan tubuh dan mencegah penyakit.

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Penambahan Polifenol sebagai Antioksidan dalam Pakan terhadap Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Ayam Petelur” dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Oktober 2024 di CV. E & E, Kecamatan Mijen, Kota Semarang. Analisis kandungan bahan pakan penyusun ransum dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang. Analisis profil leukosit darah dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang.

#### 3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 300 ekor ayam petelur strain *Isa Brown* berumur 67 minggu. Kandang yang digunakan adalah *cage* berukuran 50 x 50 cm berisi 1 ekor sehingga terdapat 300 *cage*. Peralatan yang digunakan meliputi peralatan pakan dan minum yang terbuat dari setengah paralon dan dibatasi oleh tutup paralon, timbangan gantung, timbangan analitik, *sprayer*, *thermohygrometer*, anemometer, *logger*, *wearpack*, *egg tray*, dan ember. Peralatan yang digunakan untuk pengambilan sampel darah antara lain *cooling box*, *sput* 3 mL, *ice pack*, *vacum tube ethylen diamine tetra acetic acid* (EDTA), kapas, alkohol dan spidol. Selain itu, peralatan yang digunakan dalam proses pencampuran pakan meliputi mixer, karung, plastik, dan pallet.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari ransum basal dan polifenol 1%. Ransum basal yang digunakan dalam penelitian ini disusun dari jagung kuning, bekatul, dan konsentrat K501-PLATINUM. Kandungan nutrisi pakan yang dipakai dalam penelitian ini ada di Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Pakan

| Nutrien                       | Persentase Nutrien Ransum |
|-------------------------------|---------------------------|
|                               | ------(%)-----            |
| Air                           | 11,58                     |
| Abu                           | 9,42                      |
| Lemak Kasar                   | 5,62                      |
| Serat Kasar                   | 6,58                      |
| Protein Kasar                 | 15,69                     |
| BETN **                       | 51,11                     |
| Energi Metabolisme (Kkal/kg)* | 3379,68                   |

Keterangan : Analisis Proksimat Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Universitas Diponegoro (2024)

\* Hasil perhitungan menggunakan rumus Bolton (1967)

\*\* Hasil perhitungan menggunakan rumus Anggorodi (1985)

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini dirancang dengan membandingkan 2 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari 15 ulangan setiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor ayam, sehingga total ayam yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 300 ekor.

Adapun perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

T0 : Ransum basal (kontrol)

T1 : Ransum basal + Polifenol 1%

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi total leukosit, limfosit, heterofil, rasio H/L dan trombosit dalam darah ayam petelur.

### 3.2.2. Prosedur penelitian

Prosedur dalam penelitian ini meliputi tahap persiapan, tahap pemeliharaan, dan tahap pengambilan data. Persiapan pakan diawali dengan mixing pakan. Pakan basal sebanyak 350 kg dan polifenol 1% dari total jumlah pakan basal yaitu sebanyak 3,5 kg dicampur dengan mixer vertikal. Setelah dicampur, pakan yang telah selesai dicampur kemudian dikemas kembali dalam karung, disusun rapi di atas pallet, dan disimpan di gudang pakan dengan baik untuk menjaga kualitasnya.

Tahap berikutnya adalah persiapan ternak yang diamati dalam penelitian ini. Ayam petelur dengan jumlah 300 ekor ditempatkan dalam kandang *battery*, dengan setiap kandang berisi satu ekor ayam. Kandang diberi identitas sesuai dengan unit perlakuan, yaitu T1 sebanyak 15 ulangan dan T0 sebanyak 15 ulangan. Setiap perlakuan dan kontrol disusun secara berselang-seling, dengan 10 ekor ayam per unit untuk memastikan distribusi perlakuan yang merata. Pencampuran desinfektan dengan air yang diletakkan di depan kandang sebagai bagian dari prosedur *biosecurity*. Selain itu, pencatatan data *recording* serta pengumpulan data pendukung lainnya.

Pemeliharaan ayam petelur dilakukan selama 10 minggu, yang terdiri dari 2 minggu periode adaptasi dan 8 minggu periode pemberian perlakuan. Penelitian ini dimulai ketika ayam berumur 67 minggu dan berlangsung hingga umur 76 minggu. Sanitasi tempat minum dilakukan setiap pagi sebelum pemberian pakan untuk menjaga kebersihan dan kesehatan ternak. Air minum diberikan secara *ad libitum* sedangkan pakan diberikan dengan metode *restricted feeding*. Pakan basal yang telah dicampur dengan polifenol 1% diberikan dua kali sehari, yaitu pada pagi

dan siang hari. Setiap unit perlakuan dan kontrol diberikan pakan dalam satu plastic berisi 1,25 kg, dengan alokasi 125 gram per ekor ayam. Selain itu, dilakukan pengambilan telur dan pencatatan data produksi telur setiap hari untuk masing-masing perlakuan.

Tahap pengambilan data dilakukan pada umur ayam petelur 70 minggu dan 76 minggu dengan pemilihan sampel secara acak dari tiap unit percobaan. Pengambilan darah dilakukan melalui *vena brachialis* dengan menggunakan spuit 3 mL sebanyak  $\pm 1$  mL. Identitas setiap sampel darah dicatat pada *vacuum tube* yang berisi *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) sesuai dengan unit percobaan yang telah diambil. Setelah pengambilan darah, sampel darah yang telah dimasukkan ke dalam *vacuum tube* kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam *cooling box* untuk meminimalkan kerusakan sampel sebelum dianalisis.

Analisis sampel darah dilakukan menggunakan *hematology analyzer*. Alat ini bekerja berdasarkan tiga prinsip yaitu *electrical impedance*, kalkulasi dan histogram. Perhitungan leukosit dan diferensial leukosit dilakukan dengan menggunakan metode *electrical impedance*, di mana darah ayam dicampur dengan pelarut dan kemudian diukur dalam bilik yang memiliki *electrode* yaitu *electrode* internal dan *electrode* eksternal. Arus listrik yang mengalir antara *electrode* menghasilkan sinyal tegangan yang diterima oleh *detection circuit*, diperbesar oleh amplifier dan dikirimkan ke rangkaian elektronik. Nilai pengukuran diperoleh dari pengiriman sinyal tersebut ke A/D converter, yang menyimpan data dalam bentuk histogram. *Central Processing Unit* (CPU) kemudian mengoreksi data untuk

menentukan jumlah leukosit serta fraksi leukosit yang meliputi heterofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit dan trombosit.

Perhitungan *Heat Stres Index* (HSI) menurut (Aviagen, 2010) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Heat Stres Index (HSI)} = \text{Suhu } (^{\circ}\text{F}) + \text{RH } (\%)$$

Keterangan:

$$\begin{aligned} \text{RH} &= \text{kelembaban udara } (\%) \\ \text{Suhu } ^{\circ}\text{F} &= \left( \frac{9}{5} \times ^{\circ}\text{C} \right) + 32^{\circ}\text{C} \end{aligned}$$

Perhitungan *comfort index* menurut (Murtidjo, 1978) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$S = P + 0,25 (t_l + t_s) + 0,1 k_u - 0,1 (37,8 - t_l) \sqrt{v}$$

Keterangan:

$$\begin{aligned} S &= \text{Comfort index} \\ t_l &= \text{suhu udara dalam kandang} \\ t_s &= \text{suhu udara luar kandang} \\ k_u &= \text{kelembaban udara} \\ v &= \text{kecepatan angin dalam kandang 0,5 meter dari permukaan lantai} \\ p &= \text{konstanta (10,6 at hot climate)} \end{aligned}$$

### 3.2.3. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Independent Sample T-test* setelah dilakukan normalitas dan homogenitas data pada taraf signifikansi 5%. Apabila data tidak terdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan dengan uji statistika non parametrik dengan taraf signifikansi 5% untuk menguji perbedaan antar perlakuan. Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini menurut Sugiyono (2010) adalah sebagai berikut:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sigma \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Keterangan:

- t = Koefisien t
- $\bar{x}_1$  = Rata-rata hasil pengujian sampel 1
- $\bar{x}_2$  = Rata-rata hasil pengujian sampel 2
- $\sigma$  = Simpangan baku
- $n_1$  = Jumlah sampel 1
- $n_2$  = Jumlah sampel 2

Hipotesis statistik yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

$H_0 : \tau = 0$ , tidak ada pengaruh penambahan polifenol sebagai antioksidan pada pakan terhadap total leukosit dan diferensial leukosit ayam petelur.

$H_1 : \tau_i \neq 0$ , terdapat pengaruh penambahan polifenol sebagai antioksidan pada pakan terhadap total leukosit dan diferensial leukosit ayam petelur.

Kriteria Pengambilan Keputusan:

1. Apabila  $T_{hitung} < T_{tabel}$ , pada taraf 5% maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak
2. Apabila  $T_{hitung} \geq T_{tabel}$ , pada taraf 5% maka  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak