

SKRIPSI

**PERAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU HITAM
(*Curcuma aeruginosa* Roxb.) TERHADAP JUMLAH
LEUKOSIT PADA AYAM PETELUR DEWASA
YANG DIINFEKSI CACING *Ascaridia galli***



Oleh :

AZHAR BAYU SEMBODO

NIM 060513409

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2009**

Lembar pengesahan

**PERAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa*
Roxb.) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT PADA AYAM PETELUR
DEWASA YANG DIINFEKSI CACING *Ascaridia galli***

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

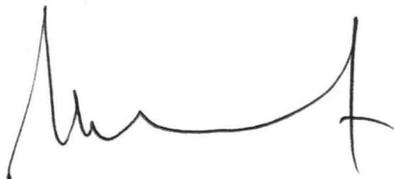
Oleh

AZHAR BAYU SEMBODO

NIM 060513409

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.)

Pembimbing Pertama



(Kadek Rachmawati, M. Kes, drh)

Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul :

**PERAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)
TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT PADA AYAM PETELUR DEWASA YANG
DIINFEKSI CACING *Ascaridia galli***

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Juni 2009



Azhar Bayu. Sembodo
NIM. 060513409

Telah diuji pada

Tanggal : 19 Juni 2009

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Chairul Anwar,M.S.,drh.

Anggota : Prof.Dr.Setiawan Koesdarto,M.Sc.,drh.

R.Budi Utomo,M.Kes.,drh.

Prof.Dr.Fedik A.Rantam.,drh.

Kadek Rachmawati,M.Kes.,drh.

Surabaya, 25 Juni 2009

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik.,Ph.D.,drh.

NIP. 130 687 305

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 5 Juni 2009

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua	: Chairul Anwar,M.S.,drh.
Sekretaris	: Prof.Dr.Setiawan Koesdarto,M.Sc.,drh.
Anggota	: R.Budi Utomo,M.Kes.,drh.
Pembimbing I	: Prof.Dr.Fedik A.Rantam.,drh.
Pembimbing II	: Kadek Rachmawati,M.Kes.,drh.

THE ROLE OF TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) RHIZOMES
ETHANOLIC EXTRACT ON LEUCOCYTE COUNT OF LAYER
CHICKEN WHICH WERE INFECTED BY *Ascaridia galli*

Azhar Bayu. Sembodo

ABSTRACT

The aim of this research is to know the role of giving *temu hitam* as ethanolic extract on leucocyte count of layer chicken's which were infected by *Ascaridia galli*. The research carried twenty five chickens that divided in five group treatment. All of group were infected by *Ascaridia galli*. Group I were not given with *temu hitam* ethanolic extract, group II were given 100 mg/chick/day, group III were given 200 mg/chick/day, group IV were given 300 mg/chick/day and group V were given 400 mg/chick/day. This research showed that *temu hitam* ethanolic extract effects on increasing leucocyte count. It could be concluded that *temu hitam* ethanolic extract was role as an immunostimulator.

Key word : *Temu hitam*, *Curcuma aeruginosa* Roxb, *Ascaridia galli*, leucocyte, layer chicken.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Peran Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Ayam Petelur Dewasa Yang Dinfeksi Cacing *Ascaridia galli*.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Hj. Romziah Sidik.,Ph.D.,drh yang telah memberi kesempatan pada penulis untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof.Dr.Fedik A Rantam.,drh. selaku dosen pembimbing pertama dan Kadek Rachmawati, M.Kes.,drh selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, bantuan, petunjuk dan saran kepada penulis sampai dengan selesainya skripsi ini.

Penguji skripsi, yaitu : Chairul Anwar, M.S.,drh., Prof.Dr.Setiawan Koesdarto,M.Sc.,drh., R.Budi Utomo, MKes., drh. atas kesediaannya meluangkan waktu untuk menguji dan menilai skripsi ini.

Prof.Dr Wurlina M.S.,drh. selaku dosen wali saya yang telah membimbing dengan penuh perhatian, memberi masukan-masukan yang berharga serta motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan kuliah ini.

Ibu Eka Pramytha Hestianah, M.Kes., drh. selaku dosen pembimbing penelitian yang memberikan bimbingan, bantuan, petunjuk, doa dan saran kepada penulis sampai dengan selesainya skripsi ini.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh staf Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, staf Penjaga Kandang percobaan, staf Laboratorium Parasitologi, staf Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuannya selama proses penelitian berlangsung.

Kepada ayahanda Sularno, Ir. dan ibunda Budi Wahyuni, kakakku tercinta, Lufti Baskoro Timur dan adikku tersayang, Izma Kartika Willis serta Erlisa Septiasih yang telah memberikan cinta, doa dan dukungannya. Kepada teman-teman satu penelitian, Mbak Ayu, Handayu Untari, Fajar Hari Setiabudi, Rico Rachmansyah, Damayanti, Yuse Iflaca dan mas Nur Hidayat, dan seluruh teman-teman angkatan 2005 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, serta pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari sempurna. Semoga skripsi ini dapat menjadi informasi yang berharga bagi dunia veteriner.

Surabaya, 25 Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
ABSTRACT	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xii

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Landasan Teori	4
1.4. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Hipotesis Penelitian	6

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Temu Hitam (<i>Curcuma aeruginosa</i>)	7
2.1.1 Klasifikasi	7
2.1.2 Morfologi tumbuhan temu hitam.....	8
2.1.3 Kandungan kimia rimpang temu hitam.....	9
2.1.4 Fungsi masing-masing zat-zat kimia pada temu hitam.....	9
2.1.5 Khasiat dan kegunaan temu hitam	10
2.1.6 Efek farmakologis dan hasil penelitian.....	10
2.2 Tinjauan tentang <i>Ascaridia galli</i>	11
2.2.1 <i>Ascaridia galli</i>	11
2.2.2 Klasifikasi <i>Ascaridia galli</i>	11
2.2.3 Morfologi <i>Ascaridia galli</i>	12

2.2.4 Siklus Hidup <i>Ascaridia galli</i>	12
2.2.5 Patogenesis dan Gejala Klinis Infeksi <i>Ascaridia galli</i>	14
2.2.6 Pencegahan dan Pengobatan Infeksi <i>Ascaridia galli</i>	15
2.3 Tinjauan tentang Leukosit Unggas.....	15
2.3.1 Leukosit unggas.....	15
2.3.1.1 Heterofil.....	15
2.3.1.2 Eosinofil.....	16
2.3.1.3 Basofil.....	17
2.3.1.4 Limfosit dan monosit.....	18
2.4 Harga Normal Jumlah Leukosit total pada Ayam.....	19
2.5 Peningkatan jumlah leukosit (leukositosis).....	20
2.6 Peran Temu Hitam terhadap peningkatan leukosit.....	21
2.7 Peranan Ascariasis terhadap leukositosis.....	22
2.7.1 Peranan eosinofil pada kekebalan cacing.....	22

BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.2 Materi Penelitian.....	24
3.2.1. Hewan percobaan.....	24
3.2.2 Bahan Penelitian.....	24
3.2.3 Alat Penelitian.....	25
3.3 Metode Penelitian.....	26
3.3.1 Penetapan dosis obat.....	26
3.3.2 Persiapan hewan coba.....	27
3.3.3 Penyiapan telur cacing <i>Ascaridia galli</i> yang infeksi.....	27
3.3.4 Prosedur penelitian.....	27
3.4 Rancangan Penelitian.....	29
3.5 Variabel penelitian	29
3.6 Pengambilan sampel.....	29
3.7 Penghitungan jumlah total leukosit ayam.....	30

3.8 Pemeriksaan jumlah leukosit ayam.....	31
3.9 Analisa data.....	31
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	32
BAB 5 PEMBAHASAN.....	36
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
RINGKASAN.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb. dan rimpang temu hitam.....	9
2.2. Siklus hidup cacing <i>Ascaridia galli</i> di dalam tubuh ayam.....	13
2.3. Heterofil normal pada unggas.....	16
2.4. Eosinofil normal pada unggas.....	17
2.5. Basofil normal pada unggas.....	17
2.6. Limfosit normal pada burung merpati.....	18
2.7. Monosit normal pada unggas.....	19

DAFTAR TABEL

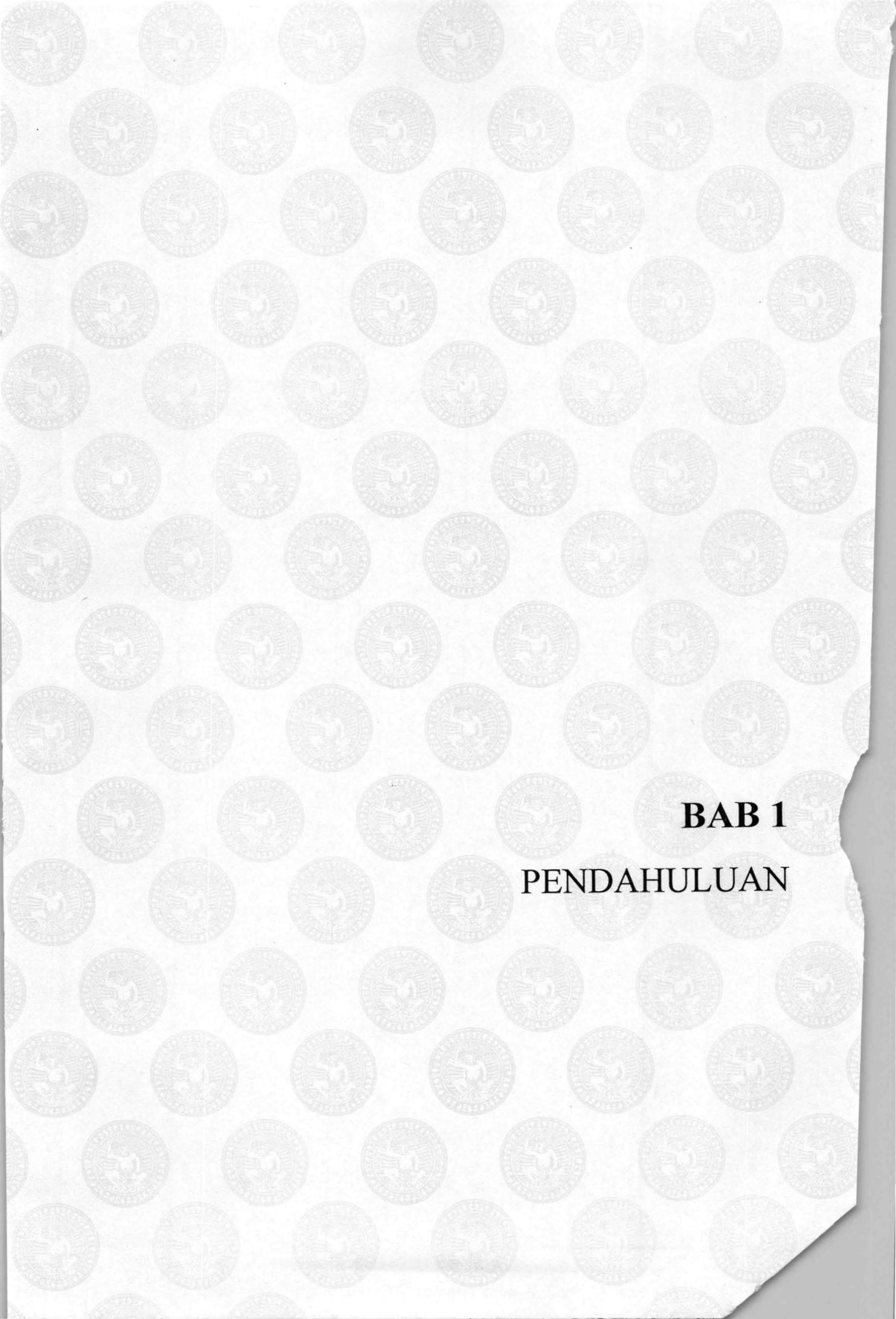
Tabel	Halaman
3.1 Tabel Jumlah Leukosit total pada ayam normal (Nemi, 2000).....	19
4.1 Jumlah leukosit total pada ayam yang diinfeksi <i>Ascaridia galli</i> dan penambahan pemberian ekstrak etanol temu ireng berbagai dosis.....	32
4.2 Rata-rata Simpangan Baku Persentase Darah Ayam yang Mengalami Leukositosis Akibat Diinfeksi Cacing <i>Ascaridia galli</i> dan Pemberian Berbagai dosis ekstrak Etanol Rimpang temu hitam.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar alat dan bahan.....	50
2. Bagan Alir Penelitian.....	54
3. Penghitungan Jumlah Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (<i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.).....	55
4. Prosedur Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (<i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.).....	57
5. Penyiapan Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam.....	59
6. Tabel hasil penghitungan jumlah total leukosit ayam yang diinfeksi <i>Ascaridia galli</i> dan pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam berbagai dosis	61
7. Tabel hasil Penghitungan Jumlah Total Leukosit Pada Ayam Petelur menggunakan analisa statistik One Way ANOVA.....	62
8. Tabel hasil Penghitungan Jumlah Total Leukosit Pada Ayam Petelur menggunakan analisa statistik <i>Duncan Multiple Range</i>	63
9. Penghitungan Kenaikan Jumlah Leukosit.....	64

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ANOVA	: Analysis Of Variant
CMC Na	: Sodium <i>Carboxymethylcellulose</i>
dpl	: Diatas Permukaan Laut
g	: gram
Kg	: kilogram
mg	: milligram
μ l	: mikroliter
EDTA	: <i>Ethylene diamine Tetraaceticacid</i>



BAB 1
PENDAHULUAN

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Negara Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman-tanaman yang dapat berpotensi sebagai obat. Salah satu tanaman yang dapat dijadikan obat tersebut adalah temu hitam. Temu hitam merupakan tanaman obat dari famili *Zingiberaceae*. Temu hitam yang dalam bahasa latin mempunyai nama *Curcuma aeruginosa* Roxb. merupakan tanaman asli Indonesia yang mudah ditemukan di daerah hutan jati, di ladang dan tempat lainnya pada ketinggian 1750 m di atas permukaan laut. Bagian tanaman yang diambil sebagai obat alternatif adalah rimpangnya. Rimpang temu hitam dapat berkhasiat untuk mengobati encok, kegemukan badan, kudis, koreng, kurang segar sehabis nifas dan sebagai *anthelminthika* (Widowati, 2008).

Penyakit parasit saat ini sedang menjadi masalah yang berarti bagi peternak unggas di Indonesia dan di dunia. Khususnya penyakit yang disebabkan oleh cacing. Dari sekian banyak jenis cacing yang dapat menyerang ayam, *Ascaridia galli* paling sering menimbulkan masalah pada usaha peternakan ayam petelur. *Ascaridia galli* adalah cacing yang berbentuk bulat, besar dan kaku seperti lidi (Jonathan, 2002). Cacing ini dapat menyebabkan Ascaridiasis.

Di Indonesia kejadian Ascaridiasis ditemukan di daerah Jawa Barat. Sedangkan kasus yang terjadi di dunia dapat ditemukan di Eropa, tepatnya di Switzerland, dimana prevalensi *Ascaridia galli* berkisar antara 2' sampai 20 % di peternakan ayam komersial (Morgenstern & Lobsiger, 1993). Sedangkan di Afrika, ditemukan di negara Kamerun

bagian barat, di daerah tersebut *Ascaridia galli* telah teridentifikasi 52% di ayam lokal (Mpoame & Agbede, 1995).

Akibat infeksi cacing pada tubuh ternak, memang tak begitu terasa. Terlebih bila jumlahnya sedikit. Akibat langsung dari penyakit parasit pada ternak tidak pernah sejelas akibat yang ditimbulkan oleh penyakit bakterial dan viral (Jonathan, 2002).

Penyakit yang disebabkan oleh parasit cacing pada umumnya jarang menimbulkan kematian pada ternak. Tetapi, infestasi yang berjumlah banyak dapat mengakibatkan penurunan berat badan ternak dewasa dan terhambatnya pertumbuhan pada ternak yang masih muda (Soulsby, 1982).

Tizzard (1988) mengungkapkan bahwa kebanyakan serangan cacing berhubungan dengan tanda-tanda yang khas dari hipersensitivitas tipe I, termasuk *eosinofilia*, *edema*, *asma* dan *dermatitis urtikaria* (bengkak dan panas kulit).

Sehingga, dari akibat yang ditimbulkan tersebut, maka diperlukan adanya pengobatan pada ayam yang terkena *Ascaridiasis*. Pengobatan dapat diberikan dengan obat-obat modern (*anthelminthika*). Sampai saat ini banyak peternak menggunakan obat-obatan modern ini. Padahal, para peternak tidak sedikit mengalami hambatan dan rintangan selain harga pakan yang terus naik, obat-obatanpun harganya cukup mahal. Salah satu obat yang mereka gunakan adalah Phenothiazin. Phenothiazin sangat efektif mengatasi cacing sekum (*Heterakis gallinae*) dan *Ascaridia sp.* pada unggas, tetapi phenothiazin tidak efektif untuk membasmi cacing pita (Ramli, 2008)

Selain itu, usaha penanggulangan akibat yang ditimbulkan oleh infeksi cacing *Ascaridia galli* dapat juga diberikan dengan menggunakan pengobatan alternatif yang berasal dari tumbuhan, salah satu diantaranya dikenal sebagai obat tradisional. Obat tradisional adalah obat jadi atau obat berbungkus yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral dan atau sediaan galeniknya atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang belum mempunyai data klinis dan dipergunakan dalam usaha pengobatan berdasarkan pengalaman (Pramono, 2006).

Banyak tumbuhan di Indonesia yang berpotensi sebagai obat alternatif, salah satu pengobatan alternatif dari tumbuhan yang mempunyai khasiat sebagai *anthelmintika* adalah rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb), karena temu hitam selain memiliki bahan yang efektif untuk melawan infestasi cacing juga relatif mudah didapat walaupun didaerah terpencil sekalipun, serta harganya jauh lebih murah bila dibandingkan obat modern (Syamsul hidayat dan Hutapea, 1991; Oemijati, 1994).

Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang juga family *Zingiberaceae* seperti tanaman temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) selain penggunaannya sebagai bahan baku industri seperti minuman dan pewarna alami, manfaat lain adalah dapat meningkatkan sistim imunitas tubuh (*imunostimulator*), berkhasiat *antibakteri*, *antidiabetik*, *antihepatotoksik*, *antiinflamasi*, *antioksidan*, *antitumor*, *diuretika*, *depresan*, dan *hipolipodemik* (Purnomowati dan Yoganingrum, 1997; Raharjo dan Rostiana, 2003).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka permasalahan yang timbul adalah :

Apakah pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) pada ayam penderita Ascariasis dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap jumlah leukosit dalam sirkulasi darah ayam penderita ?

1.3 Landasan Teori

Keberhasilan dunia peternakan, terutama peternakan unggas tergantung pada manajemen serta pengendalian penyakit yang baik serta berkesinambungan. Contohnya dalam pengendalian penyakit cacingan.

Infeksi cacing menyebabkan leukositosis. Sering leukositosis ini tidak bersifat absolut. Peningkatan jumlah leukosit pada infeksi cacing disebabkan oleh meningkatnya salah satu komponen daripada sel darah putih yaitu sel eosinofil (Pribadi, 1980). Infeksi parasit dapat mengakibatkan penurunan sel darah merah dan terjadi *eosinofilia* (Duncan *et al*, 1978).

Temu giring (*Curcuma heyneana*) dan temu hitam (*C. aeruginosa* Roxb.) merupakan tanaman obat dari satu famili *Zingiberaceae*. Namun, keduanya mempunyai kandungan kimia berbeda, terutama kadar minyak atsirinya. Didalam rimpang kedua tanaman ini terdapat zat aktif yang dapat membunuh cacing *Ascaris* seperti halnya piperazin sitrat (obat sintesis yang paling efektif memberantas cacing *Ascaris* (Widowati, 2008).

Zainuddin dan Wibawan (2008) mengemukakan bahwa kenyataan di lapangan, temu ireng telah diaplikasikan oleh para peternak ayam untuk mengatasi penyakit cacingan, dimana pemberiannya 100 g /liter air minum. Pemberian obat tradisional ini dimaksudkan

agar daya tahan tubuh ayam meningkat, sehingga mencegah penyakit pencernaan dan cacing. Salah satu senyawa di dalam temu hitam yang dapat berpengaruh pada imunitas tubuh tersebut adalah *kurkuminoid*.

Senyawa aktif *kurkumin* juga mempunyai aktivitas sebagai *antioksidan* dan *imunostimulator/imunomodulator*. Aktivitas *imunomodulator* dari *kurkumin* dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Syukur, 2006). Wardini dan Prakoso (1999) juga mengungkapkan bahwa *kurkumin* atau *kurkuminoid* adalah suatu campuran yang kompleks berwarna kuning oranye yang diisolasi dari tanaman dan memiliki efek terapeutik, terdapat pada berbagai jenis *Curcuma sp.*

Temu hitam termasuk dalam *Curcuma sp.* Rimpang temu hitam mengandung komposisi zat-zat aktif sebagai berikut: *minyak atsiri, tanin, kurkumol, kurkumenol, isokurkumenol, kurzerenon, kurdion, kurkumalakton, germakron, a, β , g-elemene, linderazulene, kurkumin, demethoxykurkumin, bisdemethoxykurkumin*. (Widowati, 2008). Tetapi, dari komposisi tersebut masih belum teruji fungsi masing-masing zat-zat aktifnya. Karena itu penelitian ini dilakukan untuk membuktikan salah satu fungsi kandungan zat aktif tersebut terhadap jumlah leukosit dengan cara menghitung total jumlah leukosit menggunakan metode *Rees-Ecker*.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

A. Tujuan Umum : Membuktikan adanya pengaruh terhadap jumlah leukosit pada ayam penderita *Ascaridiasis* setelah diberi ekstrak etanol rimpang temu hitam dosis 100 mg/ekor/hari, 200 mg/ekor/hari, 300 mg/ekor/hari dan 400 mg/ekor/hari melalui jumlah dan hitung total leukosit (eosinofil, heterofil, basofil, limfosit, monosit). Karena itu tujuan penelitian ini difokuskan pada :

- B. Tujuan Khusus :
1. Menentukan pengaruh *crude* ekstrak etanol rimpang temu hitam terhadap jumlah leukosit.
 2. Menganalisa seberapa jauh pengaruh terhadap jumlah leukosit tersebut.

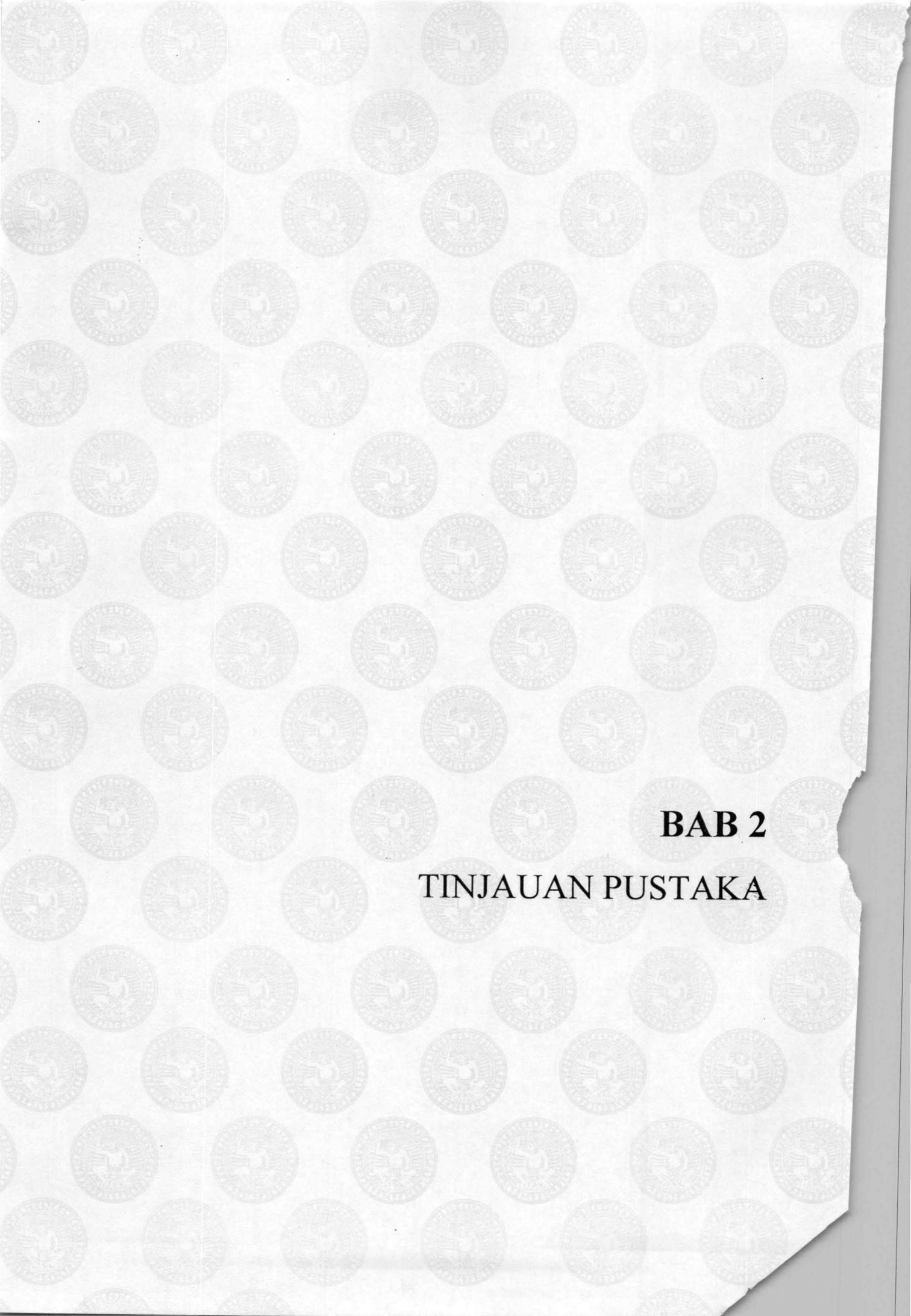
1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas, terutama para peternak unggas di Indonesia tentang efek samping penggunaan rimpang temu hitam sebagai salah satu obat alternatif untuk pencegahan dan pengendalian infeksi cacing *Ascaridia galli* dalam upaya peningkatan kesehatan ayam untuk menghasilkan produksi yang maksimal.

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas akan didapatkan hipotesis :

Terdapat pengaruh terhadap jumlah leukosit pada ayam yang terinfeksi *Ascaridiasis* yang diberi ekstrak etanol rimpang temu hitam dosis 100 mg/ekor/hari, 200 mg/ekor/hari, 300 mg/ekor/hari dan 400 mg/ekor/hari.



BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

Temu hitam terdapat di Burma, Kamboja, Indocina, dan menyebar sampai ke pulau Jawa. Selain ditanam di pekarangan atau di perkebunan, temu ireng juga banyak ditemukan tumbuh liar di hutan jati, padang rumput, atau di ladang pada ketinggian 400-750 m dpl (Dalimartha, 2005).

Tanaman ini belum dibudidayakan secara teratur. Sering ditanam penduduk sebagai tanaman pekarangan (Prawirosujanto dkk, 1978).

Bagian tanaman yang digunakan sebagai obat adalah rimpangnya. Cuci rimpang, lalu potong-potong, baru keringkan dengan cara diangin-anginkan agar kandungan minyak atsirinya tidak terlalu berkurang (Dalimartha, 2005).

2.1.1 Klasifikasi Temu hitam

Menurut Syamsul Hidayat dan Hutapea (1991) pengklasifikasian tumbuhan ini secara taksonomi mempunyai sistematika sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledone
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.

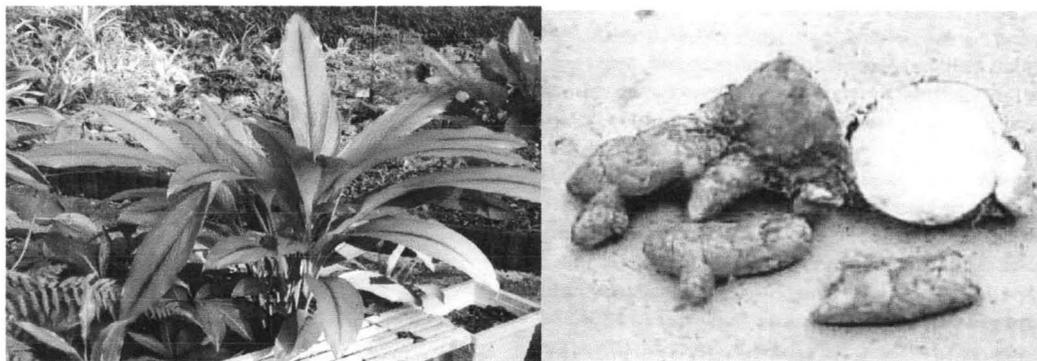
Nama tumbuhan ini dibedakan pada beberapa daerah, Dalimartha (2005) menyebutkan sebagai berikut :

Nama Daerah : Temu erang, temu hitam (Melayu), koneng hideung (Sunda), temu ireng (Jawa), temo ereng (Madura), temu ireng (Bali), tamu leteng (Makassar), temu lotong (Bugis).

Nama asing : Ezhu (C)

2.1.2 Morfologi tumbuhan temu hitam

Tanaman tahunan ini mempunyai tinggi 1–2 m, berbatang semu yang tersusun atas kumpulan pelepah daun, berwarna hijau atau coklat gelap. Daun tunggal, bertangkai panjang, 2–9 helai. Helai daun bentuknya bundar memanjang sampai lanset, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, warnanya hijau tua dengan sisi kiri - kanan ibu tulang daun terdapat semacam pita memanjang berwarna merah gelap atau lembayung, panjang 31–84 cm, lebar 10–18 cm. Bunganya majemuk berbentuk bulir yang tandannya keluar langsung dari rimpang, panjang tandan 20–25 cm, bunga mekar secara bergiliran dari kantong-kantong daun pelindung yang besar, pangkal daun pelindung berwarna putih, ujung daun pelindung berwarna ungu kemerahan. Mahkota bunga berwarna kuning, rimpangnya cukup besar dan merupakan umbi batang. Rimpang juga bercabang. Jika rimpang tua dibelah, tampak lingkaran berwarna biru kehitaman di bagian luarnya. Rimpang temu hitam mempunyai aroma yang khas. (Dalimartha, 2005).



Gambar 2.1. : Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dan rimpangnya (GingersRus, 2006; IPTEK Net, 2008).

2.1.3 Kandungan kimia rimpang temu hitam

Rimpang temu hitam mengandung *minyak atsiri, tanin, kurkumol, kurkumenol, isokurkumenol, kurzerenon, kurdion, kurkumalakton, germakron, α , β , g-elemene, linderazulen, kurkumin, demethoxykurkumin, bisdemethoxykurkumin* (Dalimartha, 2005).

2.1.4 Fungsi masing-masing zat-zat kimia pada temu hitam

Minyak atsiri dari temu hitam adalah cairan kental kuning emas yang mengandung : *monoterpen dan sesquiterpen* (Windono dkk, 2002). *Minyak atsiri* dari beberapa tumbuhan bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur sehingga dapat dipergunakan sebagai bahan pengawet pada makanan dan sebagai antibiotik alami (Aureli 1992; Gundidza *et al*, 1993).

Tannin yang terdapat pada tanaman berfungsi untuk menghambat penyerapan mineral besi (Dufresne dan Farnword,2000).

Menurut Windono dkk (2002) zat aktif seperti *kurzerenon, germakron, dan germakron epoksida* menunjukkan perpanjangan waktu tidur heksobarbital pada

hewan. Sedangkan, zat aktif *kurkumin* yang terkandung dalam rimpang *curcuma sp.* terbukti memiliki efek antiradang. Aktifitas *antiradang kurkumin* pertama kali dilaporkan Grieve pada tahun 1971 bahwa zat ini diindikasikan sebagai *antioksidan*. Selain itu, menurut Gi-Young Kim (2005) zat ini juga dapat mempengaruhi ekspresi molekul permukaan dan produksi sitokin dalam sistem imun.

2.1.5 Khasiat dan kegunaan temu hitam

Dalimartha (2005) mengungkapkan bahwa tanaman temu hitam dapat berkhasiat sebagai peluruh kentut (*karminatif*), peluruh dahak, meningkatkan nafsu makan, *anthelmintik*, dan memulihkan badan yang kurang segar setelah nifas.

2.1.6 Efek farmakologis dan hasil penelitian

Beberapa penelitian tentang temu hitam telah dilakukan. Diantaranya, berdasarkan penelitian daya membunuh cacing (*anthelmintik*) rimpang temu hitam pada cacing askaris babi secara *in vitro*, ternyata daya *anthelmintik* minyak atsirinya paling kuat dibandingkan dengan perasan ataupun infus temu hitam. Telah dilakukan juga penelitian daya *anthelmintik* rebusan rimpang temu hitam terhadap *Ascaridia galli* *in vitro*. Ternyata, rebusan irisan temu hitam dapat mematikan cacing dalam waktu 7–17 jam, sediaan rebusan parutan dalam waktu 11–20 jam, dan sediaan serbuk dalam waktu 11–25 jam.

Hasil penelitian pengaruh perasan rimpang temu hitam terhadap cacing askaris babi *in vitro* dan kontraksi usus halus (jejunum) marmut terpisah *in vitro* seperti berikut. Perasan rimpang dapat membunuh *Askaris* babi seperti piperasin sitrat.

Beningan rimpang dapat menekan amplitudo kontraksi spontan usus kelinci (Dalimartha, 2005).

2.2 Tinjauan Tentang *Ascaridia galli*

2.2.1 *Ascaridia galli*

Cacing *Ascaridia galli* menyerang usus halus ayam, kalkun, angsa, ayam hutan, dan berbagai burung liar. Penyebarannya luas di seluruh wilayah dan penularan dari satu ternak ke ternak lainnya dapat terjadi karena memakan makanan atau minum air yang tercemar oleh telur infeksi (Permin, 1997).

2.2.2 Klasifikasi *Ascaridia galli*

Menurut Soulsby (1982) cacing *Ascaridia galli* mempunyai sinonim *A. lineata* dan *A. perspiculum* yang diklasifikasikan ke dalam :

Phylum	: Nematelminthes
Klass	: Nematoda
Sub Klass	: Phasmidia
Ordo	: Ascaridida
Sub Ordo	: Ascaridoidea
Famili	: Ascaridae
Genus	: <i>Ascaridia</i>
Spesies	: <i>Ascaridia galli</i>

2.2.3 .Morfologi *Ascaridia galli*

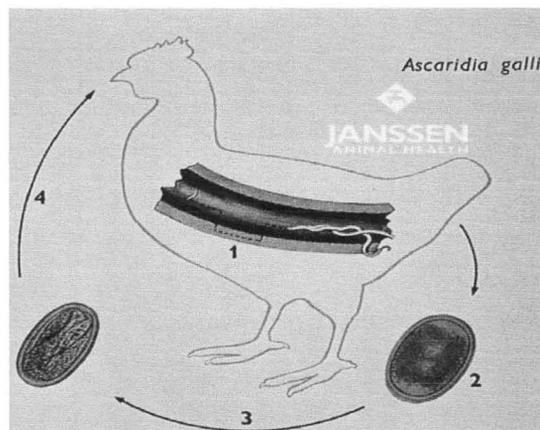
Cacing *Ascaridia galli* merupakan cacing berbentuk gilik, tebal, memanjang dan berwarna putih kekuning-kuningan dan dikenal sebagai cacing gelang (Soulsby, 1982). Pada bagian anterior terdapat sebuah mulut yang dilengkapi dengan tiga buah bibir, satu bibir terdapat pada dorsal dan dua lainnya pada lateroventral. Pada kedua sisi terdapat sayap yang sempit dan membentang sepanjang tubuh (Calneck 1997). Permin dan Hansen (1998) mengatakan bahwa cacing jantan dewasa berukuran panjang 51 – 76 mm dan cacing betina dewasa 72 – 116 mm. Cacing jantan memiliki preanal sucker dan dua spicula berukuran panjang 1 – 2,4 mm, sedangkan cacing betina memiliki vulva dipertengahan tubuh. Telur *A.galli* berbentuk oval, berkerabang lembut, dan berukuran 73–92 x 45–57 μ m.

2.2.4 Siklus hidup *Ascaridia galli*

Telur *Ascaridia galli* yang dikeluarkan bersama tinja induk semang akan berkembang menjadi stadium infeksi (telur infeksi) dalam waktu \pm 10 hari di udara terbuka. Perkembangan selanjutnya telur menjadi larva stadium II yang sangat kuat (resisten) dalam kondisi yang tidak menguntungkan. Pada stadium II larva mampu bertahan hidup lebih dari 3 bulan di tempat yang teduh/terlindung, namun akan segera mati bila keadaan kering dan cuaca panas sekalipun larva berada dalam tanah sedalam \pm 15 cm.

Infeksi dapat terjadi dengan cara termakannya telur infeksi bersama pakan atau minum, dapat juga melalui cacing tanah yang menelan telur *A.galli* kemudian ayam memakan cacing tanah tersebut (secara mekanis cacing tanah menularkan pada ayam) (Ruff dan Norton, 1997)

Telur cacing yang termakan oleh induk semang akan menetas menjadi larva stadium III di dalam usus pada hari ke-8 setelah infeksi, kemudian larva hidup bebas di dalam usus. Pada hari ke 9-10 larva stadium III akan menembus mukosa usus kemudian berkembang menjadi larva stadium IV pada hari ke 14-15 setelah infeksi. Hari ke 17-18 cacing muda akan keluar dari mukosa usus menuju lumen usus dan menjadi dewasa pada minggu ke 6-8. Pada hari ke ± 100 , telur *Ascaridia galli* sudah dapat ditemukan dalam feses induk semang. Pada kasus infeksi yang berat, insidental dapat terjadi larva menembus mukosa usus terlalu dalam dan ikut aliran darah menuju hepar kemudian ke paru-paru, namun kejadian ini jarang sekali (Koesdarto, 2007).



Gambar 2.2. Siklus hidup cacing *Ascaridia galli* di dalam tubuh ayam (Permin, 1997).

Keterangan gambar :

1. Setelah telur cacing *A.galli* infeksiif masuk ke dalam usus kecil ayam bagian anterior, maka telur menetas menjadi larva stadium III dalam waktu 2-24 jam dan menjadi dewasa pada minggu ke 6-8 setelah infeksi, kemudian cacing dewasa siap untuk bertelur.
2. Telur keluar bersama feses ayam.

3. Pembentukan embrio *Ascaridia galli* terjadi di lingkungan di luar tubuh ayam dibawah kondisi yang optimal (kelembaban & suhu yang sesuai), kemudian telur menjadi infeksi dalam waktu 3 minggu.
4. Telur infeksi telah berisi larva stadium II. Telur infeksi mulai bisa menginfeksi ayam lainnya.

2.2.5 Patogenesis dan gejala klinis infeksi *Ascaridia galli*

Kepekaan ayam terhadap cacing *Ascaridia galli* dipengaruhi berbagai macam faktor seperti umur ayam (Soulsby, 1982); ukuran dosis infeksi (Ikeme, 1971), jenis ayam (Permin dan Ranvig, 2001); tipe kandang (Soulsby, 1982); nutrisi (Permin et al, 1998); sistem pemeliharaan (Permin dan Ranvig, 2001) dan cuaca (Kumari dan Thakur, 1999).

Patogenesis cacing *Ascaridia galli* dimulai dari telur yang termakan induk semang yang menetas dan kemudian berkembang menjadi larva stadium III. Selanjutnya larva menembus mukosa intestine, penetrasi larva ini dapat mengakibatkan enteritis hemorhagis dan kerusakan dinding usus, sedang pada ayam muda dapat mengakibatkan anemia, diare, nafsu makan turun serta haus yang berlebihan (Koesdarto, 2007).

Pada infeksi yang berat, *Ascaridia galli* akan menyebabkan penyumbatan baik sebagian maupun keseluruhan dari duodenum atau jejunum, yang diikuti dengan kematian (Ikeme, 1971; Ramadan & Abou Znada, 1991).

Cacing dewasa mungkin bermigrasi melewati lumen usus dan kloaka yang nantinya akan berakhir pada oviduk, di tempat ini cacing dewasa akan masuk ke dalam telur ayam (Ackert, 1938; Reid et al, 1973).

2.2.6 Pencegahan dan pengobatan infeksi *Ascaridia galli*

Menurut Subekti (2005) pencegahan infeksi *Ascaridia galli* dapat dilakukan dengan pemeliharaan secara terpisah ayam muda dan ayam dewasa, litter kandang dijaga kebersihannya termasuk juga peralatan kandang (peralatan pakan dan minum), dan lantai kandang sebaiknya tidak dari tanah.

Mengingat bahwa lalat dapat bertindak sebagai vektor mekanik dari telur *Ascaridia galli*, maka pengendalian terbaik terhadap cacing tersebut adalah kombinasi antara pengobatan preventif dan manajemen kandang yang optimal, meliputi sanitasi/disinfeksi ketat dan pembasmian lalat (Daman Suska, 2008).

Pengobatan untuk kasus *Ascaridiasis* dapat dilakukan secara berkala setiap 2 bulan sekali, obat-obatan yang digunakan seperti worm-x, pemberiannya dengan cara memasukkan 10 g worm-x ke dalam 1 liter air minum untuk 100 ekor, untuk ayam dewasa pemberiannya 20 g worm-x ke dalam 1 liter air minum. Satu jam sebelum pemberian obat cacing, ayam dipuaskan terlebih dahulu (Zainuddin dan Wibawan, 2008).

2.3 Tinjauan tentang leukosit unggas

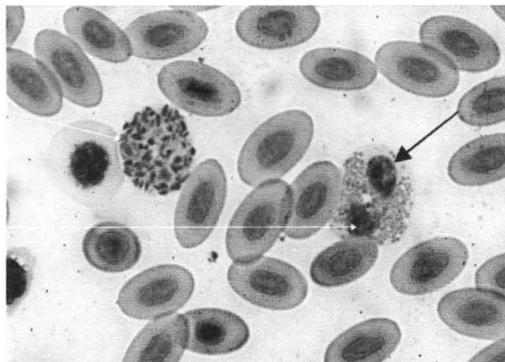
2.3.1 Leukosit unggas

Leukosit pada darah unggas meliputi limfosit, monosit, dan granulosit. Granulosit dibedakan lagi menjadi heterofil, eosinofil, dan basofil.

2.3.1.1 Heterofil

Heterofil merupakan granulosit terbanyak pada unggas. Pada heterofil yang matang sitoplasmanya tampak tidak berwarna dan mengandung granula

eosinofilik. Nukleusnya berlobus (biasanya dua sampai tiga lobus) dengan butir kromatin yang mengumpul dan berwarna ungu.



Gambar 2.4. Heterofil normal pada unggas (panah) dengan pewarnaan Wright's stain. Perbesaran 500 kali (Phalen, 2007).

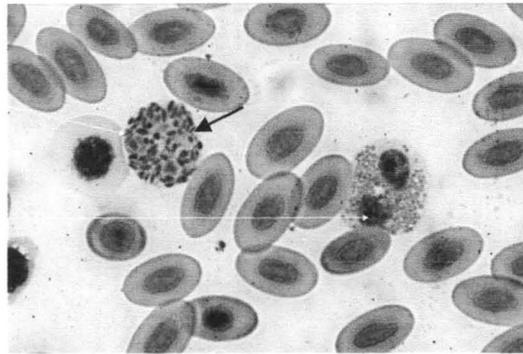
Fungsi heterofil sama dengan neutrofil pada mammalia. Berperan utama pada proses inflamasi dan bersifat fagositik. Granula sitoplasma heterofil mengandung enzim lisozim dan protein yang dibutuhkan untuk proses bakterisidal (Bijanti, 2007).

2.3.1.2 Eosinofil

Eosinofil unggas biasanya berbentuk melingkar tetapi memiliki lebih ketidakteraturan bentuk dibanding heterofil. Sitoplasmanya berwarna jernih, kebiruan (sangat kontras perbedaannya dengan sitoplasma pada heterofil yang tidak berwarna) dan mengandung granul-granul eosinofilik (bentuknya oval sampai tidak teratur pada beberapa spesies).

Pada kebanyakan jenis burung, granul dari eosinofil punya pewarnaan yang berbeda kualitasnya daripada granul heterofil di daerah lapisan darah yang sama. Granul eosinofil biasanya terlihat lebih terang dibanding granul heterofil. Hal ini dikarenakan adanya konsentrasi yang tinggi dari Arginin (Campbell, 1995).

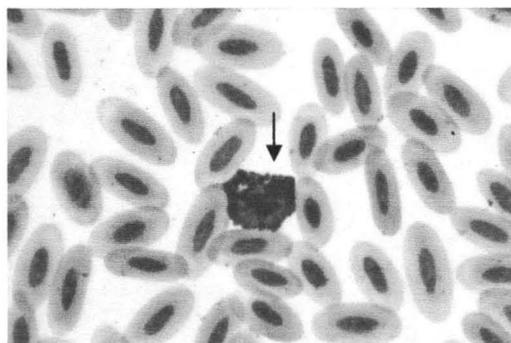
Sementara itu, Rantam (2001) menyebutkan bahwa eosinofil mempunyai reseptor bagi immunoglobulin E (IgE) dan mampu mengikat partikel-partikel yang dilapisi IgE. Eosinofil lebih efektif dalam merusak agen-agen infeksius yang menstimulir produksi IgE, misalnya parasit cacing.



Gambar 2.5. Eosinofil normal pada unggas (panah) dengan pewarnaan Wright's stain. Perbesaran 500 kali (Phalen, 2007).

2.3.1.3 Basofil

Basofil unggas berbentuk bulat melingkar dengan nukleus yang bulat juga. Nukleusnya terletak di tengah dan berwarna biru terang. Granul-granul sitoplasmanya berwarna lebih basofilik dan sering tertutup oleh nukleusnya (Gunnarson, 2007). Dan mungkin bisa dipisah dengan menggunakan pewarnaan Wright (Campbell, 1995).



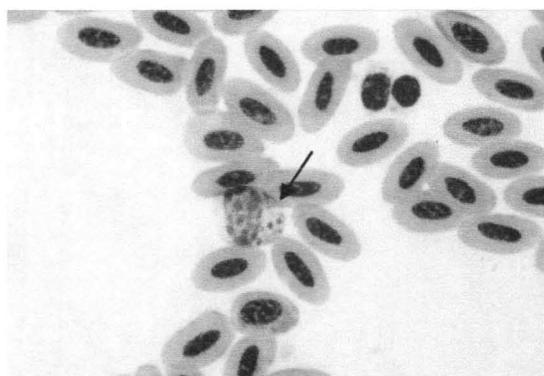
Gambar 2.6. Basofil normal pada unggas (panah) dengan pewarnaan Wright's stain. Perbesaran 500 kali (Phalen, 2007).

2.3.1.4 Limfosit dan monosit

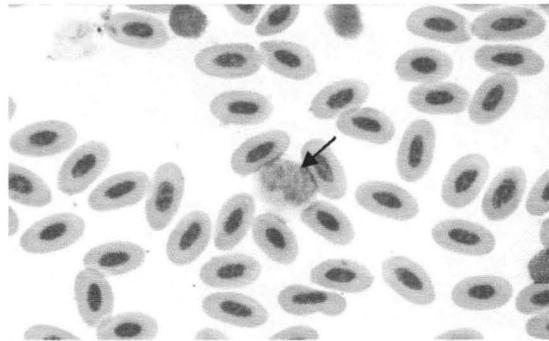
Limfosit unggas berbentuk bulat dengan inti yang besar. Limfosit yang abnormal dibedakan menjadi reaktif atau bentuk blast limfosit (Bijanti, 2007). Menurut Gunnarson (2007) sitoplasma dari limfosit reaktif berwarna biru gelap yang berarti menggambarkan adanya sintesis protein. Nukleusnya sering terlihat imatur.

Adanya bentukan ini menggambarkan terjadinya proses anaplastik atau neoplastik, tetapi kemungkinan juga hasil dari stimulasi imunologis (Bijanti, 2007).

Monosit unggas merupakan sel leukosit terbesar, dengan bentuk yang bervariasi mulai dari bulat sampai amuboid. Nukleusnya berbentuk bulat sampai bilobus dan sering mempunyai retikular kromatin. Kumpulan kromatin akan terlihat dalam jumlah sedikit. Sitoplasma dari monosit berwarna biru keabu-abuan dengan adanya granular dan biasanya berisi vakuola (Campbell, 2007).



Gambar 2.7. Limfosit normal pada burung merpati (panah) dengan pewarnaan Wright's stain. Perbesaran 500 kali (Phalen, 2007).



Gambar 2.8. Monosit normal pada unggas (panah) dengan pewarnaan Wright's stain. Perbesaran 500 kali (Phalen, 2007).

2.4 Harga Normal Jumlah Leukosit Total pada Ayam

Tabel 2.1 Jumlah Leukosit total pada ayam normal (Nemi, 2000)

	kisaran	Rata-rata
Total Leukosit/μl	12.000 - 30.000	12.000
- Heterofil (band)	Jarang	-
- Heterofil (dewasa)	3.000 - 6.000	4.500
- Limfosit	7.000 - 17.500	14.000
- Monosit	150 - 2.000	1.500
- Eosinofil	0-1.000	400
- Basofil	Jarang	-

2.5 Peningkatan jumlah leukosit (Leukositosis)

Peningkatan jumlah leukosit lebih sering dikenal dengan leukositosis, merupakan suatu respon fisiologis untuk melindungi tubuh dari serangan mikroorganisme. Peningkatan ini dapat terjadi pada berbagai jenis leukosit. Peningkatan jumlah neutrofil absolut lebih sering dibandingkan dengan peningkatan jenis leukosit lainnya. Peningkatan neutrofil adalah sebagai konsekuensi kebutuhan jaringan akan sel neutrofil. *Neutrofilia* dapat disebabkan oleh kortikosteroid (*neutrofilia* karena stress) : disini akan terjadi peningkatan jumlah neutrofil terutama di CNP (*Circulating Neutrophil Pool*) (Bijanti, 2007). Lain halnya dengan leukositosis yang disebabkan oleh penyakit inflamasi, yang biasanya dikaitkan dengan *heterofilia* (peningkatan jumlah heterofil). Leukositosis dan *heterofilia* pada unggas sering dikaitkan dengan penyakit infeksius yang disebabkan oleh bakteri, jamur, *Chlamydia*, parasit dan mikobakteri (Campbell, 2005).

Selain itu Campbell (2005) juga menyebutkan bahwa adanya parasit dalam saluran pencernaan diperkirakan dapat menyebabkan terjadinya *eosinofilia* pada unggas, *eosinofilia* secara absolut dapat disebabkan oleh : infestasi parasit (terutama parasit yang dapat menembus atau masuk jaringan tubuh), dimana akan terjadi proses sensitisasi, misalnya : *filariasis*, *echinococcus*, *fasciola*, *trichinosis*, larva *ascaris*, alergi, tumor ovarium, pada keganasan dan gangguan mieloproliferatif (Bijanti, 2007). Adapun, suatu penelitian memperkirakan bahwa eosinofil unggas akan berpartisipasi pada reaksi hipersensitifitas tipe IV (Campbell,2005). Sedangkan, Bijanti (2007) mengungkapkan bahwa *basofilia*

jarang terjadi pada hewan, kalau ada disertai dengan *eosinofilia* dan *leukemia mieloid kronik*.

Leukositosis yang disebabkan limfositosis mungkin akan terjadi dengan adanya stimulasi antigen (seperti infeksi kronis) atau *limfositik leukemia*. Keberadaan jumlah limfosit yang banyak diindikasikan dari stimulasi antigenik dan diperkirakan karena adanya infeksi kronis atau penyakit virus (Campbell, 2005).

Monositosis terjadi selama kebutuhan jaringan untuk proses fagositosis makromolekuler meningkat dan dapat ditemukan pada fase penyembuhan infeksi. Peningkatan jumlah monosit dapat disebabkan oleh : 1). Penyakit kronis, keadaan ini berhubungan dengan imunitas seluler dimana respon ini berjalan akut atau kronis, 2). anemia hemolitik, 3). *listeriosis dan erysipelas* (pada babi), 4). *monositik leukemia* pada anjing, 5). Hormon kortikosteroid juga dapat menyebabkan peningkatan jumlah monosit pada anjing dan kucing tetapi jarang pada spesies hewan lain (Bijanti, 2007).

2.6 Peran temu hitam terhadap peningkatan leukosit

Temu hitam merupakan obat alam, juga termasuk obat nabati yang dapat mempengaruhi mekanisme pertahanan atau sistem imunitas tubuh, yang meliputi sistem imunitas spesifik maupun non spesifik (Hargono, 1996). Temu hitam termasuk ke dalam famili *curcuma sp.* Didalam rimpang tanaman ini, terkandung suatu zat alami yang dikenal dengan *kurkumin*. *Kurkumin* merupakan zat yang memiliki aktivitas biologi (zat berkhasiat), yang terdapat pada berbagai jenis *Curcuma sp.* (Chen dan Fang, 1997). *Kurkumin* bersifat *imunomodulator* (Syukur, 2006). *Imunomodulator* adalah obat yang dapat mengembalikan dan memperbaiki

sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan yang fungsinya berlebihan. Dalam arti lain, temu hitam secara tidak langsung dapat menimbulkan terjadinya peningkatan respon imun sehingga dapat menyebabkan peningkatan leukosit.

2.7 Peranan *ascariasis* terhadap leukositosis

Ascariasis merupakan penyakit cacingan pada ayam. Sehingga respon imun yang terjadi melibatkan eosinofil. Penyakit ini menimbulkan terjadinya salah satu bentuk leukositosis yaitu *eosinofilia*.

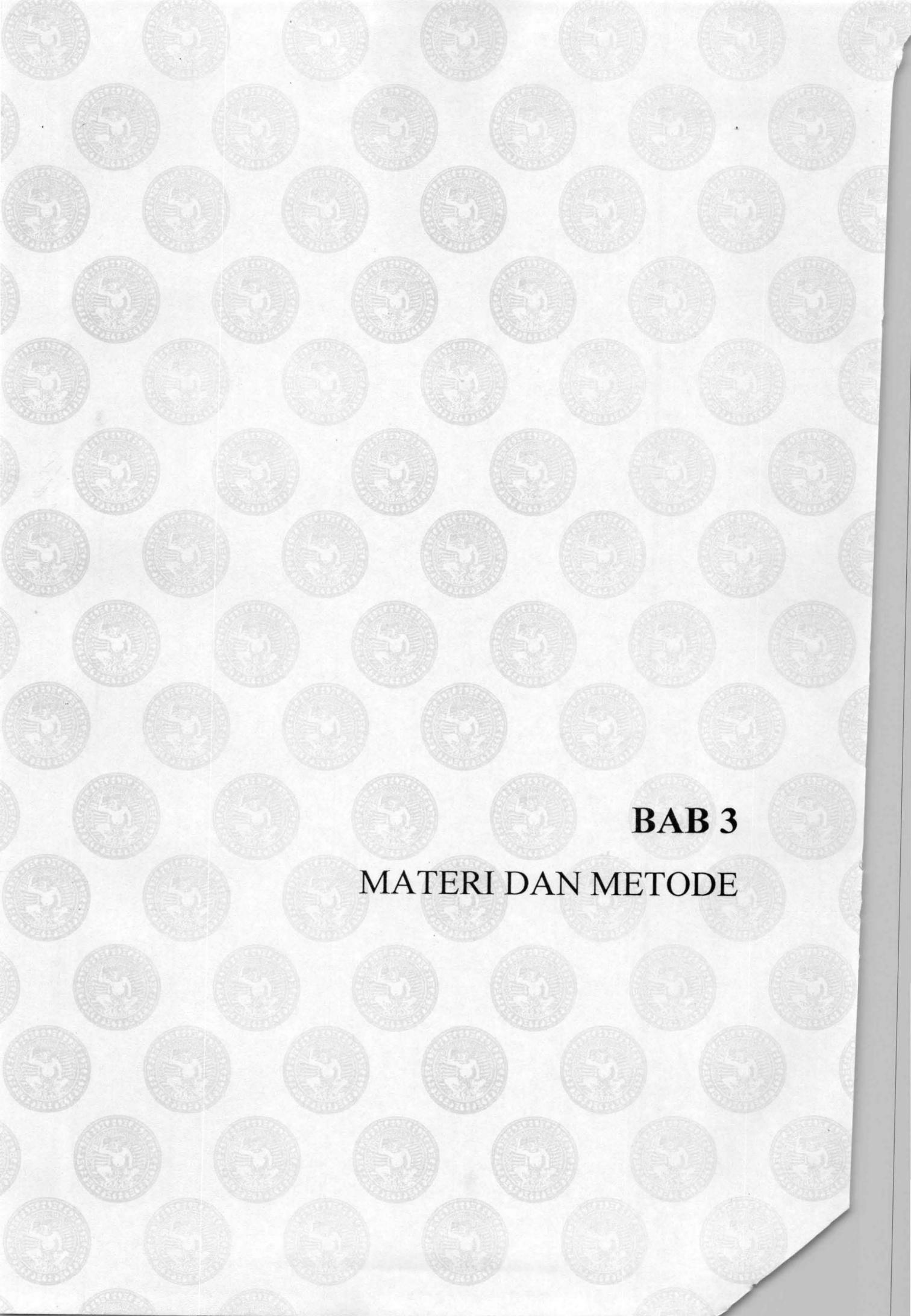
2.7.1 Peranan eosinofil pada kekebalan terhadap cacing

Sel darah putih ini berfungsi dalam pertahanan terhadap jenis-jenis tertentu dari agen-agen infeksius. Eosinofil mempunyai reseptor bagi immunoglobulin E (IgE) dan mampu mengikat partikel-partikel yang dilapisi IgE. Eosinofil lebih efektif dalam merusak agen-agen infeksius yang menstimulir produksi IgE, misalnya parasit cacing. Tetapi pada kenyataannya parasit cacing lebih tahan terhadap enzim-enzim lisosomal yang terdapat pada neutrofil dan makrofag. Walaupun parasit ini sering juga mati karena adanya protein-protein granula pada eosinofil. Pertumbuhan dan diferensiasi eosinofil distimulir oleh sitokin yang disekresi oleh sel T-helper, yaitu IL-5 (Rantam, 2001).

Tizard (1996) menyatakan bahwa sel eosinofil diproduksi dalam sum-sum tulang dibawah pengaruh IL-3 dan IL-5 yang dihasilkan oleh Th-2 dan sel mast. Th-2 menanggapi mobilisasi sel eosinofil dan dalam waktu yang bersamaan mereka merangsang tanggap kebal IgE. Sel eosinofil secara spesifik ditarik ke situs degranulasi sel mast oleh factor kemotaktik eosinofil, leukotrin B₄, histamine, *platelet activating factor* (PAF), ekstrak cacing, komplemen (C5a) dan

produk asam imidazole asetat pecahan histamine. Sel eosinofil dapat juga diaktivasi oleh histamine dan leukotrin B₄.

Selama ini sel eosinofil yang merupakan salah satu sel fagosit diduga sebagai sel efektor yang paling efektif dalam membunuh larva cacing. Menurut Tizard (2000) mekanisme respon imun yang mendasari pembunuhan ini adalah sebagai berikut, sel eosinofil melalui reseptor Fc berikatan pada kompleks antibodi yang bertindak sebagai opsonin melekat pada permukaan sel sasaran yang terinfeksi. Pengikatan antibodi pada reseptor Fc merangsang fagosit untuk memproduksi lebih banyak leukotrien dan prostaglandin, yang merupakan molekul-molekul yang berperan pada respon inflamasi. Sel efektor yang telah terikat kuat pada membran sel sasaran menjadi teraktivasi dan akhirnya dapat menghancurkan sel sasaran.



BAB 3
MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai bulan November tahun 2008. Menggunakan tempat di Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk pembuatan ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.), Departemen Parasitologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk persiapan bahan infeksi berupa telur cacing *Ascaridia galli* dan pemeriksaan feses, kandang coba (Kandang A4) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk perlakuan pada hewan coba, dan Departemen Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk penghitungan jumlah leukosit ayam secara keseluruhan.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah ayam petelur ISA Brown betina sebanyak 25 ekor berumur 10 minggu dengan berat rata-rata 820 gram. Hewan coba yang dipergunakan dalam keadaan sehat.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari rimpang temu hitam yang diperoleh dari pasar Wonokromo di Surabaya. Bagian dari tanaman tersebut diambil secara acak dengan kondisi yang masih segar lalu diproses hingga mendapatkan ekstrak etanolnya. Ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma*

aeruginosa Roxb.) menggunakan empat macam dosis yaitu 100, 200, 300, dan 400 mg/ekor/hari.

Telur *Ascaridia galli* yang infeksi sebagai bahan infeksi yang berasal dari usus halus ayam, dan bahan untuk ekstraksi simplisia (pelarut ethanol 96%)

- Untuk penghitungan leukosit yang diperlukan adalah bahan EDTA sebagai Anti koagulan sewaktu pengambilan darah ayam. Sedangkan, *Rees Ecker* sebagai larutan untuk memperjelas gambaran leukosit ketika penghitungannya.

3.2.3 Alat Penelitian

Peralatan untuk pengambilan cacing *Ascaridia galli* : *Scalpel*; gunting bedah; dan pinset.

Peralatan untuk persiapan telur cacing : Cawan petri; inkubator; mikroskop binokuler (Olympus® CX 21 *Microscope Digital Camera System*).

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam dan larutan CMC Na 1% meliputi : mesin penggiling; corong penyaring; kertas saring; oven ; gelas ukur; perkolator dan rotavapor; gelas beker berukuran 50 ml, 100 ml, 250 ml, dan 500 ml; timbangan merk Danver Instrument untuk menimbang ekstrak ethanol rimpang temu hitam; botol inaktinis untuk menyimpan ekstrak etanol rimpang temu ireng yang merupakan hasil pembuatan suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam dan CMC Na 1%; pemanas air; mortir; stamper; sendok plastik; batang pengaduk (spatula).

Peralatan yang digunakan untuk penghitungan leukosit meliputi : seperangkat gelas tabung berjumlah 25 buah, pipet leukosit dan *vacuum bloodnya*, kamar hitung *Improved Neubauer spencer brightline 1/10 mm deep*, gelas obyek, kaca penutup, dan mikroskop binokuler (Olympus® CX 21 *Microscope Digital Camera System*) dan counter.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Penetapan Dosis Obat

Menurut Thomson (1995) dalam Sujoni (2002) untuk memperoleh penyebaran data yang baik perlu ditentukan faktor penyebaran dosis yang menyebabkan kematian 0% sampai 100%. Faktor penyebaran selanjutnya dapat digunakan untuk menentukan interval dosis yang digunakan dalam penelitian ini. Faktor penyebaran dosis dapat dihitung dengan rumus sebagai:

$$F = \sqrt[r]{I}$$

F = Faktor penyebaran

r = N (banyaknya peringkat dosis) – 1

$$I = \frac{\text{dosis terkecil yang menyebabkan kematian 100\%}}{\text{dosis terbesar yang menyebabkan kematian 0\%}}$$

Berdasarkan atas pengetahuan tersebut maka dalam penelitian ini dosis yang dipergunakan adalah 100 mg/ekor, 200 mg/ekor, 300 mg/ekor, dan 400 mg/ekor.

3.3.2 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 25 ekor ayam petelur betina yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan 5 ulangan. Sebelum diberi perlakuan ayam diadaptasikan selama 2 minggu, dengan tujuan agar ayam dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Kemudian dilakukan pemeriksaan feses terhadap hewan coba untuk memastikan bahwa hewan coba tidak terinfeksi cacing.

3.3.3 Penyiapan Telur Cacing *Ascaridia galli* Yang Infektif

Telur infektif cacing *Ascaridia galli* sebagai bahan inokuler didapat dari cacing betina yang berasal dari usus ayam buras yang menderita *Ascaridiasis*.

Cacing betina yang ditemukan diletakkan pada cawan petri yang berisi larutan NaCl fisiologis, kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam. Setelah telur cacing diperoleh, dicuci dengan NaCl fisiologis sampai terbebas dari kotoran. Telur cacing yang telah didapatkan diinkubasi kembali pada temperatur kamar (28°C) sampai terbentuk larva infektif (larva stadium dua). Suspensi yang mengandung larva infektif dihitung, dimana dalam 100 µl suspensi mengandung kurang lebih 100 butir telur cacing *A. galli* (Subekti, 1990).

3.3.4 Prosedur penelitian

Hewan coba diinfeksi dengan telur infektif cacing *Ascaridia galli* sebanyak ± 100 butir telur/ekor per oral. Kemudian hewan coba dipelihara selama satu siklus hidup cacing *Ascaridia galli* (± 100 hari) dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan feses untuk memastikan telur infektif yang diinfeksi telah berkembang menjadi cacing

dewasa dan bertelur pada seluruh hewan coba. Setelah itu, hewan coba diberi ekstrak etanol rimpang temu hitam per oral/hari berdasarkan macam perlakuan. Setiap perlakuan terdapat lima ekor ayam sebagai ulangan.

Hewan coba yang digunakan diacak secara lengkap berdasarkan 5 perlakuan, yaitu:

- Perlakuan P0** : Kontrol positif infeksi telur cacing *Ascaridia galli*, tanpa pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam.
- Perlakuan P1** : Pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam dengan dosis 100 mg/ekor/hari per oral.
- Perlakuan P2** : Pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam dengan dosis 200 mg/ekor/hari per oral.
- Perlakuan P3** : Pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam dengan dosis 300 mg/ekor/hari per oral.
- Perlakuan P4** : Pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam dengan dosis 400 mg/ekor/hari per oral.

Ekstrak etanol rimpang temu hitam diberikan selama 7 hari berturut-turut. Pada hari ke-8 setelah perlakuan, hewan coba diambil darahnya, darah ayam diambil melalui vena *Brachialis* (Campbell, 1995). Setelah semua ayam diambil darahnya, sampel darah segera dihitung leukositnya di Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan tipe Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan lima perlakuan dan lima ulangan. Rancangan lengkap dipergunakan karena media dan bahan percobaan seragam.

3.5 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Ekstrak temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) yang menggunakan empat dosis yaitu 100 mg/ekor/hari, 200 mg/ekor/hari, 300 mg/ekor/hari, 400 mg/ekor/hari dan telur cacing *Ascaridia galli* \pm 100 butir/ekor hewan coba.

2. Variabel Tergantung

Data pemeriksaan jumlah leukosit pada ayam petelur yang di terapi ekstrak etanol rimpang temu hitam.

3. Variabel Kendali

Jenis ayam petelur, berat badan, dan umur ayam petelur.

3.6 Pengambilan Sampel

Pengambilan darah untuk pemeriksaan jumlah leukosit dilakukan pada hari ke-8 setelah pemberian pengobatan berakhir, dengan cara hewan percobaan dihandling dan diposisikan dengan benar sehingga vena *Brachialis* pada sayapnya bisa dipegang dan bisa diambil darahnya.

3.7 Penghitungan jumlah total leukosit ayam

Untuk penghitungan leukosit ayam, metode yang terbaik adalah metode *Rees-Ecker*, yaitu suatu metode adaptasi dari metode penghitungan trombosit pada darah manusia (Wintrobe, 1952).

Rees-Ecker merupakan larutan diluent yang terdiri atas (Per100 ml) :

<i>Sodium cytrate</i>	3,8 gms
<i>Neural formaline</i>	0,2 cc
<i>Brilliant cressyl blue</i>	0,5 gms
<i>Distilled water ad</i>	100.0cc

Setelah sampel darah sudah sampai di laboratorium Patologi Klinik Veteriner, sampel langsung dilakukan penghitungan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Mengambil darah dengan pipet leukosit sampai garis tanda '0,5' dari tabung sampel dengan cara dihisap.
2. Kemudian dilanjutkan dengan mengambil *Rees-Ecker* dari botol ke pipet leukosit sampai garis tanda '11'. Larutan dihomogenkan dengan membolak-balikkan pipet leukosit.
3. Memasukkan larutan tersebut ke kamar hitung *improved Neubauer spencer brightline* 1/10 mm deep.
4. Selanjutnya, meletakkan kamar hitung *improved Neubauer* yang berisi larutan tersebut ke bawah mikroskop. Periksa di bawah mikroskop dengan memakai lensa objektif kecil (10 x).

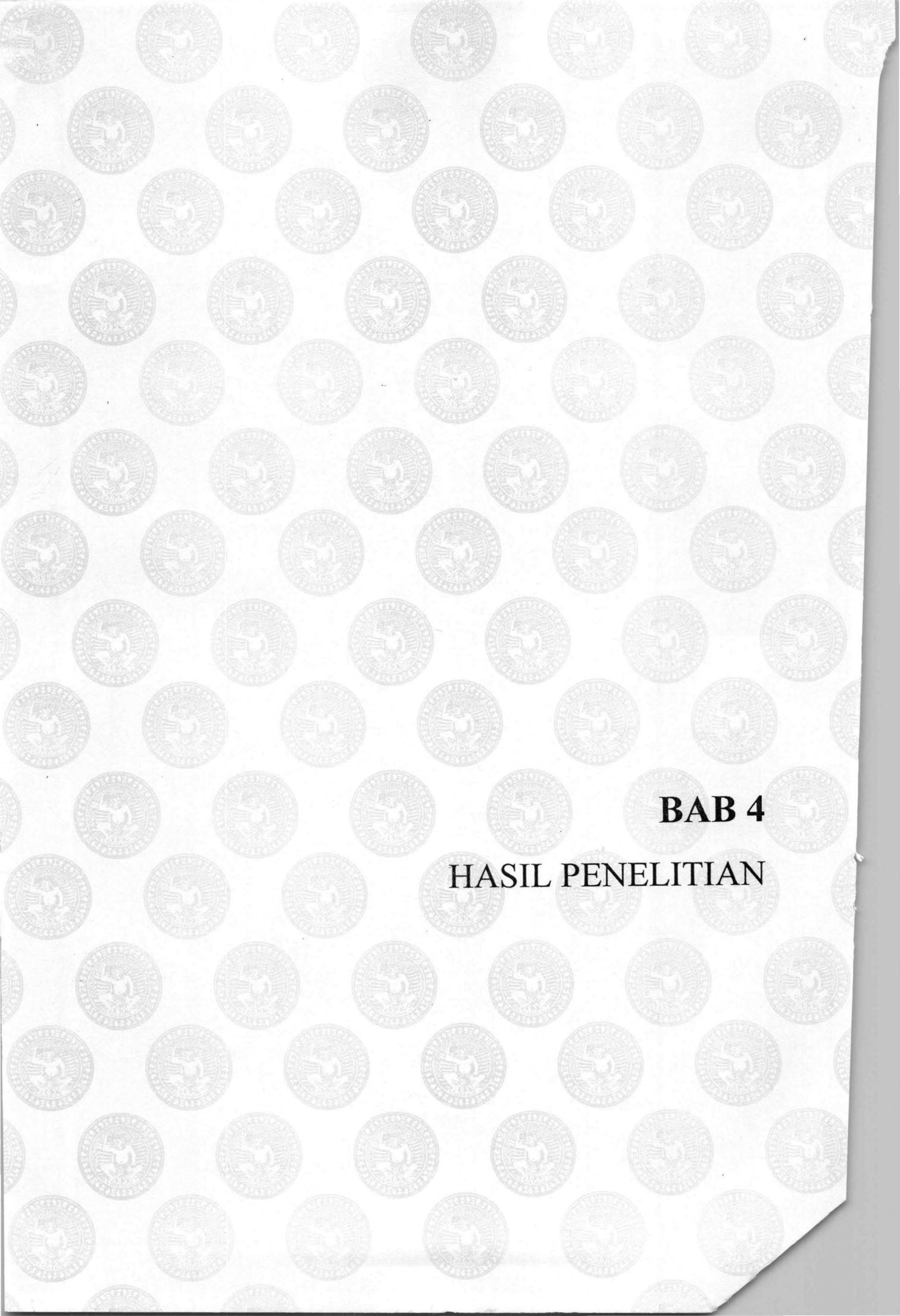
5. Segera dapat dihitung leukosit yang nampak di bawah mikroskop dengan cara manual (Menggunakan alat count).
6. Langkah-langkah diatas diulang lagi pada pemeriksaan sampel-sampel darah berikutnya.

3.8 Pemeriksaan jumlah leukosit ayam

Pemeriksaan jumlah leukosit didasarkan pada perbandingan jumlah leukosit total ayam yang terinfeksi *Ascaridia galli* (P0) dengan jumlah leukosit total pada semua perlakuan (P1, P2, P3 dan P4).

3.9 Analisa Data

Data yang dikoleksi disajikan secara deskriptif. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan uji F (ANOVA), uji lanjutan yang digunakan adalah uji Duncan, dilakukan bila pada unit-unit perlakuan diperoleh perbedaan yang bermakna dengan signifikansi 5 % (Kusriningrum, 2008). Analisis statistika dilakukan dengan menggunakan SPSS XIII *for* Windows (Santoso, 2005).



BAB 4
HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penghitungan jumlah leukosit total pada ayam betina terhadap pengaruh infeksi *Ascaridia galli* dan pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam dengan dosis 100, 200, 300, dan 400 mg/ekor/hari dihasilkan sebagai berikut,

Tabel 4.1 Jumlah Leukosit Total Pada Ayam yang Diinfeksi *Ascaridia galli* dan pemberian Berbagai Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam

n	P0 (μ l)	P1 (μ l)	P2 (μ l)	P3 (μ l)	P4 (μ l)
1	24.500	32.400	34.950	31.850	36.050
2	20.050	30.100	34.400	32.550	35.750
3	20.550	30.650	33.800	32.100	34.900
4	21.500	32.400	33.000	33.400	35.150
5	23150	29.450	30.600	34.200	32.600

Hasil uji *ANOVA* menyatakan bahwa F hitung dari *output* adalah 60,468. *Numerator* (jumlah variabel perlakuan - 1) dari penelitian ini adalah $5-1 = 4$, dan *denominator* (jumlah perlakuan total - jumlah variabel perlakuan) dari penelitian ini adalah $25-5 = 20$. Dari tabel F 0,05 didapatkan angka 2,87, dan dari tabel F 0,01 didapatkan angka 4,43.

Oleh karena $60,468 > 4,43$ atau F hitung $>$ F tabel 0,01. Maka, hasil uji ini menyatakan terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan atau dapat disimpulkan bahwa jumlah leukosit total dari ayam betina yang diinfeksi *Ascaridia*

galli berbeda sangat nyata terhadap jumlah leukosit total dari ayam betina yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan pemberian berbagai dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam, hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 7.

Rata-rata dan simpangan baku darah ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* (P0) adalah 21.950 μ l. Hasil tersebut berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 100 mg/ekor/hari yaitu sebesar 31.000 μ l (P1), ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 200 mg/ekor/hari yaitu sebesar 33.350 μ l (P2), ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 300 mg/ekor/hari yaitu sebesar 32.820 μ l (P3), maupun ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 400 mg/ekor/hari yaitu 34.890 μ l (P4). Darah ayam yang mengalami peningkatan leukosit tertinggi didapatkan pada ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 400 mg/ekor/hari (P4) yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan perlakuan lainnya. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rata-rata Simpangan Baku Persentase Leukosit Ayam yang Diinfeksi Cacing *Ascaridia galli* dan Pemberian Berbagai Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam

PERLAKUAN	JUMLAH TOTAL	RATA-RATA RANK DAN STANDAR DEVIASI ($R \pm SD$)
P0	109.750	21.950 ^a \pm 1851,68
P1	155.000	31.000 ^b \pm 1346,75
P2	166.750	33.350 ^{cd} \pm 1699,26
P3	164.100	32.820 ^{bc} \pm 971,21
P4	174.450	34.890 ^d \pm 1359,87

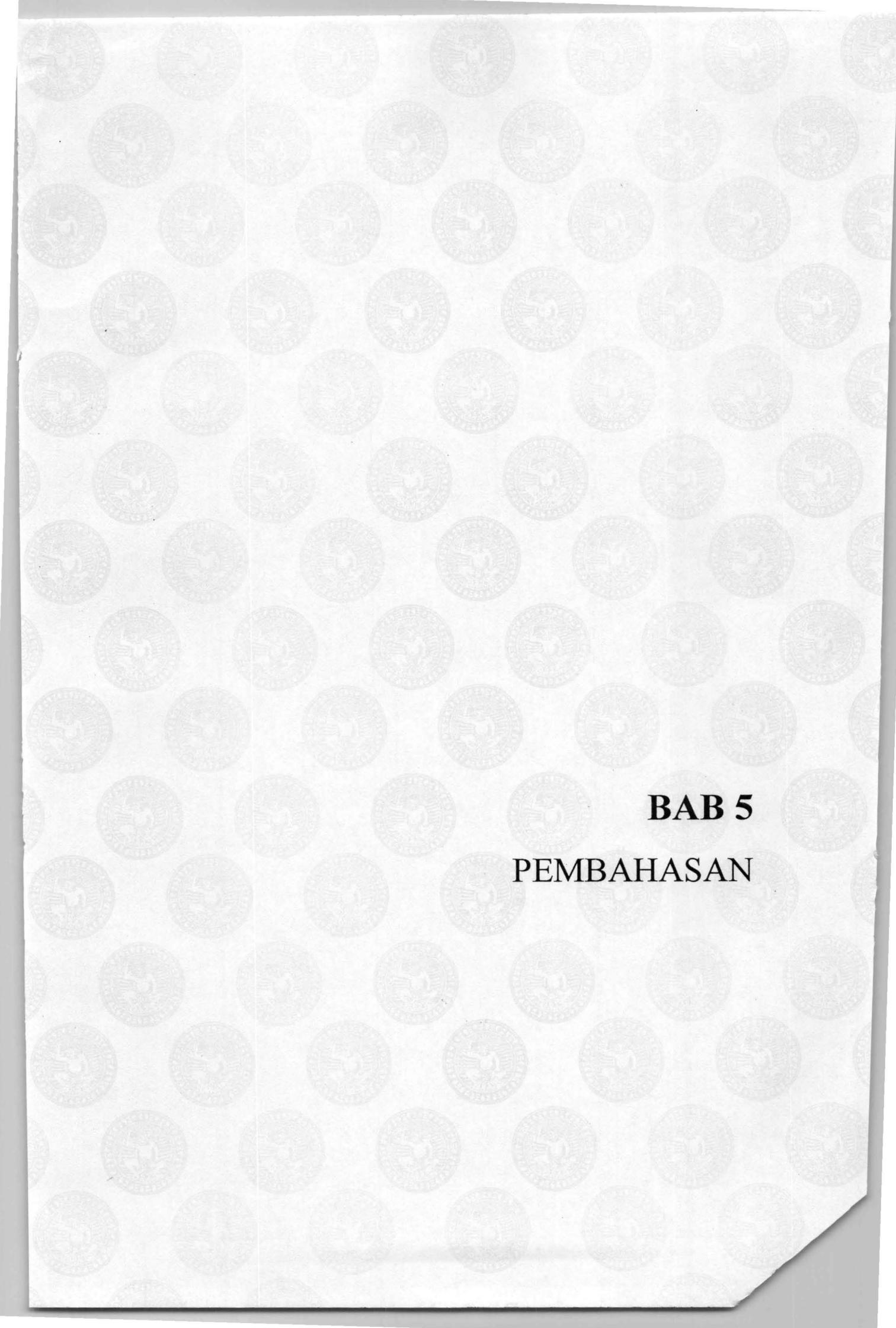
Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Keterangan P0 : Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli*, P1 : Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 100 mg/ekor/hari, P2 : Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 200 mg/ekor/hari, P3 : Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 300 mg/ekor/hari, dan P4 : Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberikan ekstrak etanol rimpang temu hitam 400 mg/ekor/hari.

Berdasarkan *Duncan multiple Range Test* dapat diketahui bahwa darah ayam yang mempunyai jumlah leukosit total tertinggi didapatkan pada P4 yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($P > 0,05$) dengan P2. Sedangkan, darah ayam

yang mempunyai jumlah leukosit total terendah didapatkan pada P0 yang menunjukkan perbedaan bermakna ($P < 0,05$) dengan P1, P2, P3, dan P4 (Lampiran 8).

Sedangkan, berdasarkan analisa jumlah total leukosit yang dibandingkan antara P0 dengan perlakuan lainnya dihasilkan bahwa pada P1 terdapat peningkatan jumlah leukosit sebesar 9.050 / μ l, P2 sebesar 11.400 / μ l, P3 sebesar 10.870 / μ l dan P4 sebesar 12.940 / μ l. Hasil selengkapnya dapat dilihat lampiran 9.



BAB 5
PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Hasil pengamatan secara mikroskopis terhadap jumlah leukosit total ayam dari tiap sampel darah ayam menunjukkan adanya perbedaan jumlah leukosit total antara perlakuan kontrol (P0) dengan perlakuan P1, P2, P3, dan P4 ($P < 0,05$). Perbedaan yang tampak pada darah ayam karena infeksi *Ascaridia galli* dan pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam berbagai dosis tersebut menunjukkan adanya pengaruh terhadap jumlah leukosit, kejadian ini disebut leukositosis yaitu peningkatan jumlah leukosit di darah perifer ayam (Gunnarson, 2007). Dalam penelitian ini, karena melibatkan parasit cacing, maka diduga jenis leukosit yang meningkat adalah eosinofil, sehingga terjadi *eosinofilia*, yaitu meningkatnya salah satu komponen daripada sel darah putih yaitu sel eosinofil (Pribadi, 1980). Sedangkan, adanya ekstrak etanol rimpang temu hitam juga dapat berperan dalam peningkatan kekebalan tubuh, mengingat di dalam ekstrak tersebut terdapat zat aktif *kurkumin* (Allam, 2008).

Kejadian leukositosis yang disebabkan cacing *Ascaridia galli* pada ayam dapat timbul karena adanya suatu mekanisme dari cacing yang menginduksi respon imun dalam tubuh ayam. Cacing akan mengeluarkan enzim protease, yaitu enzim yang menghidrolisis ikatan peptida pada protein (Rao *et al.* 1998). Pelepasan protease oleh cacing nematoda parasitik mempunyai peranan penting pada proses reaksi biologik seperti metabolisme protein, *hatching*, *molting*, patogenesis, dan respon imun (Rhoads *et al.* 1997). Protease juga berpotensi sebagai pemicu respon imunitas karena dianggap sebagai benda asing oleh inang definitif. Sehingga, protease memfasilitasi interaksi antara cacing *A. galli* sebagai parasit dengan ayam petelur sebagai inang definitif dan

bersifat antigenik yang dapat menggertak sistem imun inang definitif untuk menghalangi invasi larva (Tizard, 1995). Selain itu cacing *A. galli* juga memiliki antigen somatis, antigen permukaan dan antigen ekskretori/sekretori (Tiuria *et al.* 2003). Menurut Vervelde *et al.* (2003) melaporkan bahwa antigen ekskretori/sekretori dapat memicu peningkatan respons sel T *helper* 2 (Th-2). Reaksi sel Th-2 dapat menggertak pelepasan sitokin terutama interleukin (IL-3, IL-4 dan IL-5) (Roitt dan Delves, 2001). Salah satu sitokin yaitu IL-5 merupakan aktivator pematangan dan diferensiasi eosinofil, dengan kata lain IL-5 akan mengaktifkan eosinofil (Baratawidjaja, 2006). Selain mengeluarkan antigen, cacing juga dapat menstimulasi adanya Imunoglobulin. Walaupun antibodi konvensional dari klas IgM, IgG dan IgA diproduksi sebagai tanggap kebal terhadap cacing, bukti-bukti yang terpenting terlibat dalam resistensi terhadap cacing adalah IgE. Kadar IgE biasanya sangat meningkat pada individu yang terserang parasit. IgE mempunyai peranan dalam mengurangi cacing pada hewan, yaitu memperantarai makrofag untuk dapat berikatan pada larva cacing untuk menghancurkannya. IgE juga berperan dalam memperantarai sel mast, IgE akan merangsang pelepasan faktor anafilaksis kemotaktik eosinofil (FAKE). Bahan ini akan memobilisasi cadangan eosinofil dalam tubuh hewan sehingga menyebabkan dilepaskannya eosinofil dalam jumlah besar ke dalam sirkulasi. Dengan demikian bisa terjadi *eosinofilia* yang merupakan kejadian khas pada infeksi cacing. (Tizard, 1988). *Eosinofilia* merupakan salah satu bentuk leukositosis.

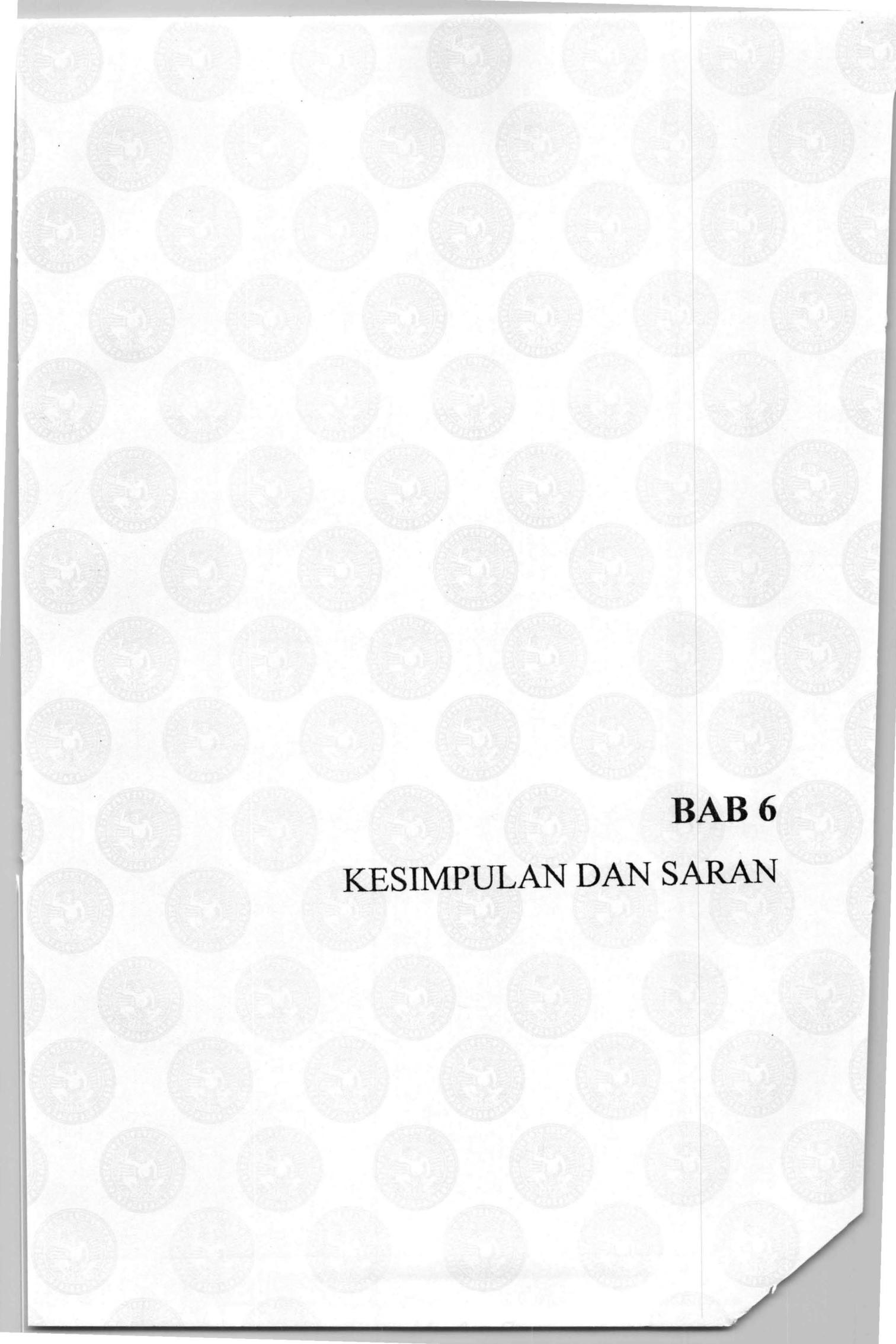
Pada penelitian Rachmansyah (2009) yang meneliti khasiat anthelminthik ekstrak etanol rimpang temu hitam terhadap *Ascaridia galli* dengan menggunakan dosis sebesar 100 mg/ekor/hari dapat menurunkan jumlah cacing dari ± 100 ekor cacing menjadi 13 ekor cacing, menggunakan dosis 200 mg/ekor/hari dapat menurunkan jumlah cacing menjadi 2 ekor cacing, menggunakan dosis 300 mg/ekor/hari dapat membunuh seluruh cacing dan pada dosis 400

mg/ekor/hari juga dapat membunuh seluruh cacing *Ascaridia galli*. Pada penelitian tersebut disimpulkan bahwa dosis sebesar 200 mg/ekor/hari merupakan dosis terbaik yang dapat menurunkan jumlah cacing *Ascaridia galli* pada tubuh ayam petelur.

Penelitian tersebut menjadi dasar dari penelitian ini. Hasil dari penelitian ini adalah terbukti bahwa darah ayam semua perlakuan (P1, P2, P3 dan P4) mengalami peningkatan leukosit bila dibandingkan dengan P0. Pada darah ayam P1, P2, P3, dan P4 semua mengalami peningkatan leukosit. Namun, yang mengalami peningkatan leukosit tertinggi adalah pada darah ayam P4 (Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan diberi ekstrak etanol rimpang temu hitam 400 mg/ekor/hari).

Peningkatan leukosit yang terjadi diduga diakibatkan oleh suatu zat aktif yang dapat berpengaruh terhadap imunitas. Zat tersebut dapat menginduksi respon imun tubuh berupa sel darah putih atau leukosit ke tempat infeksi. Zat tersebut adalah *kurkumin*. *Kurkumin* atau *kurkuminoid* merupakan suatu campuran yang kompleks berwarna kuning oranye yang diisolasi dari tanaman dan memiliki efek terapeutik, terdapat pada berbagai jenis *Curcuma sp*, antara lain pada kunyit dan temulawak, yang telah dikenal di kalangan industri jamu/obat tradisional dan banyak digunakan sebagai bahan baku dalam ramuan jamu (Wardini dan Prakoso, 1999).

Kurkumin memiliki aktivitas meningkatkan sintesis antibodi IgG, dan meningkatkan sitotoksitas sel (*Natural Killer cells*) (Bermawie dkk, 2006). Terdapat hubungan antara IgG dan salah satu sel leukosit yaitu eosinofil. IgG bersama eosinofil yang diproduksi di situs infeksi, memiliki peranan sebagai fungsi proteksi. Eosinofil melekat pada cacing melalui IgG, kemudian mengalami degranulasi, melepaskan isi granulanya pada kutikel cacing. Protein basa utama granula dapat menyebabkan kerusakan langsung pada kutikel dan juga membantu perlekatan



BAB 6
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pemberian ekstrak temu hitam berbagai dosis terbukti berpengaruh terhadap jumlah leukosit pada ayam yang menderita *Ascaridiasis*.

1. Pemberian *crude* ekstrak etanol rimpang temu hitam berbagai dosis dapat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah leukosit ayam.
2. Pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam pada P0 berbeda nyata dengan P1, P2, P3, dan P4. Perbedaan ditunjukkan dengan perbandingan peningkatan jumlah leukosit antara P0 dengan perlakuan lainnya. Pada P1 terdapat peningkatan jumlah leukosit total sebesar 9.050 μ l, P2 sebesar 11.400 μ l, P3 sebesar 10.870 μ l dan P4 sebesar 12.940 μ l.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka saran yang dapat penulis uraikan adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian tentang waktu terjadinya penurunan jumlah leukosit pada penggunaan ekstrak etanol rimpang temu hitam berbagai dosis.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang farmakokinetik dan farmakodinamik kurkumin dalam menyebabkan leukositosis pada infeksi parasit.

RINGKASAN

Azhar Bayu Sembodo Peran Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Ayam Petelur Dewasa Yang Diinfeksi Cacing *Ascaridia galli*. Di bawah bimbingan bapak Prof.Dr.Fedik A.Rantam,drh. selaku pembimbing pertama dan ibu Kadek Rachmawati, M.Kes.,drh sebagai pembimbing kedua.

Penggunaan bahan alami yang berasal dari tanaman sebagai pengobatan alternatif sudah sangat berkembang pesat di negara Indonesia . Terdapat banyak tanaman obat di Indonesia ini, salah satu tanaman yang bermanfaat dan masih terus diteliti khasiatnya ialah temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). Bagian yang diambil adalah rimpangnya. Rimpang temu hitam mengandung minyak atsiri yang telah terbukti dapat digunakan sebagai obat cacing (*anthelminthik*). Selain itu temu hitam juga dapat digunakan sebagai peluruh kentut (*karminatif*), peluruh dahak, meningkatkan nafsu makan dan memulihkan badan yang kurang segar setelah nifas.

Temu hitam sebenarnya juga dapat berpotensi sebagai obat *imunomodulator* yaitu obat yang dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang terganggu. Dimana sifatnya adalah *imunostimulator* yaitu obat yang dapat meningkatkan respon imun tubuh.

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab permasalahan mengenai peran tanaman temu ireng dalam meningkatkan respon imun tubuh ayam yang telah terinfeksi *Ascaridia galli*. Pada penelitian ini temu hitam diambil rimpangnya, kemudian dijadikan ekstrak etanol dengan berbagai dosis yaitu, 100 mg/ ekor/hari, 200 mg/ekor/hari, 300 mg/ekor/hari dan 400 mg/ekor/hari. Pemberian ekstrak ini dimulai

saat ayam positif terinfeksi *Ascaridia galli*. Pemberian ekstrak dilakukan selama tujuh hari. Penelitian ini menggunakan 25 ayam petelur jenis ISA Brown berumur 10 minggu dengan berat badan 820 gram. Ayam petelur dibagi secara acak menjadi 5 perlakuan, yaitu perlakuan P0 (control), P1, P2, P3, dan P4. Tiap perlakuan terdiri dari lima ulangan. Tujuh hari setelah pemberian ekstrak, tiap ayam diambil darahnya melalui vena *Brachialis*. Setiap darah yang diambil dimasukkan ke dalam 25 tabung glass yang masing-masing telah diberi *EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid)*. Larutan ini sebagai antikoagulan. Setelah itu ke-25 sampel darah dibawa ke Laboratorium Patologi Klinik untuk diperiksa dibawah mikroskop dan dihitung jumlah total leukositnya menggunakan metode *Rees-Ecker*.

Selanjutnya data yang diperoleh diolah dengan *ANOVA* untuk dilihat apakah terjadi signifikansi diantara perlakuan. Sedangkan, untuk melihat sampel darah yang paling signifikan hasilnya menggunakan uji *Duncan Multiple Range*.

Hasil analisis *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan atau signifikansi yang nyata diantara perlakuan, dimana leukosit dari semua perlakuan (P1, P2, P3 dan P4) mengalami peningkatan jumlah bila dibandingkan dengan leukosit darah pada P0. Hal ini terbukti bahwa memang terjadi peningkatan respon imunitas pada tubuh ayam

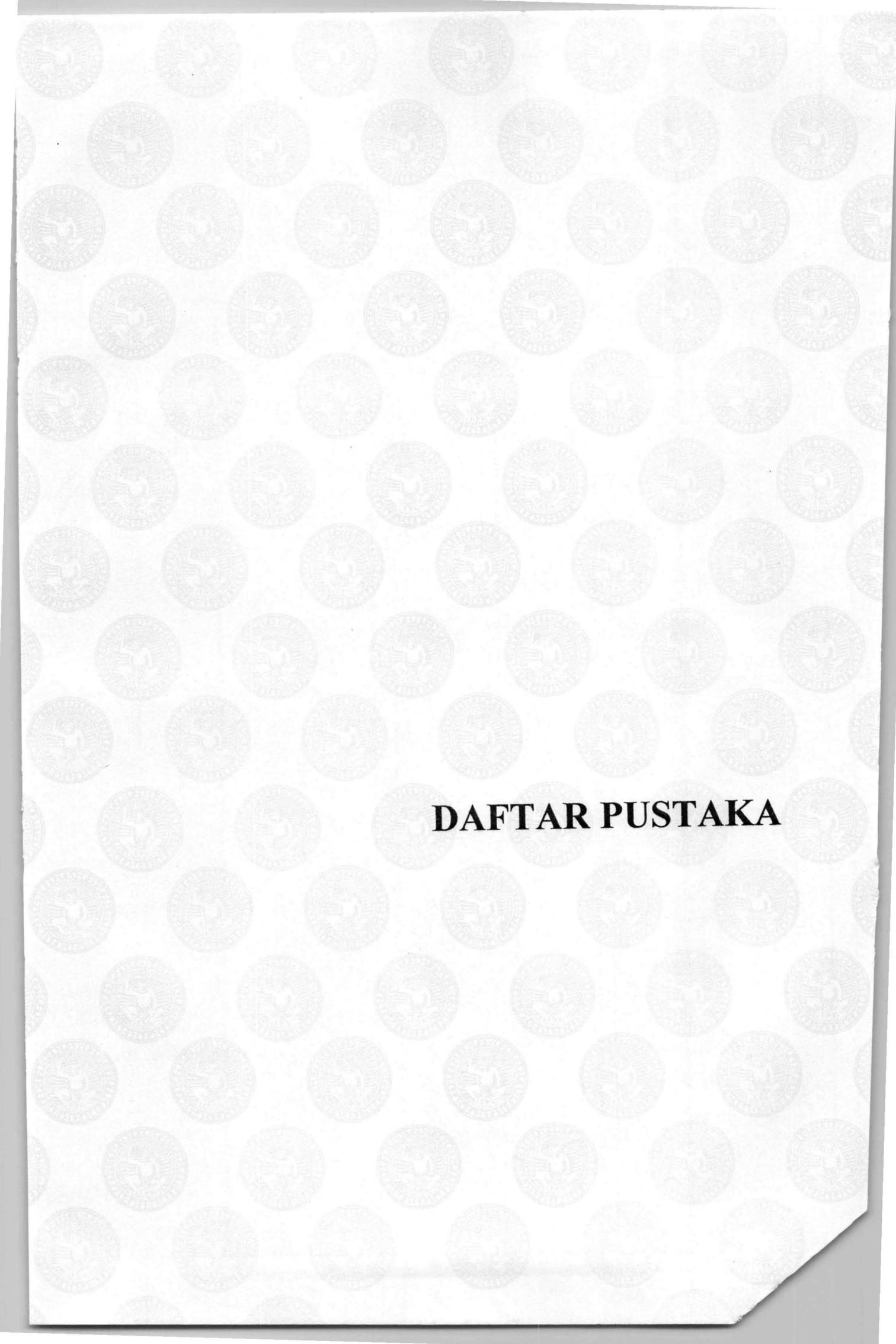
Jumlah leukosit yang paling rendah terdapat pada P0 yang menunjukkan perbedaan bermakna ($P < 0,05$) dengan P1, P2, P3, dan P4. Peningkatan jumlah leukosit yang tertinggi bila dibandingkan dengan P0 adalah pada P4 karena tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($P > 0,05$) dengan P2.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak rimpang temu hitam dengan menggunakan berbagai dosis selama tujuh hari pada

ayam yang terinfeksi *Ascaridia galli* dapat berpengaruh pada jumlah leukosit total yaitu terjadi peningkatan jumlah leukosit (leukositosis). Peningkatan jumlah leukosit antara P0 dengan perlakuan lainnya dihasilkan bahwa pada P1 terdapat peningkatan jumlah leukosit total sebesar 9.050 μ l, P2 sebesar 11.400 μ l, P3 sebesar 10.870 μ l dan P4 sebesar 12.940 μ l.

Peningkatan leukosit diduga oleh adanya suatu zat aktif yang terdapat didalam ekstrak etanol rimpang temu hitam. Zat tersebut adalah *kurkumin*. Zat ini bekerja dengan meningkatkan sintesis IgG dan aktifitas fagositosis dari makrofag. Sehingga, aktifitas keduanya dapat meningkatkan jumlah sel leukosit. Terutama, sel leukosit jenis eosinofil.

Penelitian ini berkaitan dengan penelitian terdahulu milik Rachmansyah (2009) Berdasarkan hasil penelitian tersebut bahwa pemberian dosis 200 mg/ekor/hari merupakan dosis terbaik sebagai *anthelminthik*. walaupun terdapat sisa 2 ekor cacing. Dosis ini dianggap terbaik karena menurut Tabbu (2002) bahwa infestasi 10 ekor cacing pada ayam dewasa tidak berbahaya, tetapi lebih dari 75 ekor akan menimbulkan masalah tertentu. Maka, berdasarkan penelitian Rachmansyah tersebut, adanya peningkatan leukosit tertinggi pada dosis 400 mg/ekor/hari pada penelitian ini hanya dinyatakan sebagai efek samping dari pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam sebagai obat *anthelminthik*.



DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Ackert J.E., Porter D.A. & Beach T.D. 1938. Age resistance of chickens to the nematode *Ascaridia lineata* (Schneider). *Journal of Parasitology* **21**: 205-213.
- Ahmaraning. 2009. Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) Jantan. *Skripsi* Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Allam, G. 2008. Immunomodulatory Effects Of Curcumin Treatment On Murine *Schistosomiasis mansoni*. College of Medicine and Medical Sciences (CMMS), Taif University, Taif, Saudi Arabia.
- Aureli, P., Constantini, A. & Zolea,S. 1992. Antimicrobial activity of some Plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* **55**: 344-384.
- Baratawidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Indonesia
- Bermawie, N, Mono R. Dono.W dan Ma'mun. 2006. Status Teknologi Budidaya dan Pasca Panen Tanaman Kunyit dan Temu lawak Sebagai Penghasil Kurkumin. Balai penelitian Obat dan Aromatik. Jakarta
- Bijanti, R, 2007. *Buku Ajar Patologi Klinik Veteriner*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Calneck BW, 1997. *Disease of Poultry*, Tenth Edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Campbell W.Terry,1995. *Avian Hematology and Cytology*. Second edition, Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Cook M.E. 1993. Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control Of immune-induced growth depression. *Poultry Science* **72**: 1301-1305.
- Dalimartha, S. 2007. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Puspa Swara. Jakarta. 165-168.
- Daman S. 2008. *Kasus Cacingan Pada Ayam*. Infovet. Majalah Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta
- Dufresne, C and E.Farnword.2000. Tea, Kombucha And health: a review. *Food Research International* **33**: 409-421.
- Duncan IJH. 1978. Animal rights—animal welfare: a scientist's assessment. *Poultry Science* **60**(3):489-99.

- Gunnarson, M. 2007. Avian Hematology. Institute for Clinical Chemistry. Swedish Agricultural University.
- Gundidza, M., Deans, S.G., Kennedy, A.I., Waterman, P.G. & Gray, A.I. 1993. The essential oils from *Heteropyxis natalensis* Haru: Its antimicrobial activities and phytoconstituents. *J. Sci. Food Agric.* 63: 361-364.
- Grieve, M. 1971. A Modern Herbal. New York. Dover publications
- Hargono, D. 1996. Sekelumit Mengenai Obat Nabati dan Sistem Imunitas. *Cermin Dunia Kedokteran* 108 : 5-7
- Ikeme M.M. 1971. Observations on the pathogenicity and pathology of *Ascaridia galli*. *Parasitology* 63: 169-179
- Kim Y.G et al. 2005. Curcumin Inhibits Immunostimulatory Function of Dendritic cells: MAPK and Translocation of NF- κ B as. Department of Microbiology and Immunology, and National Research Lab of Dendritic cell Differentiation & Regulation and Medical Research Institute, and Department of Obstetrics and Gynecology Pusan National University College of Medicine, Pusan, South Korea.
- Kusriningrum, 2008. Perancangan Percobaan, Airlangga University Press, Surabaya.
- Kumari, R and S. Thakur. 1999. Infection Pattern of Nematode *Ascaridia galli* in *Gallus gallus domesticus*. *J Ecobiol.* 11 : 277-283
- Koesdarto, dkk. 2007, Buku Ajar Ilmu Penyakit Nematoda Veteriner. Edisi 2. Cetakan 2, Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Morgenstern R. & Lobsiger Ch. 1993. Health of Laying Hens in Alternative systems in Practice pp. 81-86 in : Proceedings of The Fourth European Symposium on Poultry Welfare. Edinburgh September 18-21.
- Mpoame M & Agbede G. 1995. The Gastrointestinal Helminth Infections of Domestic Fowl in Dechang. Western Cameroon. *Revue D'elevage et de Me'dicin Veterinaire des pays Tropicaux* 48(2) : 147-151.
- Nemi C, Jain, 2000. Schalm's Veterinary Hematology. Fifth edition Lea & Febrieger, Philadelphia.
- Oemijati S, 1994. Peran obat Tradisional Dalam Pemberantasan Penyakit Parasitik. Kumpulan Makalah. Seminar Sehari Beberapa Masalah Penyakit Parasit Pada Manusia dan Hewan di Indonesia. Universitas Airlangga, Surabaya, hal : 1-7

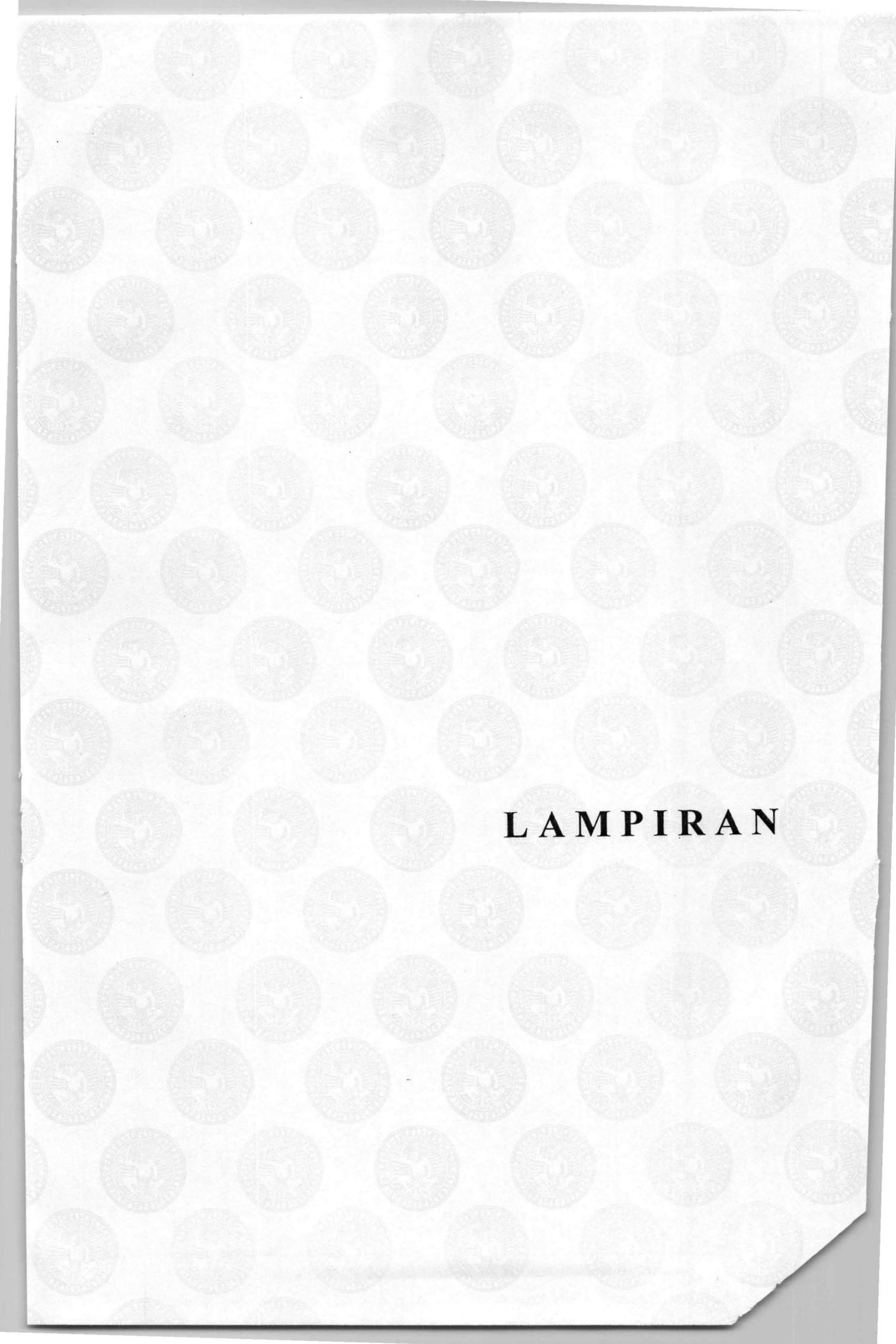
- Oemijati S, 1994. Peran obat Tradisional Dalam Pemberantasan Penyakit Parasitik. Kumpulan Makalah.Seminar Sehari Beberapa Masalah Penyakit Parasit Pada Manusia dan Hewan di Indonesia. Universitas Airlangga, Surabaya, hal : 1-7
- Phalen, 2007. Presentation Avian Hematology.A&M University.Texas, USA
- Purnomowati, S dan A. Yoganingrum, 1997. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah, LIPI, Jakarta. 44p
- Prawirosujanto, S. 1978. Materia Medika II. Cetakan Pertama. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- Pribadi, Wita, 1980. Parasit dan Pengaruhnya Terhadap Darah. Cermin Dunia Kedokteran.Pusat Penelitian dan Pengembangan P.T. Kalbe Farma. Bandung.
http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/cdk_018_darah.pdf
- Permin, A, 1997. Helminths and Helminthosis in Poultry with Special Emphasis On *Ascaridia Galli* in Chickens. The Royal Veterinary and Agricultural University Copenhagen, Denmark.pdf
- Permin, A, P.Hansen, M.Bisgaard and F.Frandsen. 1998. *Ascaridia galli* infections in the Free Range Layers Fed on Diets with Different Protein Content. Br. Poult. Sci. 39: 441-445
- Permin, A, and H. Ranvig. 2001. Genetic Resistance to *Ascaridia galli* infections in Chickens. Vet Parasitol. 102 : 101-111.
- Rachmansyah R. 2009. Khasiat Anthelminthik Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) Terhadap Ascariasis pada Ayam Petelur. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rahardjo Y. 2002. Mengendalikan Penyakit Unggas, Infovet, Jakarta.
- Ramadan H.H. & Znada A.N.Y. 1991. Some pathological and biochemical studies on experimental ascariasis in chickens. Die Nahrung 1: 71-84.
- Ramli E.Z. 2008. Penanganan Penyakit Akibat Cacing Golongan Nematelminthes. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Rantam A, F 2001. Buku Ajar Immunologi (Komunikasi Sel Imun). Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.

- Rao, M.B.; Tanksale, A.M.; Ghatge, M.S. and Desphande, V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, September 1998, vol. 62, no. 3, p. 597-635
- Ruff MD and Norton RA. 1997. Nematodes and Acanthocephales in : Calneck BW, Barnes HJ, Beard CW, Mcdougald LR and Saif YM (Eds), *Diseases of Poultry* . Iowa State University Press, Iowa.pp 815-849.
- Reid W.M., Mabon J.L. & Harshbarger W.C. 1973. Detection of Worm Parasites in Chicken.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Denpasar Bali Cattle Disease Investigation Unit. 89-127.
- Rhoads ML, Fetterer RH, and Urban Jr. JF. 1997. Secretion an Aminopeptidase During Transition of Third-to Fourth-Stage Larvae of *Ascaris suum*. *J. of Parasitol.* 83(5): 780 – 784.
- Roitt IM and Delves PJ. 2001. Roitt's Essential Immunology. Tenth Edition, *Blackwell Science Ltd*. Osney Mead Oxford OX2 OEL.
- Anthony, Kuttan R, Kuttan G. 1999. Immunomodulatory Activity Of Curcumin. Amala Cancer Research Centre. Amala, Nagar, Kerala. India
- Santoso. 2005. Mengolah Data Statistik Secara Profesional. PT. Elex Media Komputindo. Kelompok Gramedia. Jakarta.
- Sastroasmoro S, dkk. 2004. Pemberian Terapi Imunomodulator Herbal. Fakultas Kedokteran Indonesia. Universitas Indonesia, Jakarta, hal: 3-5.
- Subekti, S. Koesdarto, S. Mumpuni, S. Puspitawati, H. dan Koesnoto, 2005, Diktat Kuliah Ilmu Penyakit Nematoda Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Subekti S, 1990. Khasiat Pemberian Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Ascariasis Pada Ternak Ayam. Lembaga Penelitian, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sujoni, 2002. Uji In Vitro Ekstrak Buah Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Mortalitas Cacing *Mecistocirrus digitatus*. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Soulsby EJJ, 1982. Helminths Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals, 7th edition, English Language Book Society, Bailliere, Tindall.

- Syamsul hidayat, SS, dan Hutapea JR,1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1). Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian & Pengembangan.
- Syukur C, L. Udarno, Supriadi, O.Rostiana dan. S. F. Syahid. 2006. Usulan pelepasan varietas kunyit.
- Tabbu, R. C. 2002. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Vol. 2. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 73-76.
- Tiuria R, Ridwan Y and Murtini S. 2003. Study of Bioactive Substance from *Ascaridia galli* Adult Worm that Stimulate Intestinal Mucosal Defense Mechanism in Chicken for Medical Purpose. *Proceeding of the Seminar on Science and Technology*, Indonesia-Toray Science Foundation, Jakarta.
- Tizard, 1988. Pengantar Immunologi Veteriner. Airlangga University Press. Surabaya. 15 : 315-317.
- Tizard, 1995. Immunology and Introduction. Fourth edition. Saunders Collage publishing. Pp. 325-340.
- Tizard. 1996. Veterinary Immunology and Introduction. Fifth Edition, *WB Saunders Company, a Division of Harcourt Brace and Company*. The Curtis Center Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania.
- Tizard. 2000. Veterinary Immunology and Introduction. Sixth Edition, *Sounders Company, a Division of Harcourt Brace and Company*. The Curtis Center Independence Square West, Philadelphia, Pennsylvania.
- Todd A.C. & Hollingsworth K.P. 1951. Host sex as a factor in development of *Ascaridia galli*. *Experimental Parasitology* 1: 303-304.
- Vervelde *et al.*. 2003. Vaccination-induced Protection of Lambs Against the Parasitic Nematode *Haemonchus contortus* Correlates With High IgG Antibody Responses to the LDNF Glycan Antigen. *Glycobiol.* 13(11): 795– 804.
- Wardini, T.H., dan B. Prakoso. 1999. Curcuma, Dalam: de Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N. dan Lemmens, R.H.M.J. (Editors): Plant Resources of South-East Asia. No 12 (1) Medicinal and Poisonous Plants 1. Backhuys Publishers, Leiden, the Netherlands. Pp.210-219.
- Windono, M.S. dan Parfiani, N.2002. Curcuma zedoria Rosc, Kajian Pustaka kandungan kimia dan aktivitas farmakologis. *Artocarpus*, 2 (1) : 1-10.

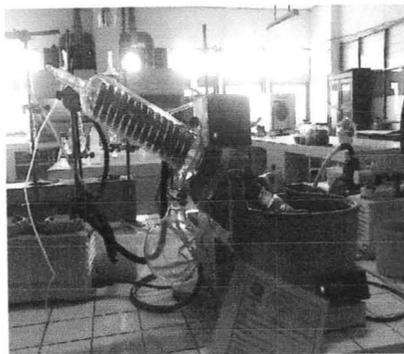
Wiryowidagdo, S.2004. Research On Efficacy Of Herbal Medicine to Enchance Hemoglobin Concentration, The Amount Of Thrombocyte, And Erythrocyte of Test White male rats. Center for Natural Product Medicine Studies. Departement of Pharmacy Faculty of Mathematics and Natural Sciences. University of Indonesia. Depok

Zainuddin,D, dan Wibawan, 2008. Biosekuriti dan Manajemen Penanganan Penyakit Ayam Lokal. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.



LAMPIRAN

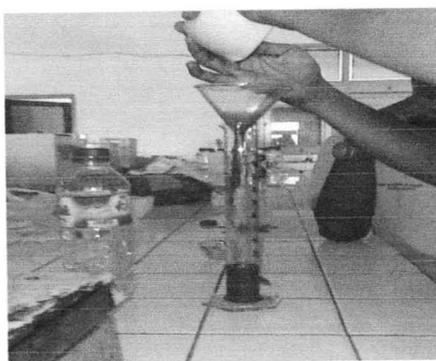
Lampiran 1. Gambar Alat dan Bahan



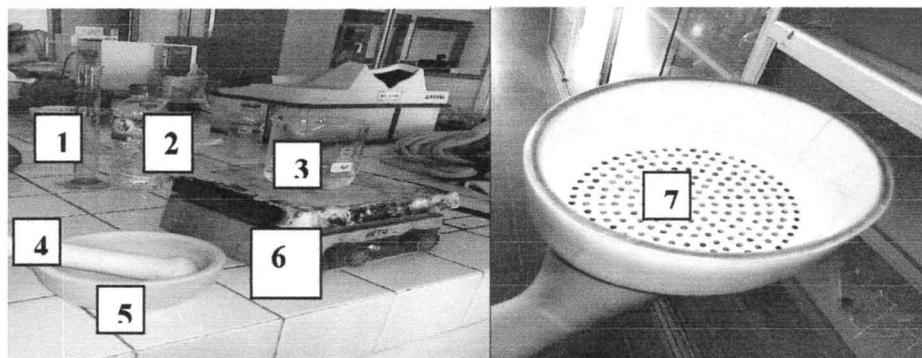
Gambar 1.1. Alat *Rotary evaporator* : untuk mengeringkan maserat (serbuk rimpang temu hitam + etanol) supaya menjadi ekstrak etanol rimpang temu hitam.



Gambar 1.2. Timbangan digital merk *Danver Instrument* untuk : menimbang serbuk rimpang temu hitam, menimbang CMC Na 1% (*Sodium Carboxymethylcellulose*).

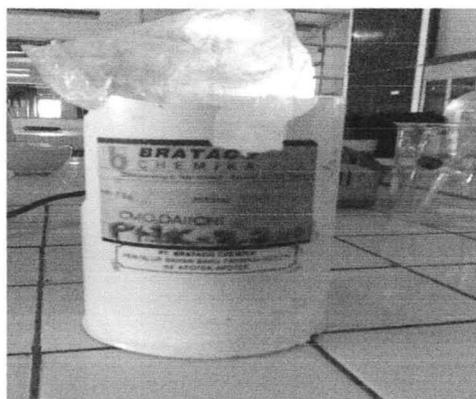


Gambar 1.3. Ekstrak rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dimasukkan ke dalam gelas ukur untuk mengukur dosis pemberian per hari pada ayam.

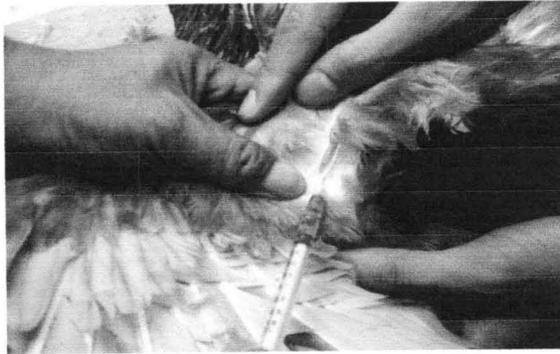


Gambar 1.4. Alat pembuatan ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

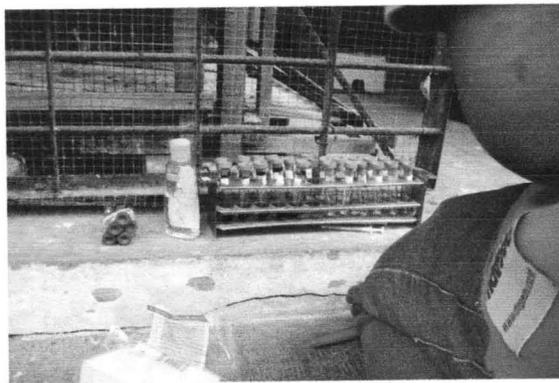
Keterangan : 1. Gelas ukur, 2 .Akuades, 3. Gelas beker, 4. Stamper untuk menggerus CMC Na 1% dengan ekstrak etanol rimpang temu hitam dan 5. Mortir, 6. Penangas air, 7. Corong *Buchner* untuk menyaring serbuk rimpang temu hitam yang sudah bercampur dengan etanol.



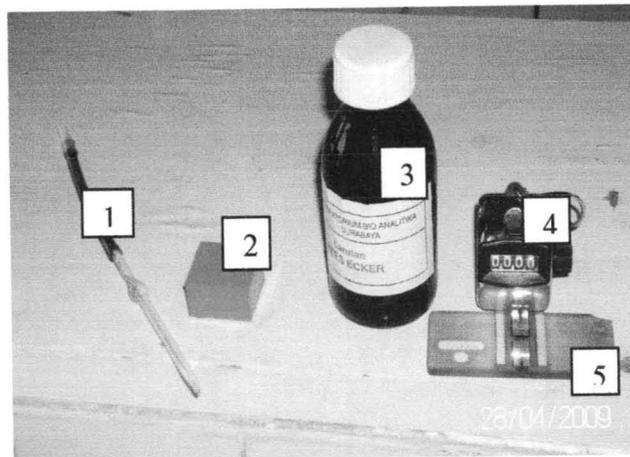
Gambar 1.5. CMC Na 1% : sebagai suspensator dalam pembuatan suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam agar suspensi ekstrak rimpang temu hitam lebih homogen.



Gambar 1.6 Pengambilan darah ayam untuk koleksi sampel. Yang selanjutnya dilakukan penghitungan leukosit terhadap sampel darah di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga SURABAYA.



Gambar 1.7 Sampel darah dari 25 ekor ayam petelur yang dipersiapkan untuk penghitungan leukosit



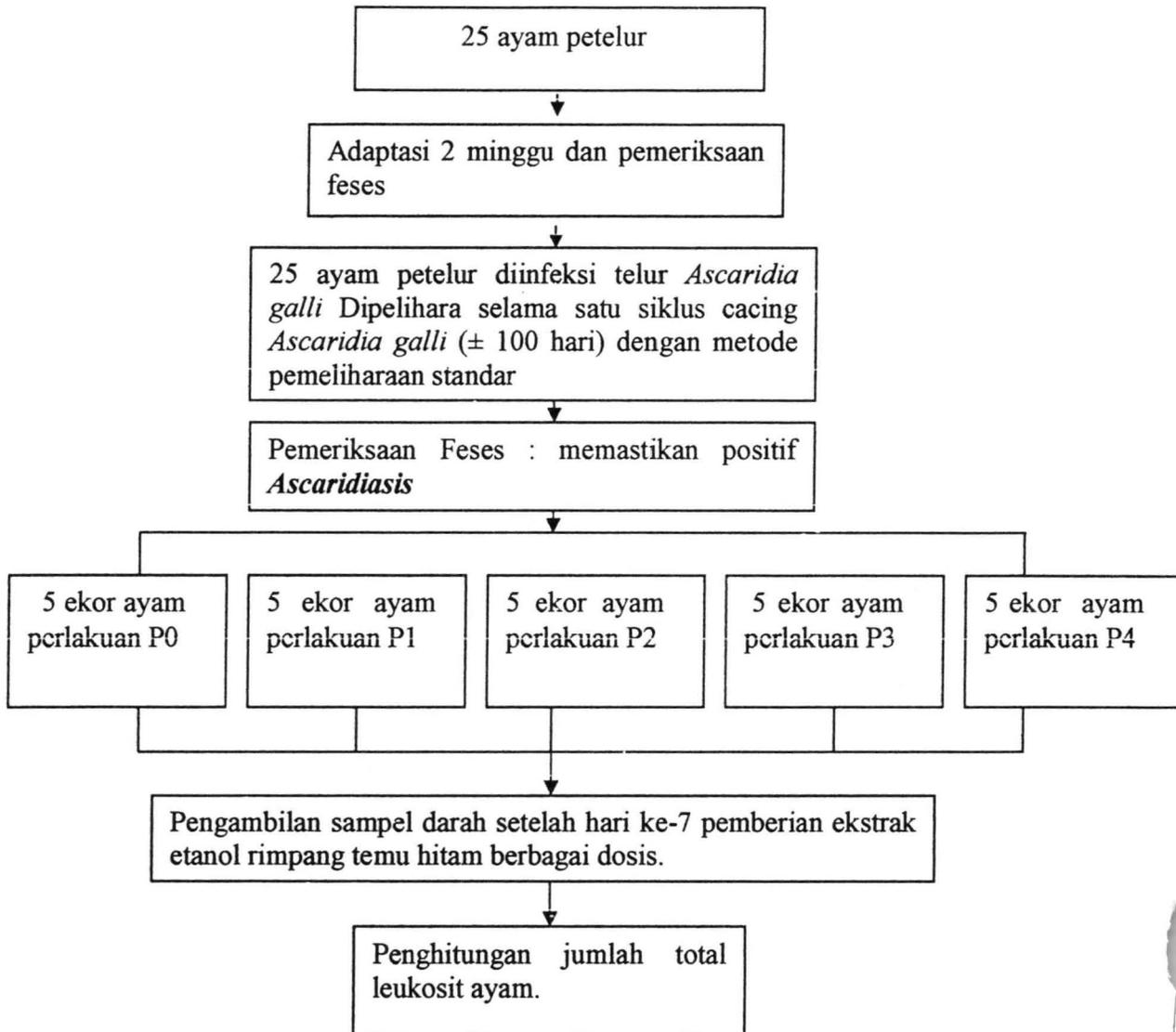
Gambar 1.8 Peralatan dan bahan penghitungan leukosit

Keterangan :1 .Pipet leukosit + vacuum blood, 2. Kaca penutup (Cover glass), 3.Larutan Rees-Ecker, 4.Counter, 5.Kamar hitung *Improved Neubauer spencer brightline* 1/10 mm deep untuk menghitung leukosit ayam.



Gambar 1.9 Mikroskop binokuler (Olympus® CX 21 *Microscope Digital Camera System*) untuk memeriksa leukosit ayam.

Lampiran 2. Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir penelitian pengaruh pemberian ekstrak temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) terhadap jumlah dan hitung total leukosit pada ayam petelur dewasa yang diinfeksi cacing *Ascaridia galli*.

Lampiran 3. Penghitungan Jumlah Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam
(*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

Dosis obat yang digunakan pada penelitian ini merupakan dosis yang diambil dari rentang dosis pada manusia. Dosis suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam yang diberikan pada manusia adalah 250 mg/kg BB/hari (W.S.P.U, 2009).

Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah mengambil 100 mg/ekor/hari sampai 400 mg/ekor/hari.

Rentang dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam adalah sebagai berikut :

$$F = \sqrt[r]{I}$$

F = Faktor penyebaran

r = N (banyaknya peringkat dosis) – 1

$$I = \frac{\text{dosis terkecil yang menyebabkan kematian 100\%}}{\text{dosis terbesar yang menyebabkan kematian 0\%}}$$

$$r = 4-1$$

$$= 3$$

$$F = \sqrt[3]{\frac{400}{100}}$$

$$= 1,58$$

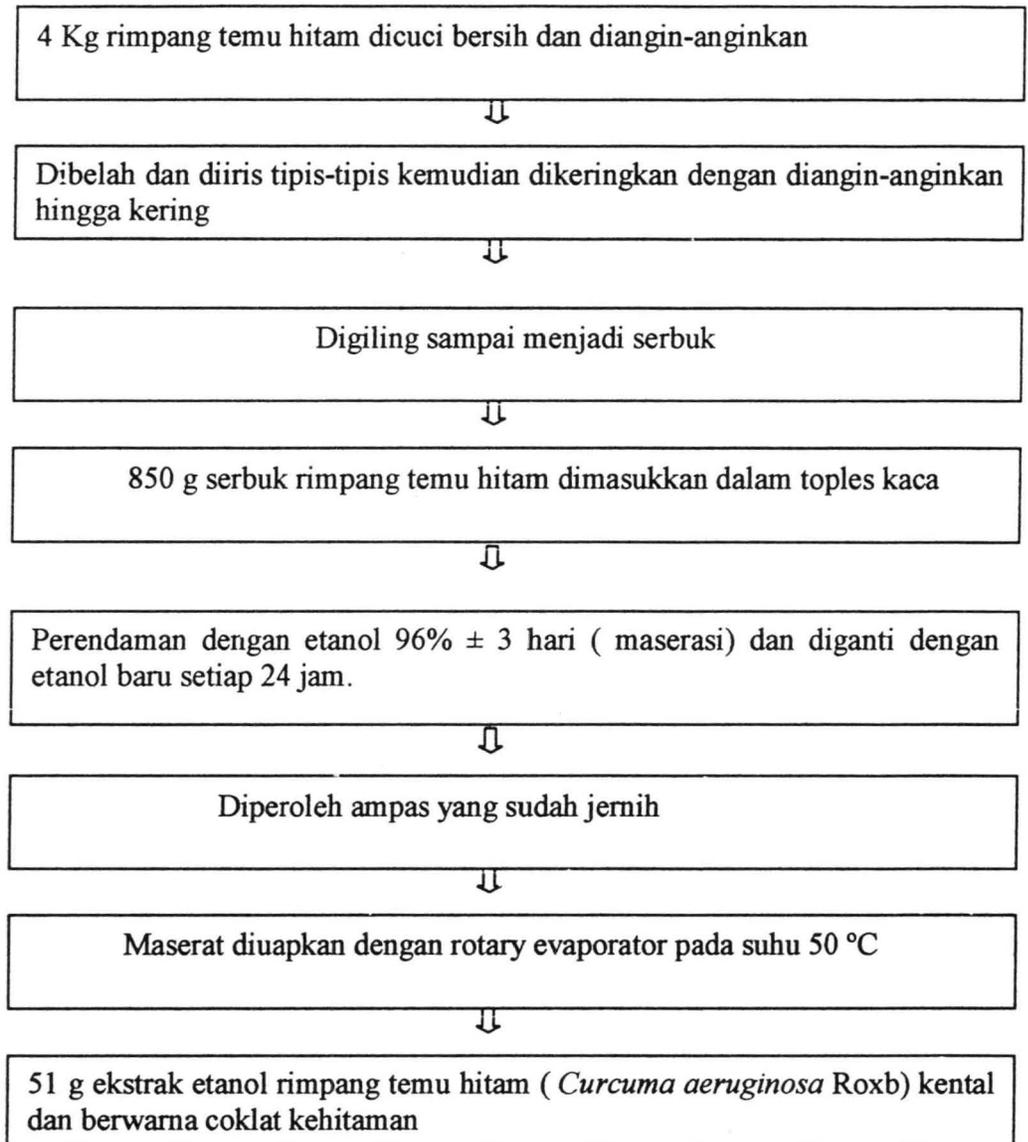
Dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam I ≈ 100 mg/ekor/hari

Dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam II = $100 \times 1,58 \approx 200$ mg/ekor/hari

Dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam III = $158 \times 1,58 \approx 300$ mg/ekor/hari

Dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam IV = $250 \times 1,58 \approx 400$ mg/ekor/hari

Lampiran 4. Prosedur Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam
(*Curcuma aeruginosa* Roxb.)



Rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) yang diperoleh dari pasar Wonokromo Surabaya sebanyak 4 Kg dicuci bersih dan ditiriskan kemudian dibelah dan diiris tipis-tipis, kemudian diangin-anginkan hingga kering. Rimpang

yang telah kering kemudian digiling hingga didapat serbuk halus sebanyak 850 gram.

Serbuk halus temu hitam sebanyak 850 gram dimasukkan ke dalam toples kaca, kemudian dituangi etanol 96% sambil diaduk hingga semua serbuk tercampur merata dan terendam seluruhnya (\pm 1,5 liter etanol), selanjutnya toples ditutup rapat dan dibiarkan paling sedikit 24 jam, setelah itu bahan tersebut disaring dengan penyaring *Buchner* dengan bantuan pompa hisap, kemudian bahan direndam lagi dengan etanol baru. Maserasi atau perendaman dilakukan hingga tiga kali dengan etanol baru. Maserasi dihentikan bila sudah didapat ampas yang tidak berwarna atau sudah jernih. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor pada suhu 50°C dan sebagai hasil akhir diperoleh ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) yang kental dan berwarna coklat kehitaman sebanyak 51 gram.

Lampiran 5 . Penyiapan Sediaan Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Selama Perlakuan

Pemberian perlakuan pada setiap ayam petelur menggunakan volume sebesar 1 ml, maka jumlah volume suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam untuk masing-masing perlakuan selama tujuh hari adalah :

$$\begin{aligned} \text{Volume suspensi} &= \text{Jumlah ulangan} \times \text{Volume tiap pemberian perlakuan} \times \\ &\quad \text{lama pemberian} \\ &= 5 \times 1 \times 7 = 35 \text{ ml} \sim (\text{dibuat lebih menjadi } 40 \text{ ml}) \end{aligned}$$

Sedangkan dosis ekstrak etanol rimpang temu hitam dalam 40 ml suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam untuk tiap perlakuan adalah :

- a. P1 (Pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam 100 mg/ekor/hari)

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Volume Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam}}{\text{Volume Pemberian Perlakuan}} \times \text{Dosis Perlakuan} \\ &= \frac{40 \text{ ml}}{1 \text{ ml/ekor/hari}} \times 100 \text{ mg/ekor/hari} \\ &= 4000 \text{ mg} = 4 \text{ gram} \end{aligned}$$

- b. P2 (pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam 200 mg/ekor/hari)

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Volume Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam}}{\text{Volume Pemberian Perlakuan}} \times \text{Dosis Perlakuan} \\ &= \frac{40 \text{ ml}}{1 \text{ ml/ekor/hari}} \times 200 \text{ mg/ekor/hari} \\ &= 8000 \text{ mg} = 8 \text{ gram} \end{aligned}$$

- c. P3 (pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam 300 mg/ekor/hari)
- $$= \frac{\text{Volume Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam} \times \text{Dosis Perlakuan}}{\text{Volume Pemberian Perlakuan}}$$
- $$= \frac{40 \text{ ml}}{1 \text{ ml/ekor/hari}} \times 300 \text{ mg/ekor/hari}$$
- $$= 12000 \text{ mg} = 12 \text{ gram}$$
- d. P4 (pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam 400 mg/ekor/hari)
- $$= \frac{\text{Volume Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam} \times \text{Dosis Perlakuan}}{\text{Volume Pemberian Perlakuan}}$$
- $$= \frac{40 \text{ ml}}{1 \text{ ml/ekor/hari}} \times 400 \text{ mg/ekor/hari}$$
- $$= 16000 \text{ mg} = 16 \text{ gram}$$

Botol dikalibrasi dengan volume 40 ml. Ekstrak rimpang temu hitam ditimbang sesuai dengan berat yang dibutuhkan tiap perlakuan, kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan digerus kemudian ditambahkan *mucilage* CMC Na 1% yang telah mengembang ke dalam mortir yang berisi ekstrak dan digerus dengan stamper sampai homogen. Suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam dimasukkan ke dalam botol yang sudah dikalibrasi dan menambahkan aquades hingga 40 ml, kemudian diaduk sampai homogen. Setelah pemberian perlakuan, botol yang berisi ekstrak etanol rimpang temu hitam disimpan dalam kulkas agar suspensi ekstrak etanol rimpang temu hitam tidak cepat berjamur dan tahan lama selama penyimpanan.

Lampiran 6. Tabel penghitungan jumlah leukosit total ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli* dan pemberian ekstrak etanol rimpang temu hitam berbagai dosis.

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
JumlahL * Perlakuan	25	86.2%	4	13.8%	29	100.0%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

			JumlahL	
Perlakuan	P0	1	24500	
		2	20050	
		3	20550	
		4	21500	
		5	23150	
		Total	N	5
			Sum	109750
			Mean	21950.00
			Std. Deviation	1851.688
		P1	1	32400
			2	30100
			3	30650
			4	32400
			5	29450
		Total	N	5
		Sum	155000	
		Mean	31000.00	
		Std. Deviation	1346.755	
	P2	1	34950	
		2	34400	
		3	33800	
		4	33000	
		5	30600	
	Total	N	5	
		Sum	166750	
		Mean	33350.00	
		Std. Deviation	1699.265	
	P3	1	31850	
		2	32550	
		3	32100	
		4	33400	
		5	34200	
	Total	N	5	
		Sum	164100	
		Mean	32820.00	
		Std. Deviation	971.211	
	P4	1	36050	
		2	35750	
		3	34900	
		4	35150	
		5	32600	
	Total	N	5	
		Sum	174450	
		Mean	34890.00	
		Std. Deviation	1359.871	
	Total	N	25	
		Sum	770050	
		Mean	30802.00	
		Std. Deviation	4882.184	

a Limited to first 100 cases

Lampiran 7. Tabel hasil Penghitungan Jumlah Leukosit total Pada Ayam Petelur menggunakan analisa statistik One Way ANOVA

Oneway

Descriptives

JumlahL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	5	21950.00	1851.688	828.100	19650.83	24249.17	20050	24500
P1	5	31000.00	1346.755	602.287	29327.78	32672.22	29450	32400
P2	5	33350.00	1699.265	759.934	31240.08	35459.92	30600	34950
P3	5	32820.00	971.211	434.339	31614.08	34025.92	31850	34200
P4	5	34890.00	1359.871	608.153	33201.50	36578.50	32600	36050
Total	25	30802.00	4882.184	976.437	28786.73	32817.27	20050	36050

Test of Homogeneity of Variances

JumlahL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.698	4	20	.602

ANOVA

JumlahL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	528367400.000	4	132091850.000	60.468	.000
Within Groups	43690000.000	20	2184500.000		
Total	572057400.000	24			

Lampiran 8. Tabel Hasil Penghitungan Jumlah Leukosit Total pada Ayam Petelur Dewasa Menggunakan analisa statistic *Duncan Multiple Range*.

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

JumlahL

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
P0	5	21950.00			
P1	5		31000.00		
P3	5		32820.00	32820.00	
P2	5			33350.00	33350.00
P4	5				34890.00
Sig.		1.000	.066	.577	.115

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 9. Penghitungan Kenaikan Jumlah Leukosit

Jumlah leukosit total pada P0 = 21.950/ul dibandingkan dengan jumlah leukosit total pada semua perlakuan, yaitu :

Jumlah leukosit total pada P1 = 31.000/ul Maka, pada P1 terjadi peningkatan $31.000/ul - 21.950/ul = 9.050/ul$.

Jumlah leukosit total pada P2 = 33.350/ul Maka, pada P1 terjadi peningkatan $33.350/ul - 21.950/ul = 11.400/ul$.

Jumlah leukosit total pada P3 = 32.820/ul Maka, pada P1 terjadi peningkatan $32.890/ul - 21.950/ul = 10.870/ul$.

Jumlah leukosit total pada P4 = 34.890/ul .Maka, pada P4 terjadi peningkatan $34.890/ul - 21.950/ul = 12.940/ul$.

