

IV. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan bulan Desember 1995, bertempat di Margoyoso 23 Tembalang.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : 21 kandang ayam battery dan perlengkapannya, penggiling pakan ayam, neraca timbang dengan ketelitian 0,001 gr, termometer, higrometer, mikroskop, disposable lancet, pipet eritrosit, bilik hitung neubaver, gelas penutup, hand tally counter, pipet hemoglobin, blok komparator, tabung pengukur hemoglobin, tabung hematokrit, microcentrifuge 12000 rpm dan skala penera.

Adapun bahan yang digunakan adalah : 21 ekor ayam broiler jantan umur 7 hari, pakan standart 511, pakan tambahan berupa tepung limbah udang dan bungkil kedelai, kapas, lilin penutup, larutan alkohol 70%, larutan hayem, larutan HCl 0,1N dan aquades.

C. Cara Kerja

1. Cara Pembuatan Pakan

- Limbah udang yang terdiri atas bagian kepala, kulit, kaki dan bagian lainnya dihaluskan hingga berbentuk tepung.
- Bungkil kedelai dihaluskan.
- Dibuat 7 macam campuran pakan dalam bentuk pellet sebagai berikut:

P0 = Pakan starter

P1 = Pakan starter + Tepung limbah udang 5%

P2 = Pakan starter + Tepung limbah udang 10% dari pakan starter

P2 = Pakan starter + Tepung limbah udang 10% dari pakan starter

P3 = Pakan starter + Tepung limbah udang 15% dari pakan starter

P4 = Pakan starter + Bungkil kedelai 5% dari pakan starter

P5 = Pakan starter + Bungkil kedelai 10% dari pakan starter

P6 = Pakan starter + Bungkil kedelai 15% dari pakan starter

- Pellet dibuat dengan cara mencampur pakan starter dengan pakan tambahan berupa tepung limbah udang dan bungkil kedelai dengan komposisi seperti

tersebut di atas, ke dalam campuran tersebut dituangi air hangat secukupnya hingga campuran dapat digiling dan dikeringkan di bawah sinar matahari.

2. Cara penelitian

- Ayam dikelompokkan menjadi 7 kelompok perlakuan dengan masing-masing perlakuan terdiri atas tiga ulangan.
- Masing-masing ayam dimasukkan ke dalam kandang dengan penempatan secara acak dan diaklimatisasi selama 7 hari.
- Setelah aklimatisasi, masing-masing ayam diberi perlakuan dengan pemberian pakan yang sesuai - Pemberian pakan dilakukan berlebihan dalam 2 kali pemberian setiap hari.
- Dilakukan pengukuran faktor lingkungan, yaitu temperatur dan kelembaban setiap hari.
- Dilakukan analisa proksimat terhadap kandungan protein pakan.

3. Cara Pengamatan

- Pengamatan dilakukan setelah 4 minggu perlakuan.
- Dilakukan penghitungan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokrit darah ayam tersebut.

4. Cara penentuan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokrit

- Pengambilan darah

Darah ayam diambil dari bagian vena brachialis pada sayap. Daerah yang akan ditusuk dibersihkan dengan alkohol 70%, demikian juga dengan jarumnya. Vena brachialis ditusuk dengan arah miring. Tetesan darah yang pertama dihisap dengan kapas dan tetesan berikutnya digunakan untuk penentuan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokrit.

- Penentuan jumlah eritrosit

- a. Tetesan darah yang keluar dengan cepat dihisap dengan pipet eritrosit sampai skala 1.
- b. Dengan pipet yang sama, larutan hayem dihisap dengan cepat pula sampai skala 101. Kemudian slang dilepaskan dan dilakukan penggojogan selama kurang lebih 2 menit, sehingga larutan menjadi homogen.
- c. Dilakukan penghitungan jumlah eritrosit dengan bilik hitung yang sudah dipersiapkan, dengan cara sebagai berikut :
 - Tetesan pertama dibuang, tetesan berikutnya yang digunakan.
 - Ujung pipet ditempelkan pada tepi gelas

benda penutup bilik hitung, sehingga larutan akan mengalir dengan sendirinya.

- Dengan mikroskop, dicari kotak-kotak yang khusus untuk penghitungan eritrosit, yaitu kotak kecil dengan sisi 0,05 mm dan kedalaman 0,1 mm.
- Dilakukan penghitungan jumlah eritrosit pada 80 kotak. Selanjutnya jumlah eritrosit seluruhnya dihitung, yaitu :

Misal jumlah penghitungan eritrosit pada 80 kotak = E

Pengenceran atau faktor pengenceran = 100

Faktor koreksi volume :

Volume darah yang dihitung (80 kotak) =
 $0,05 \times 0,05 \times 0,1 \times 80 = 0,02 \text{ mm}^3$

Jadi faktor koreksi volume adalah 1 :
 $0,02=50$. Sehingga jumlah eritrosit total adalah $E \times 50 \times 100 = 5000E/\text{mm}^3$ (Yusuf, E, 1990)

- Penentuan kadar hemoglobin
 - a. Tabung hemoglobin terlebih dahulu diisi HCl 0,1N sampai skala 2.
 - b. Darah yang keluar dari vena brachialis dihisap dengan pipet Hb sampai skala 2.

- c. Darah yang keluar dari ujung pipet dihapus dan dengan cepat darah dihembuskan ke dalam tabung hemoglobin.
 - d. Didiamkan selama 1 menit.
 - e. Larutan diencerkan dengan aquades setetes demi setetes sambil disesuaikan dengan warna larutan standart yang terdapat dalam blok komparator.
 - f. Bila warna larutan darah sudah sama dengan warna larutan standart, maka pengenceran dihentikan.
 - g. Tinggi larutan darah pada tabung hemometer dibaca dan angka tersebut menunjukkan kadar hemoglobin ayam tersebut (Yusuf, E, 1990).
- Penentuan nilai hematokrit
- a. Darah dimasukkan dalam tabung hematokrit.
 - b. Setelah darah memenuhi kira-kira separoh tabung, maka tabung ditutup dengan cara ditusukkan pada gabus atau lilin.
 - c. Tabung hematokrit diletakkan pada centrifuge, kemudian dicentrifuge selama 7,5 menit dengan kecepatan 12000 rpm.
 - d. Tinggi sel darah dapat dibaca dengan menarik garis linier dari tinggi sel darah merah tersebut pada skala penara (Yusuf, E, 1990).

5. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan analisis varians dengan pola Rancangan Acak Lengkap dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur.
6. Sebagai data pendukung, dalam penelitian ini juga dicatat konsumsi pakan setiap hari.

