

PENGARUH SUPLEMENTASI KOMBINASI VITAMIN E, ZINC, DAN SELENIUM DALAM MINUM TERHADAP TOTAL LEUKOSIT DAN DEFERENSIAL LEUKOSIT AYAM KAMPUNG BETINA

The Effect of Combination Of Vitamin E, Zinc, And Selenium Supplementation In Drinking On Total Leucocytes And Differential Leucocytes Of Female Native Chicken

Wahyu Purnomo Aji^{1*}, Siswanto Siswanto¹, Muhtarudin Muhtarudin¹, dan Purnama Edy Santosa¹

¹Departement of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung

*E-mail: wahyupurnomoaji123@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of supplementation with a combination of vitamin E, zinc and selenium on total leukocytes and differential leukocytes (neutrophils, eosinophils, basophils, lymphocytes, monocytes) of female native chickens. This research was conducted in January – March 2022 at the Integrated Field Laboratory Cage, Faculty of Agriculture, University of Lampung. Analysis of blood samples in this study was conducted at the Laboratory of Animal Physiology and Reproduction, Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung and Lampung Veterinary Center, Bandar Lampung. This experimental study used 4 treatments and 3 replications. The treatment was given through drinking water with P0: (Control); P1: 0.015 g/kg BW (Vitamin E 0.6 IU, Zn 2.4 mg, Selenium 0.06 mg); P2: 0.03 g/kg BW (Vitamin E 1.2 IU, Zn 4.8 mg, Selenium 0.012 mg); P3: 0.06 g/kg BW (Vitamin E 2.4 IU, Zn 9.6 mg, Selenium 0.024 mg). The data obtained were analyzed descriptively. The results showed that the treatment of supplementation with a combination of vitamin E, zinc, and selenium could maintain the average total leukocyte in normal conditions in all treatments, while the treatment with supplementation with a combination of vitamin E, zinc, and selenium could maintain the mean differential leukocytes under conditions normal values were found in treatments P1 and P2.

Keywords: Vitamin E, Zinc, Selenium, Leukocytes, Differential Leukocytes, Female Native Chicken.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, *zinc* dan selenium terhadap total leukosit dan diferensial leukosit (neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, monosit) ayam kampung betina. Penelitian ini dilaksanakan pada Januari–Maret 2022 di Kandang Laboratorium Lapang Terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Analisis sampel darah pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Balai Veteriner Lampung, Bandar Lampung. Penelitian eksperimental menggunakan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan melalui air minum dengan P0: (Kontrol); P1: 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Zn 2,4 mg, Selenium 0,06 mg); P2: 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Zn 4,8 mg, Selenium 0,012 mg); P3: 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Zn 9,6 mg, Selenium 0,024 mg). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink, dan selenium dapat mempertahankan rata-rata total leukosit dalam kondisi normal pada semua perlakuan, sedangkan perlakuan pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink, dan selenium dapat mempertahankan rata-rata diferensial leukosit dalam kondisi normal terdapat pada perlakuan P1 dan P2.

Kata kunci: Vitamin E, Zink, Selenium, Leukosit, Diferensial Leukosit, Ayam Kampung Betina

PENDAHULUAN

Industri perunggasan bisa dikatakan memegang peranan sangat penting dalam mendorong perekonomian di Indonesia. Hal ini karena industri perunggasan kini mampu menghasilkan swasembada daging unggas maupun telur. Tidak kalah pentingnya adalah usaha perunggasan ikut berperan dalam meningkatkan kesehatan dan kecerdasan masyarakat, melalui produk daging ayam dan telur konsumsi yang dihasilkannya. Berdasarkan Data Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan Tahun 2021 populasi ayam buras pada 2020 di Indonesia mencapai 305,4 juta ekor, meningkat sekitar 1,22% atau sebanyak 3,6 juta

ekor dari populasi pada 2019 sebanyak 301,8 juta ekor. Perkembangan teknologi terutama di sektor budidaya dan bibit unggul, dengan tujuan agar proses produksi menjadi lebih cepat dan efisien merupakan salah satu faktor yang penting dalam menunjang industri perunggasan khususnya ayam buras. Jenis ayam Buras yang paling banyak digemari karena manajemen pemeliharaan yang mudah, mempunyai rasa daging yang khas dan kandungan nutrisi pada dagingnya yang cukup tinggi adalah ayam kampung.

Ayam kampung sejak lama sudah dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia terutama yang tinggal di pedesaan. Pada umumnya ayam dipelihara secara diumbar di halaman dan di kebun sekitar rumah, sebagian dipelihara secara semi intensif dan lebih sedikit mengusahakan secara intensif. Ayam kampung yang lebih mudah dipelihara dan mempunyai keuntungan yang lebih besar apabila dibudidaya adalah ayam kampung betina. Ayam kampung betina lebih banyak dibudidayakan, karena ayam betina mempunyai keunggulan lebih banyak dari pada jantan. Ayam betina mempunyai fungsi sebagai penghasil telur dan daging sedangkan ayam jantan hanya penghasil daging saja, akan tetapi menurut Suharyanto (2007) permasalahan ayam kampung betina yang sering terjadi di sebabkan oleh rendahnya fertilitas telur, rendahnya produksi telur dan mudahnya terserang penyakit

Permasalahan lainnya yaitu mahalnya harga pakan yang mempunyai fungsi sebagai kebutuhan ayam untuk tumbuh secara optimal, sementara produktivitasnya rendah. Kondisi kesehatan ayam kampung yang sangat rentan terhadap penyakit sangat merugikan peternak. Oleh sebab itu, perlu adanya upaya dalam meningkatkan produktivitas, ketahanan dan kesehatan ayam kampung dengan cara mengombinasikan suplemen yang tinggi antioksidan dan imonostimulan yang berfungsi sebagai imunitas tubuh antara lain berupa vitamin E, Zink dan Selenium. Vitamin E, Zn dan Selenium mempunyai peranan sama penting dalam mengoptimalkan daya tahan tubuh ayam kampung. Terbukti bahwa Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan dan menjaga zigot pada ternak betina (Rasyaf, 1997), mineral Zink sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh terutama pada sistem pertahanan tubuh baik selular maupun respon imun humoral dan pertumbuhan sel (Widyhari, 2012), Selenium mempunyai fungsi untuk melindungi membran biologis dari degenerasi oksidatif dan juga meningkatkan kekebalan tubuh optimal pada ayam (Tamzil *et al.*, 2014). Peningkatan kualitas minum yang disuplementasikan dengan vitamin E, Zn dan Selenium akan meningkatkan sistem kekebalan dalam tubuh. Berdasarkan pendapat Wahyu (1958) pemberian dosis vitamin E terhadap ayam kampung yaitu 10 IU, *zinc* 40 mg, dan selenium 0,15 mg. Peningkatan ini dapat dilihat dengan metode penilaian status kesehatan ayam kampung melalui penilaian hematologi yaitu variabel darah berupa *leukosit* dan diferensial *leukosit* secara lengkap.

Leukosit merupakan sel yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh yang sangat tanggap terhadap agen infeksi penyakit. *Leukosit* merupakan sel darah yang melindungi tubuh terhadap kuman-kuman penyakit yang menyerang tubuh dengan cara fagosit, menghasilkan antibodi. *Leukosit* terdiri atas limfosit, monosit, basofil, neutrofil/neutrofil dan eosinofil. Perubahan jumlah leukosit dalam sirkulasi darah dapat diartikan sebagai timbulnya agen penyakit, peradangan, penyakit autoimun atau reaksi alergi (Lestari *et al.*, 2013). Diferensial *leukosit* merupakan kesatuan dari sel darah putih yang terdiri dari dua kelompok yaitu granulosit yang terdiri atas neutrofil, eosinofil, dan basofil, dan kelompok agranulosit yang terdiri dari limfosit dan monosit (Umi *et al.*, 2007)

Meskipun penelitian mengenai gambaran darah pada ternak unggas telah banyak dilakukan, namun penelitian terkait gambaran darah leukosit dan diferensial leukosit ayam kampung betina yang diberi minum dengan kombinasi vitamin E, Zn dan selenium belum dilakukan. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian terkait pengaruh pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, Zn dan Selenium yang berbeda dalam minum untuk melihat jumlah total *leukosit* dan diferensial *leukosit* sebagai acuan dalam peningkatan produktivitas dan kesehatan ternak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total leukosit dan diferensial leukosit (neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, monosit) ayam kampung betina yang diberi suplementasi kombinasi vitamin E, *zinc* dan selenium.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari--Maret 2022 di Kandang Laboratorium Lapang Terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Analisis sampel darah pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Balai Veteriner Lampung, Bandar Lampung.

Materi

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain kandang ayam kampung, kayu reng untuk membuat 12 petak kandang dengan ukuran 1x1 m masing-masing petak terdiri dari 5 ekor ayam kampung

betina, sekam dan koran bekas sebagai *litter*, plastik terpal untuk tirai, lampu bohlam 25 watt sebanyak 12 buah sebagai sumber pemanas pada area *brooding*, 12 buah *chick feeder tray* dan *hanging feeder*, 12 buah tempat minum manual, 1 buah nampan air *dipping*, 1 buah ember, 1 buah *hand sprayer*, 1 buah timbangan kapasitas 10 kg untuk menimbang ransum, 1 buah timbangan elektrik, 1 buah *thermohygrometer* untuk mengukur suhu dan kelembaban udara di kandang, tali raffia, karung dan plastik, 12 buah spuit (*disposable syringe*) 5 ml untuk mengambil sampel darah ayam kampung, 12 buah tabung EDTA (*ethylene diamine tetraacetid acid*) untuk wadah serum darah, gunting, pisau dan alat tulis untuk mencatat data yang diperoleh.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Day Old Chick* (DOC) ayam kampung betina sebanyak 60 ekor dengan pemeliharaan hingga umur 54 hari, ransum, air minum dan sediaan vitamin E, Zinc dan Selenium. Alkohol 70%, larutan turk, pipet thoma, vaksin *Newcastle Disease* (ND) *live*, vaksin *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza* (NAI) *killed*, vaksin *Infectious Bursal Disease* (IBD) *live*.

Metode

Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental terdiri atas 4 perlakuan suplementasi kombinasi vitamin E, zinc, dan selenium yang diulang 3 kali dengan total 12 unit petak percobaan, masing-masing unit berisi 5 ekor ayam kampung betina, sehingga jumlah ayam joper 60 ekor.

P0: Air minum tanpa vitamin E, zinc dan selenium (kontrol)

P1: Air minum dengan 0,015 g/kg BB (vitamin E 0,6 IU, zinc 2,4 mg, selenium 0,06 mg)

P2: Air minum dengan dosis 0,03 g/kg BB (vitamin E 1,2 IU, zinc 4,8 mg, selenium 0,012 mg)

P3: Air minum dengan dosis 0,06 g/kg BB (vitamin E 2,4 IU, zinc 9,6 mg, selenium 0,024 mg)

Peubah yang diamati

Peubah yang diamati pada saat penelitian ini yaitu total *leukosit* dan deferensial *leukosit* berupa neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, monosit.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap yaitu membersihkan dan mempersiapkan kandang yang digunakan sebagai tempat penelitian, pemeliharaan ayam kampung betina, pengambilan sampel darah ayam kampung betina, dan pengujian sampel darah ayam kampung betina.

Pemeliharaan dilakukan pada 60 ekor ayam kampung betina. Pemberian air minum dengan perlakuan dilakukan setiap hari pada hari ke 14 setiap pukul 07.00 WIB sampai hari ke 54 pemeliharaan. Kegiatan vaksinasi yang diberikan terdiri dari vaksin *Newcastle Disease* (ND), *Avian Influenza* (AI) dan *Infectious Bursal Disease* (IBD). Vaksin ND *live* diberikan saat ayam kampung betina berumur 7 hari melalui tetes mata dan hidung. Vaksin NAI *killed* dan IBD diberikan saat ayam kampung umur 14 hari melalui suntik subkutan dan cekok mulut. Vaksin ulangan ND *live* diberikan saat ayam kampung betina berumur umur 21 hari melalui tetes mata dan hidung.

Pengambilan sampel darah dilakukan ketika ayam kampung berumur 54 hari. Setiap petak percobaan diambil 1 ekor ayam kampung untuk diambil darahnya sehingga didapatkan 12 sampel darah. Pengambilan darah dilakukan dengan menggunakan *disposable syringe* 3 ml melalui *vena brachialis* sebanyak 3 ml. Kemudian sampel darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA untuk di kirim ke Balai Veteriner Lampung dalam keadaan rantai dingin.

Perhitungan total leukosit berdasarkan pendapat Agustyas *et al.*, (2014), yaitu menggunakan pipet thoma leukosit dengan bantuan alat pengisap (aspirator) sampai batas 0,5; larutan pengencer Turk diisap sampai tanda 11 yang tertera isi pipet leukosit, kemudian pipet aspirator dilepaskan; kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari telunjuk tangan kanan, isi pipet dikocok dengan membentuk gerakan angka 8, kemudian cairan tidak ikut terkocok dibuang; setetes cairan dimasukkan ke dalam kamar hitung dan dibiarkan butir-butir yang ada di dalam kamar hitung mengendap; butir darah dihitung menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali; untuk menghitung leukosit dalam hemocytometer neubauer, digunakan kotak leukosit yang berjumlah 4 buah dari 9 kotak utama; jumlah *leukosit* yang didapat dari hasil perhitungan dengan mikroskop dikalikan 50 untuk mengetahui jumlah leukosit dalam setiap 1 mm³ darah kemudian dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah leukosit yang dihitung} = \frac{\text{Jumlah leukosit dihitung}}{\text{Volume yang dihitung}(\mu\text{l})} \times \text{Faktor Pengencer}$$

Perhitungan total diferensial leukosit berdasarkan pendapat Sastradipradja *et al.*, (1989), yaitu darah dibuat preparat ulas + 2 cm dari ujung gelas objek; preparat ulas difikasi dengan metanol 75% selama 5 menit kemudian diangkat sampai kering udara; ulasan darah direndam dengan larutan giemsa selama 30 menit, diangkat dan dicuci dengan menggunakan air kran yang mengalir untuk menghilangkan zat warna yang berlebihan, kemudian dikeringkan dengan kertas isap³; preparat ulas diletakkan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dan ditambahkan minyak imersi kemudian dihitung limfosit, mtonosit, eosinofil, neutrofil, secara zigzag dan perbesaran 1000 kali sampai jumlah total 100 butir leukosit.

Analisis data

Data profil darah dari masing- masing perlakuan dan kontrol disusun dalam bentuk tabulasi dan histogram sehingga akan tersedia data untuk diolah dengan analisis deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Total Leukosit

Rata-rata total *leukosit* ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1, total *leukosit* ayam kampung betina berkisar 25,98--29,23 x 10³ sel/ µl. Total *leukosit* cenderung lebih tinggi terdapat pada perlakuan P0 (29,23 x 10³ sel/ µl) dan total *leukosit* cenderung lebih rendah terdapat pada perlakuan P3 (25,98 x 10³ sel/µl).

Tabel 1 Rata-rata total *leukosit* setelah pemberian minum perlakuan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	-----10 ³ sel/µl-----			
1	25,25	34,85	27,75	18,75
2	27,95	26,70	31,20	34,35
3	34,50	24,15	24,35	24,84
Jumlah	87,70	85,70	83,30	77,94
Rata-rata	29,23±4,76	28,57±5,59	27,77±3,43	25,98±7,86

Keterangan :

P0: air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

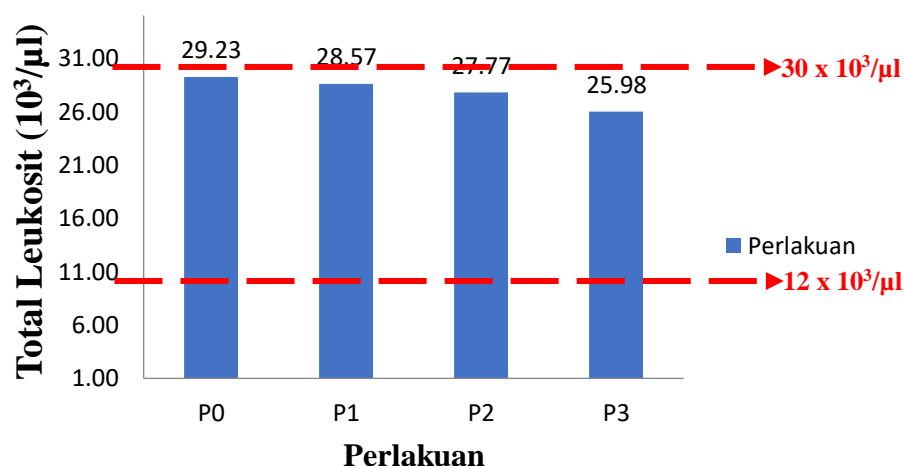
P1: air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

P2: air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3: air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).

Berdasarkan data hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium pada air minum memiliki perbedaan nilai rata-rata terhadap total *leukosit* ayam kampung betina. Rata-rata jumlah *leukosit* ayam kampung betina (25,98--29,23 x 10³ sel/ µl) tersebut masih berada dalam kisaran normal. Menurut Moenek *et al.* (2019) jumlah *leukosit* normal pada ayam kampung betina berada pada kisaran 12--30 x 10³/µl. Hal ini menunjukkan bahwa ayam kampung betina dalam kondisi prima, nutrien dalam tubuh tercukupi dan ayam tidak terserang penyakit, peradangan, ataupun penyakit autoimun atau reaksi alergi. Hal ini sesuai dengan pendapat Purnomo *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa kenaikan dan penurunan jumlah *leukosit* dalam sirkulasi menggambarkan ketanggapan sel darah putih dalam mencegah hadirnya agen penyakit dan peradangan.

Histogram yang disajikan pada Gambar 1 menunjukkan bahwa jumlah *leukosit* pada P1 (Vitamin E 0,6 IU, Zn 2,4 mg, Selenium 0,06 mg), P2 (Vitamin E 1,2 IU, Zn 4,8 mg, Selenium 0,012 mg) dan P3 (Vitamin E 2,4 IU, Zn 9,6 mg, Selenium 0,024 mg) masih berada pada kisaran normal. Hal tersebut dikarenakan perlakuan yang diberikan, berupa penambahan vitamin E, zink, dan selenium mampu mempertahankan *leukosit* dalam darah. Pada perlakuan dengan pemberian dosis perlakuan vitamin E, zink, dan selenium lebih tinggi cenderung menurunkan jumlah *leukosit* ayam kampung betina. Hal ini sesuai dengan pendapat Setiawan, *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa semakin tinggi penambahan suplementasi vitamin E dapat menurunkan jumlah *leukosit* yang tinggi, peningkatan kadar vitamin E dalam darah dapat menurunkan jumlah *leukosit* dan menghambat terjadinya cedera serta peradangan pada tubuh ternak.



Gambar 1. Rata-rata total leukosit ayam kampung betina dari setiap perlakuan

Pemberian vitamin dan mineral pada perlakuan P1 (Vitamin E 0,6 IU, Zn 2,4 mg, Selenium 0,06 mg), P2 (Vitamin E 1,2 IU, Zn 4,8 mg, Selenium 0,012 mg) dan P3 (Vitamin E 2,4 IU, Zn 9,6 mg, Selenium 0,024 mg) dalam minum dapat mempengaruhi tingkat sistem imun terhadap leukosit dan juga melindungi tubuh dari radikal bebas yang mampu merusak struktur sel dan jaringan. Hal ini dikarenakan vitamin E, zink dan selenium yang diberikan sesuai dengan takaran yang seimbang sehingga mampu menjaga tingkat kestabilan kesehatan ayam kampung betina. Menurut Youngson (2005) vitamin E terlibat dalam banyak proses tubuh dan beroperasi sebagai antioksidan alami yang membantu melindungi struktur sel yang penting, terutama selaput sel, dari efek radikal bebas yang merusak. Adapun menurut pendapat Akil *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa kombinasi yang sinergis antara vitamin E dan selenium berfungsi melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif dan dapat meningkatkan respon imun/kekebalan.

Meskipun mineral zink dibutuhkan dalam jumlah sedikit akan tetapi mineral tersebut mutlak harus ada karena zink tidak bisa dikonversi dari zat gizi lain. Penambahan mineral zn dengan dosis yang tepat dapat mengoptimalkan fungsi tanggap kebal dan diferensiasi sel, sehingga total leukosit ayam kampung betina masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Paik, (2001) yang menyatakan bahwa mineral zink dibutuhkan dalam jumlah sedikit akan tetapi mutlak harus ada di dalam pakan, karena zink tidak bisa dikonversi dari zat gizi lain. Mineral ini berperan dalam berbagai aktivitas enzim, pertumbuhan dan diferensiasi sel, serta berperan penting dalam mengoptimalkan fungsi sistem tanggap kebal.

Total leukosit normal pada perlakuan P1, P2 dan P3 tidak lepas dari fungsi selenium yang berfungsi sebagai antioksidan guna melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Hal ini sesuai dengan pendapat Lubis *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa selenium adalah antioksidan untuk komponen/bahan pembentuk enzim dan daya tahan tubuh serta reproduksi ternak. Adapun menurut pendapat Tamzil *et al.* (2014) selenium merupakan antioksidan yang berfungsi untuk melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Selain itu selenium dapat mengurangi pengaruh negatif yang disebabkan oleh stres.

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Total Diferensial Leukosit

Tabel 2 Rata-rata total neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit

Perlakuan	Peubah				
	Neutrofil	Eosinofil	Basofil	Limfosit	Monosit
	------(%)-----				
P0	24,00±2,65	2,33±4,04	1,33±2,31	61,33±11,59	10,67±3,79
P1	27,67±8,62	0,33±0,58	0,00±0,00	65,67±7,77	7,00±1,73
P2	35,67±14,01	2,00±0,00	0,67±0,58	52,33±13,01	8,33±1,53
P3	22,67±4,04	0,67±1,15	0,33±0,58	66,33±4,93	9,33±0,58

Keterangan :

P0 : air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

P1 : air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

P2 : air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3 : air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).

Rata-rata total diferensial *leukosit* ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2. Diferensial *leukosit* terbagi menjadi dua yaitu *leukosit* granulosit yang terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil dan *leukosit* agranulosit yang terdiri dari monosit dan limfosit. Rata-rata hasil masing-masing diferensial *leukosit* setelah dilakukan perlakuan meliputi P0 (kontrol), P1 (Vitamin E 0,6 IU, Zn 2,4 mg, Selenium 0,06 mg), P2 (Vitamin E 1,2 IU, Zn 4,8 mg, Selenium 0,012 mg) dan P3 (Vitamin E 2,4 IU, Zn 9,6 mg, Selenium 0,024 mg) dapat dilihat pada Tabel 2.

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Rata-rata Neutrofil

Rata-rata jumlah neutrofil ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 3, jumlah neutrofil ayam kampung betina berkisar 16,00--35,33%. Jumlah neutrofil cenderung lebih tinggi terdapat pada perlakuan P1 (35,33%) dan jumlah neutrofil cenderung lebih rendah terdapat pada perlakuan P3 (16,00%).

Tabel 3 Rata-rata total neutrofil setelah pemberian minum perlakuan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(%)-----			
1	26	31	21	13
2	32	34	31	20
3	33	42	34	16
Jumlah	91	107	86	49
Rata-rata	30,17±4,07	35,33±5,97	28,33±6,53	16,00±3,50

Keterangan :

P0: air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

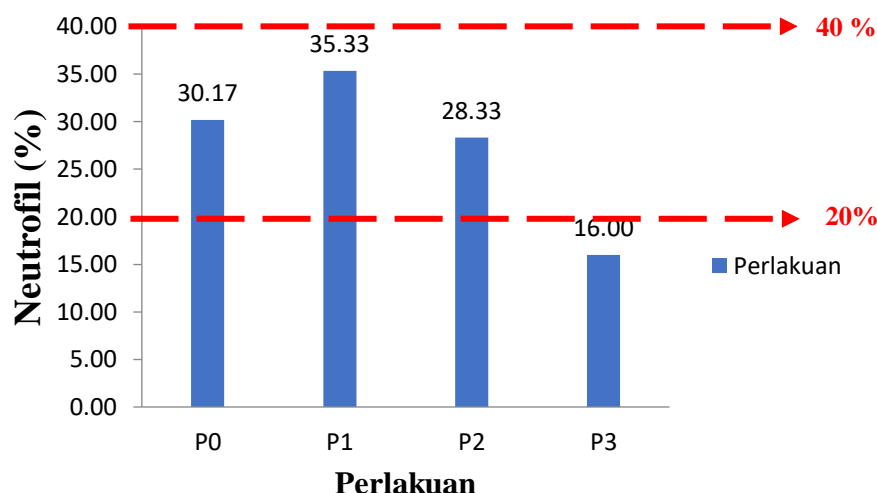
P1: air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

P2: air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3: air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).

Berdasarkan data hasil analisis pada Tabel 3, pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium pada air minum memiliki perbedaan nilai rata-rata terhadap jumlah neutrofil ayam kampung betina umur 54 hari. Pada perlakuan P0, P1, dan P2 jumlah neutrofil ayam kampung betina berada dalam kisaran normal, sedangkan pada perlakuan P3 jumlah neutrofil ayam kampung betina berada di bawah kisaran normal. Menurut Hendro *et al.* (2013) persentase neutrofil yang normal pada darah ayam kampung berada pada kisaran 20--40%. Jumlah neutrofil pada perlakuan P3 yang berada dibawah kisaran normal diduga karena jumlah pemberian suplemen vitamin dan mineral yang berlebihan atau adanya efek samping penggunaan vitamin dan mineral sehingga menurunkan jumlah neutrofil. Menurut Rosanti *et al.* (2019) Neutropenia merupakan kondisi ketika kadar neutrofil di dalam darah berada di bawah batas normal. Ada beberapa kondisi yang dapat menyebabkan neutropenia antara lain penyakit autoimun (penyakit yang terjadi di mana sistem kekebalan tubuh menyerang sel-sel yang sehat dalam tubuh), dan efek samping pengobatan tertentu (seperti penggunaan suplemen yang berlebihan).

Histogram yang disajikan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa rata-rata neutrofil pada kelompok perlakuan P1 memiliki jumlah neutrofil tertinggi dibanding kelompok perlakuan P0, P2 dan P3, namun tingginya kelompok perlakuan P1 masih dalam batas normal. Hal tersebut membuktikan bahwasanya dosis suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium dengan dosis yang sesuai dapat mempertahankan jumlah neutrofil dalam batas normal. Menurut Rasyaf, (1997); Widyahari, (2012); dan Lubis *et al.* (2015) Vitamin E, zink dan selenium merupakan vitamin dan mineral yang berperan sebagai antioksidan guna menghambat radikal bebas , menjaga struktur jaringan, meningkatkan sistem kebal tubuh, sebagai komponen/bahan pembentuk enzim dan daya tahan tubuh. Apabila penggunaan dosis vitamin dan mineral tidak tepat maka akan berakibat buruk bagi pertumbuhan ternak. Menurut pendapat Badan Litbang Pertanian Kalimantan Tengah (2022) ternak yang mengalami kekurangan vitamin dan mineral akan berakibat pada penurunan bobot tubuh ternak. Adapun menurut pendapat Dinisari (2022) apabila tubuh kelebihan vitamin dan mineral akan menyebabkan terjadinya toksisitas. Toksisitas adalah suatu keadaan yang menandakan adanya efek racun yang terdapat pada bahan obat sebagai sediaan dosis tunggal atau campuran (Tsmaratur, 2013).



Gambar 2. Rata-rata neutrofil setelah pemberian minum perlakuan

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Rata-rata Eosinofil

Rata-rata jumlah eosinofil ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4, jumlah eosinofil ayam kampung betina berkisar 0,33--2,33%. Jumlah eosinofil cenderung lebih tinggi terdapat pada perlakuan P0 (kontrol) dan jumlah eosinofil cenderung lebih rendah terdapat pada perlakuan P3 (0,33%).

Tabel 4 Rata-rata total eosinofil setelah pemberian minum perlakuan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(%)-----			
1	1	2	1	0
2	2	1	1	0
3	5	1	1	1
Jumlah	8	4	3	1
Rata-rata	2,33±1,89	1,00±0,50	1,00±0,00	0,33±0,58

Keterangan:

P0: air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

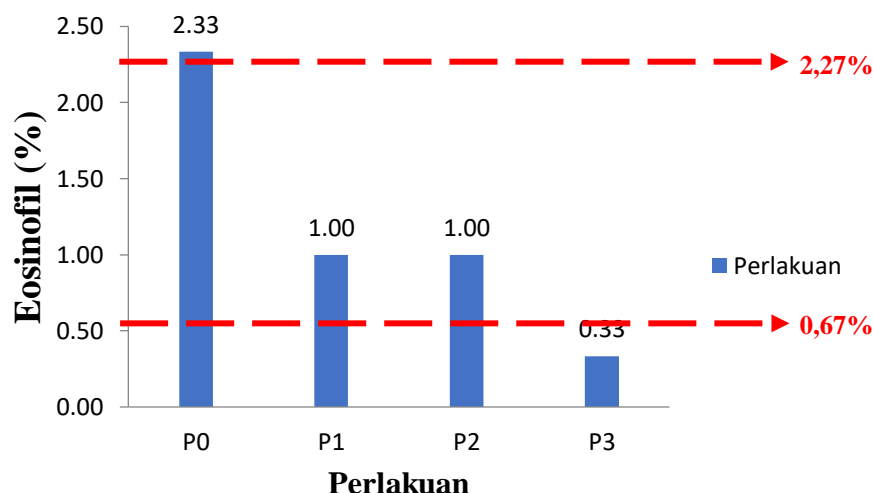
P1: air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

P2: air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3: air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).

Berdasarkan data hasil analisis pada Tabel 4 menunjukkan bahwa pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium pada air minum ayam kampung betina memiliki perbedaan nilai rata-rata terhadap jumlah eosinofil ayam kampung betina umur 54 hari. Jumlah eosinofil yang berada dibatas normal yaitu terdapat pada perlakuan P1 dan P2. Menurut Mitruka dan Rawnsley (1981) Jumlah eosinofil dalam darah ayam sekitar 10% dari jumlah total *leukosit* atau memiliki jumlah 0,67-2,27 % dan dapat bertahan hidup 3-5 hari.

Berdasarkan histogram yang disajikan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa rata-rata eosinofil pada kelompok perlakuan P0 memiliki jumlah eosinofil tertinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3, tingginya jumlah eosinofil pada kelompok perlakuan P0 berada di atas batas normal. Hal tersebut di duga karena adanya infeksi bakteri atau parasit yang dikarenakan pada kelompok perlakuan P0 tidak diberikan suplemen kombinasi vitamin E, zink dan selenium sebagai antioksidan dalam meningkatkan imun, sehingga pada kelompok perlakuan P0 mudah terserang penyakit seperti infeksi parasit dan alergi. Hal ini sesuai dengan pendapat Asmara *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa eosinofil merupakan parameter untuk melihat ada atau tidaknya alergi dan infeksi parasit pada ternak.



Gambar 3. Rata-rata eosinofil setelah pemberian minum perlakuan

Jumlah eosinofil pada perlakuan P3 menunjukkan bahwa jumlah eosinofil cenderung lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P0, P1, dan P2, bahkan jumlah tersebut berada dibawah kisaran batas normal. Hal tersebut diduga karena efek samping dari penggunaan vitamin E, zinc dan selenium yang berlebih yang mengakibatkan terganggunya produksi eosinofil pada sumsum tulang belakang. Hal ini sesuai dengan pendapat Frandson, (2009) yang menyatakan bahwa kadar vitamin E yang terlalu tinggi akan meningkatkan efek alfa-tokoferol, sehingga kekuatan tulang menjadi menurun dan menyebabkan kerusakan tulang. Bagian tulang yang berpotensi terkena penyakit ini adalah tulang punggung sampai ekor. Tulang punggung disebut juga tulang belakang, bersifat kuat tetapi lentur dan menopang hampir dua pertiga dari berat badan. Fungsi tulang punggung adalah melindungi sumsum tulang belakang besar. Eosinofil merupakan bagian dari diferensial *leukosit* yang diproduksi dalam sumsum tulang belakang yang berfungsi sebagai respon parasitik, peradangan dan alergi. Hal apapun yang mengganggu proses produksi tersebut bisa menyebabkan rendahnya eosinofil dalam darah.

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Rata-rata Basofil

Rata-rata jumlah basofil ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 5, jumlah basofil ayam kampung betina berkisar 0,00 – 1,33%. Jumlah basofil cenderung lebih tinggi terdapat pada perlakuan P0 (0,67%) dan jumlah basofil cenderung lebih rendah terdapat pada perlakuan P1 (0,00%).

Tabel 5 Rata-rata total basofil setelah pemberian minum perlakuan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(%)-----			
1	0	0	1	1
2	0	0	1	0
3	2	0	0	0
Jumlah	2	0	2	1
Rata-rata	0,67±1,15	0,00±0,00	0,33±0,29	0,17±0,29

Keterangan :

P0: air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

P1: air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

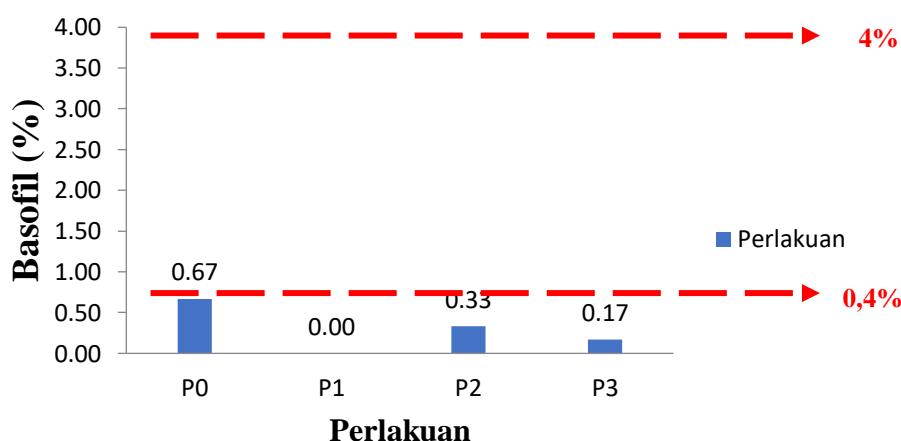
P2: air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3: air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).

Berdasarkan data hasil analisis pada Tabel 5 menunjukkan bahwa pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zinc dan selenium pada air minum ayam kampung betina memiliki perbedaan nilai rata-rata terhadap jumlah basofil ayam kampung betina umur 54 hari. Jumlah basofil yang berada dibatas normal terdapat pada perlakuan P0 (Kontrol). Keberadaan sel basofil di dalam darah dalam kisaran normal

yaitu 0,4--4% (Tizard, 2000; Melvin dan William, 1993; Guyton dan Hall, 2008). Jumlah basofil pada perlakuan P0 cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah basofil yang diberikan perlakuan suplementasi kombinasi vitamin E, zinc dan selenium, hal tersebut menunjukkan bahwa ayam kampung betina tidak terkena infeksi parasit dan alergi. Hal ini sesuai dengan pendapat Guyton dan Hall (2008) yang menyatakan bahwa basofil adalah sel darah putih yang mempunyai peranan dalam reaksi alergi.

Histogram yang disajikan pada Gambar 4 menunjukkan bahwa pada perlakuan P1, P2, dan P3 berada dibawah batas normal dan cenderung lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P0 (kontrol). Hal tersebut diduga karena efek dari penggunaan vitamin E terhadap jumlah basofil tidak berpengaruh. Menurut pendapat Lestarinigrum *et al*, (2012) pemberian asupan vitamin E tokotrienol dan pemberian asupan vitamin E tokotrienol + asam askorbat tidak memberikan efek terhadap jenis sel basofil yang diduga dikarenakan basofil tidak menjalankan perannya sebagai perespon adanya bakteri maupun virus yang dapat menyebabkan peradangan. Adapun menurut pendapat Widyhari (2012) pemberian unsur minral zinc sebanyak 60 maupun 120 ppm tidak mempengaruhi presentase basofil. Jumlah basofil yang tidak berpengaruh diduga juga disebabkan oleh adanya kelebihan hormon tiroid (hipertiroidisme) yang diakibatkan oleh pemberian suplementasi selenium yang berlebihan. Hal ini sesuai dengan pendapat Alodokter, (2022) yang menyatakan bahwa kelebihan hormon tiroid dapat menyebabkan tubuh bereaksi dengan cara mempercepat metabolisme. Menurut pendapat Julian dan Richard (1993) metabolisme unggas yang lebih cepat menyebabkan kerja jantung lebih berat, sehingga menimbulkan hipertrofi (ukuran sel membesar) ventrikel kanan, dilatasi (pelebaran ruang ventrikel) dan kegagalan ventrikel kanan (*Right ventricular failure*/Gagal jantung). Kondisi ini juga dapat menyebabkan berkurangnya jumlah basofil dalam tubuh.



Gambar 4. Rata-rata basofil setelah pemberian minum perlakuan

Meskipun basofil pada P1 tidak ditemukan hal tersebut bukan berarti bahwa didalam darahnya tidak ada sel basofil. Menurut Sherwood, (2006) basofil umumnya baru ditemukan dalam perhitungan 1000 sel *leukosit*. Faktor lain penyebab rendahnya basofil adalah karena tidak adanya peradangan dan alergi. Basofil berperan dalam respon alergi dan antigen dengan cara melepaskan histamin untuk menyebabkan peradangan.

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Rata-rata Monosit

Rata-rata jumlah monosit ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 6, jumlah monosit ayam kampung betina berkisar 9,50 – 12,67%. Jumlah monosit cenderung lebih tinggi terdapat pada perlakuan P0 (12,67%) dan jumlah monosit cenderung lebih rendah terdapat pada perlakuan P1 (9,50%).

Berdasarkan data hasil analisis pada Tabel 6 pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium pada air minum ayam kampung betina memiliki perbedaan nilai rata-rata terhadap jumlah monosit ayam kampung betina umur 54 hari. Jumlah monosit yang berada dibatas normal terdapat pada perlakuan P1, bahkan cenderung lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P0,P2, dan P3. Menurut Moenek *et al*, (2019) batasan normal nilai monosit pada darah ayam kampung yaitu 5-10%.

Histogram yang disajikan pada Gambar 5 menunjukkan bahwa pada perlakuan P1, P2, dan P3 memiliki jumlah monosit cenderung lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P0 (kontrol), hal tersebut diduga

karena adanya pengaruh dari pemberian suplemen yang berupa vitamin E, zink dan selenium yang dapat meningkatkan sistem imun dan tanggap kebal sehingga dapat menjaga kesehatan ayam kampung betina dari benda asing baik dari infeksi ataupun bakteri yang menyerang. Hal ini sesuai dengan pendapat Rasyaf, (1997) yang menyatakan bahwa vitamin E merupakan vitamin yang berperan sebagai antioksidan, menjaga struktur jaringan, dan reproduksi. Pernyataan tersebut diperkuat oleh pendapat Widyahri, (2012) zink mampu berperan dalam meningkatkan respon tanggap kebal secara non-spesifik maupun spesifik. Hal tersebut juga diperkuat oleh pendapat Lubis *et al*, (2015) selenium adalah komponen enzim glutathion peroksidase, yang menghancurkan radikal bebas dalam sitoplasma. Fungsi lain selenium adalah sebagai antioksidan untuk komponen/bahan pembentuk enzim dan daya tahan tubuh serta reproduksi ternak.

Tabel 6 Rata-rata total monosit setelah pemberian minum perlakuan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(%)-----			
1	12	10	7	13
2	13	8	20	11
3	13	11	10	8
Jumlah	38	29	37	32
Rata-rata	12,67±0,58	9,50±1,80	12,00±7,09	10,33±2,75

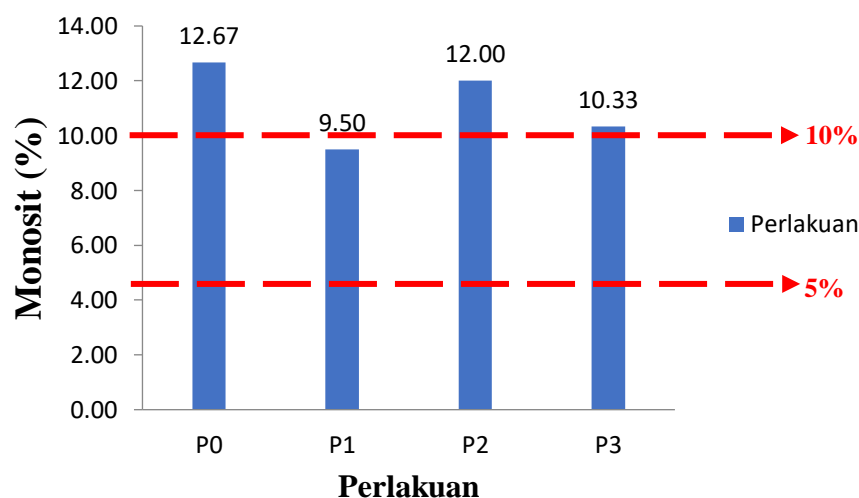
Keterangan :

P0: air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

P1: air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

P2: air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3: air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).



Gambar 5. Rata-rata monosit setelah pemberian minum perlakuan

Pada perlakuan P0, P2, dan P3 berdasarkan histogram yang disajikan memiliki jumlah monosit yang berada di atas batas normal jumlah monosit pada ternak. Hal ini diduga disebabkan adanya benda asing yang menyerang ayam kampung betina sehingga meningkatkan jumlah monosit. Hal ini sesuai dengan pendapat Frandson, (1992) menyatakan bahwa monosit merupakan sel darah putih yang menyerupai neutrofil, bersifat fagositik yaitu kemampuan untuk menerkam material asing. Hal tersebut diperkuat oleh pendapat Ulupi dan Ihwantoro (2014) yang menyatakan bahwa monosit berperan dalam mengatur tanggap kebal dengan mengeluarkan glikoprotein pengatur monokin seperti interferon, interleukin I, dan zat farmakologi aktif seperti prostaglandin dan lipoprotein.

Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Rata-rata Limfosit

Rata-rata jumlah limfosit ayam kampung betina umur 54 hari pada penelitian ini disajikan pada Tabel 8, jumlah limfosit ayam kampung betina berkisar 54,00 – 72,00%. Jumlah limfosit cenderung lebih

tinggi terdapat pada perlakuan P3 (72,00%) dan jumlah limfosit cenderung lebih rendah terdapat pada perlakuan P0 (54,00%).

Tabel 7 Rata-rata total limfosit setelah pemberian minum perlakuan

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(%)-----			
1	61	58	71	75
2	54	59	48	69
3	48	48	55	73
Jumlah	163	165	174	217
Rata-rata	54,00±6,76	54,67±6,21	57,83±12,00	72,00±3,12

Keterangan :

P0 : air minum tanpa Vitamin E, Selenium, dan Zinc (kontrol);

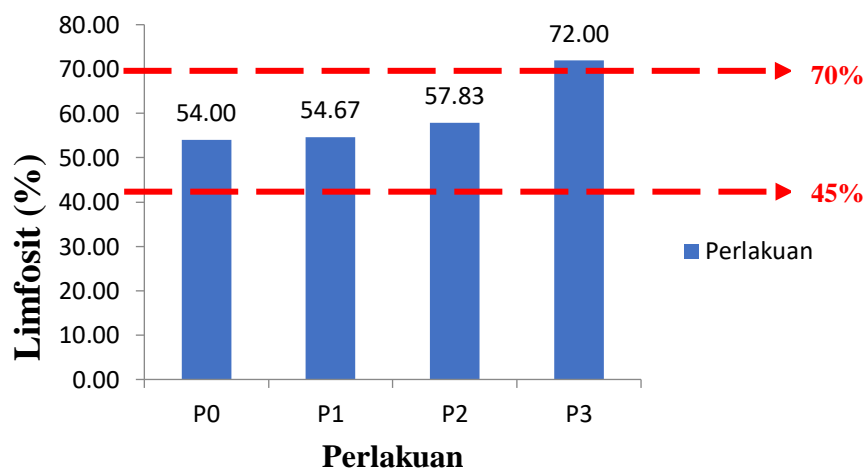
P1 : air minum dengan 0,015 g/kg BB (Vitamin E 0,6 IU, Selenium 0,06 mg, dan Zinc 2,4 mg);

P2 : air minum dengan 0,03 g/kg BB (Vitamin E 1,2 IU, Selenium 0,012 mg, dan Zinc 4,8 mg);

P3 : air minum dengan 0,06 g/kg BB (Vitamin E 2,4 IU, Selenium 0,024 mg, dan Zinc 9,6 mg).

Berdasarkan data hasil analisis pada Tabel 7 menunjukkan bahwa pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium pada air minum ayam kampung betina memiliki perbedaan nilai rata-rata terhadap jumlah limfosit ayam kampung betina umur 54 hari. Jumlah limfosit yang berada dibatas normal terdapat pada perlakuan P0, P1, dan P2. Menurut pendapat Moenek *et al*, (2019) yang menyatakan bahwa kisaran normal jumlah limfosit ayam kampung berkisar 45-70%.

Histogram yang disajikan pada Gambar 8 menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis kombinasi vitamin E, zink dan selenium, semakin tinggi pula jumlah limfosit yang dihasilkan, bahkan pada perlakuan P3 dengan dosis paling tinggi (Vitamin E 2,4 IU, Zink 9,6 mg, Selenium 0,024 mg) menghasilkan jumlah limfosit melebihi batas normal. Hal tersebut menunjukkan suplementasi kombinasi vitamin E, zink dan selenium, sudah mampu meningkatkan proporsi limfosit ayam kampung betina. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyahari, (2012) yang menyatakan bahwa penambahan Zn mampu meningkatkan produksi sitokin oleh sel Limfosit T helper sehingga menyebabkan terjadinya proliferasi dan diferensiasi sel. Hal ini diperkuat oleh pendapat Politis *et al.*, (2004) yang menyatakan bahwa pengaruh pemberian suplementasi Selenium (Se) dalam sel *leukosit* dan diferensial *leukosit* adalah dengan pembentukan antibodi, proliferasi (perbanyak) limfosit B dan T serta penghancuran sel oleh sel limfosit dan sel natural killer.



Gambar 6. Rata-rata limfosit setelah pemberian minum perlakuan

Pada perlakuan P0 (kontrol) menghasilkan jumlah terendah dibandingkan dengan jumlah limfosit yang diberikan perlakuan kombinasi vitamin E, zink dan selenium. Hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya stres pada ayam yang disebabkan suhu panas lingkungan. Menurut pendapat Puvadolpirod dan Thaxton, (2000) faktor-faktor terbesar yang mempengaruhi jumlah limfosit yaitu cekaman panas atau lingkungan dan stres, karena cekaman panas dapat mengakibatkan berkurangnya bobot organ limfoid timus dan bursa fabrisius yang berdampak pada penurunan jumlah limfosit. Hal ini diperkuat oleh pendapat Davis

et al., (2008) yang menyatakan bahwa rendahnya persentase limfosit pada ayam kampung juga berhubungan dengan rendahnya kemampuan beradaptasi pada suhu lingkungan pemeliharaan yang panas. Lingkungan yang panas akan memicu sekresi hormon kortikosteroid yang tinggi. Tingginya hormon tersebut di dalam darah, dapat menghambat pembentukan limfosit.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian perlakuan suplementasi kombinasi vitamin E, zink, dan selenium dapat mempertahankan rata-rata total leukosit dalam kondisi normal pada semua perlakuan, sedangkan perlakuan pemberian suplementasi kombinasi vitamin E, zink, dan selenium dapat mempertahankan rata-rata diferensial leukosit dalam kondisi normal terdapat pada perlakuan P1 dan P2.

Saran

Berdasarkan penelitian ini penulis menyarankan untuk dapat dilakukan penelitian lanjutan terkait rentang waktu pemberian dosis kombinasi vitamin E, zink dan selenium yang lebih lama sehingga dapat diketahui pemberian yang efektif dalam menjaga kesehatan ayam kampung betina.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustyas, T., R. A. Putu , Oktafani, dan R. Fidha. 2014. Penuntun Praktikum Patologi Klinik. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Akil,S., W.G.Piliang., C.H.Wijaya., D.B.Utomo dan I.K.G.Wiryawan. 2009. Pengkayaan selenium organik, inorganik dan vitamin e dalam pakan puyuh terhadap performa serta potensi telur puyuh sebagai sumber antioksidan. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*. Vol.14(1);1-10
- Alodokter. 2022. Jangan Sampai Kelebihan atau Kekurangan Hormon Tiroid. <https://www.alodokter.com/jangan-sampai-kelebihan-atau-kekurangan-hormon-tiroid>. (Diakses pada tanggal 21 Agustus 2022)
- Asmara, M.P., P.E. Santosa., Siswanto, dan S. Suharyati.2019. Pengaruh suplementasi probiotik yang berbeda pada air minum terhadap total *Leukosit* dan diferensial *Leukosit* broiler. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan (Journal of Research and Innovation of Animals)*. Vol.3(2);22-27.
- Data Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2021. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan Tahun 2021 . <http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/15553>. (Diakses pada tanggal 17 November 2021)
- Dinisari. 2022. Pentingnya Vitamin dan Mineral untuk Tubuh Manusia. <https://www.google.com/amp/s/m.bisnis.com/amp/read/20160604/106/554183/pentingnya-vitamin-dan-mineral-untuk-tubuh-manusia>. (Diakses pada tanggal 21 Agustus 2022).
- Frandsen, R. D., W. L. Wike dan A. D. Fails. 2009. *Anatomy and physiology of Farm Animal*. Edisi Ketujuh. Wiley-Blackwell, Iowa.
- Frandsen, R. D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi* Edisi Empat diterjemahkan oleh Srigandono, B. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Hendro, L. Adriani dan D. Latipudin. 2013. Pengaruh pemberian lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap kadar neutrofil dan limfosit ayam broiler. Prosiding Seminar Nasional Peternakan. Hal: 531-536.
- Julian, dan Richard. 1993. Ascites in Poultry. *Avian Pathology* 22, 419-454.
- Lestarinigrum, N.A., Karwur, F.F. and Martosupono, M., 2012. Pengaruh vitamin e tokotrienol dan gabungannya dengan asam askorbat terhadap jenis *leukosit* tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) *Sains Medika*. Vol.4(1); 46-56.
- Lestari, S.H.A., Ismoyowati, dan M. Indradji. 2013. Kajian jumlah *leukosit* dan diferensial *leukosit* pada berbagai jenis itik lokal betina yang pakannya di suplementasi probiotik. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. Vol.1(2); 699-709.
- Lubis, F. N. L., Alfianty, R, and Sahara, E. 2015. Pengaruh suplementasi selenium organik (Se) dan vitamin e terhadap performa itik pegagan. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. Vol. 4(1), pp. 28–34.
- Melvin, J. S. and O.R. William. 1993. *Dukes Physiology of Domestic Animal*. 1199 ed. Cornell University Press. London.
- Mitruka, B. M., and H. M. Rawnsley. 1981. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals*. Masson. New York.
- Moenek, D., A. B. Oematan, and N.N. Toelle. 2019. Keragaman endoparasit gastrointestinal dan profil

- darah pada ayam kampung (*Gallus domesticus*). *Jurnal Kajian Veteriner*. Vol.7(2); 114-120.
- Paik, I.K. 2001. Application of chelated minerals in animal production. *J. Anim. Sci.* Vol.14(2); 191-198.
- Politis I, B. Iosif, T. Anastosios, B. Antonella. 2004. Effect of vitamin e supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd. *J of Dairy Research*. Vol.71(1); 273-278.
- Purnomo, D., S. Sugiharto, and I. Isroli. 2015. Total *Leukosit* dan diferensial *leukosit* darah ayam broiler akibat penggunaan tepung onggok fermentasi *rhizopus oryzae* pada ransum. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* Vol.25(3); 59-68.
- Puvadolpirod and Thaxton. 2000. Model Of Physiological Stress In Chicken. Edisi Kelima. Quantitative Evaluation. Departement of Poultry Science. Mississippi State University.
- Rasyaf, M. 1997. Penyajian Makanan Ayam Petelur. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Rosanti, P., Soegiarto, G. and Widajanti, N., 2019. Effect of vitamin e supplementation on the increase of neutrophil-mediated oxidative burst in elderly. *New Armenian Medical Journal*. Vol.13(1); 79-84.
- Sastradipradja, D., S. H. Sikar, R. Widjajakusuma, T. Ungerer, A. Maad, H. Nasution, R. Suriawinata, and R. Hamzah, 1989. Penuntun Praktikum Fisiologi Veteriner. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Setiawan, G.W., D.H.C. Pangemanan dan H. Polii, 2016. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Neutrofil Setelah Latihan Fisik. E-Biomedik.
- Sherwood, L., 2006, Human Physiologi From Cells to Systems, 4th ed, Belmonth CA: Wadsworth Publishing Company.
- Suharyanto. 2007. Panen Ayam Kampung dalam 7 Minggu Bebas Flu Burung. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Tamzil, M.H., Noor, R.R., Hardjosworo, P.S., Manalu, W. and Sumantri, C., 2014. Hematological response of chickens with different heat shock protein 70 genotypes to acute heat stress. *International Journal of Poultry Science*. Vol.13(1); 14-20.
- Tizard, I. R. 2000. Veterinary Immunology and Introduction. Saunders. USA
- Umi, C., M. Hanic, and E. Hediarto..2007.Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner-Diferensial *Leukosit* Pada Ayam Setelah Diinfeksi *Eimeria tenella* dan *Pembev.pdf*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner; 7.
- Ulupi, N. and T. T. Ihwantoro. 2014. Gambaran darah ayam kampung dan ayam petelur komersial pada kandang terbuka di daerah tropis. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. Vol. 2(1); 219-223.
- Widyhari. 2012. Peran dan dampak defisiensi *zinc* (Zn) terhadap sistem tanggap kebal. *Wartazoa*. Vol.2(3); 141-148.
- Youngson, R. 2005. Antioksidan Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan. Gramedia EGC.