

#### IV. METODE PENELITIAN

##### A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 1995 di Laboratorium Struktur dan Fungsi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.

##### B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Kandang ayam yang terdiri dari kandang untuk aklimatisasi dan kandang pemeliharaan.
- Peralatan makan dan minum serta bola lampu sebagai pemanas.
- Timbangan.
- Mikroskop.
- Seperangkat alat untuk membuat perasan daun tapak liman.
- Peralatan untuk pengamatan eritrosit yang terdiri dari pipet eritrosit dan bilik hitung.
- Peralatan untuk pengamatan kadar hemoglobin yang terdiri dari hemositometer dan pipet hemoglobin.

- Peralatan untuk pengamatan nilai hematokrit yang terdiri dari pipet hematokrit, mikrosentrifus dan skala penera.
- S spuit, yaitu alat suntik yang ujungnya diberi selang karet.

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan meliputi :

- Ayam broiler jantan umur 1 hari.
- Perasan daun tapak liman dengan konsentrasi masing-masing 25%, 50% dan 75% (b/v).
- Makanan ayam dan vitamin.
- Air minum.
- Akuadest.
- Larutan Hayem.
- Alkohol.
- HCl 0,1 N.

### C. Cara Kerja

1. Dilakukan pembuatan perasan daun tapak liman dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% (b/v). Konsentrasi 25% (b/v) yaitu 25 gram daun ditambah 100 ml akuadest.
2. Ayam diaklimatisasikan selama 1 minggu.

3. Ayam diberi perlakuan sebagai berikut :

P0 = kontrol

P1 = perlakuan dengan pemberian akuadest

P2 = perlakuan dengan perasan daun tapak liman 25%

P3 = perlakuan dengan perasan daun tapak liman 50%

P4 = perlakuan dengan perasan daun tapak liman 75%

Masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Pemberian perlakuan sebanyak 3 ml/hari yang dilakukan dengan menggunakan spuit melalui oral, selama 14 hari. Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan sampel darah ayam dari vena brachialis sayap ayam dan dilakukan penentuan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokrit.

4. Penentuan jumlah eritrosit dilakukan sebagai berikut :

Tetes darah yang keluar dari vena brachialis dengan cepat dihisap dengan pipet eritrosit sampai skala 1. Dengan pipet yang sama dihisap larutan Hayem sampai skala 101, kemudian selang pipet dilepas dan pipet digojo selama sekitar 2 menit. Lalu dilakukan penghitungan jumlah eritrosit de-

ngan bilik hitung yang dilihat dengan mikroskop dan eritrosit dihitung dari kotak-kotak yang khusus untuk penghitungan tersebut, yaitu dalam 80 kotak. Penghitungan akhir jumlah eritrosit sebagai berikut :

- faktor pengenceran = 100 kali

- faktor koreksi volume :

volume darah yang dihisap dalam 80 kotak yaitu :  
 $0,05 \times 0,05 \times 0,1 \times 80 = 0,02 \text{ mm}^3$ .

Volume yang diinginkan =  $1 \text{ mm}^3$ . Jadi faktor koreksi volume =  $1 : 0,02 = 50$ .

Rumus perhitungan :

$$E \times 50 \times 100 = 5000 E / \text{mm}^3$$

(Leavel and Thoup, 1970).

5. Penentuan kadar hemoglobin dilakukan sebagai berikut :

Tabung hemoglobin diisi dengan HCl 0,1 N sampai skala 2. Tetesan darah yang dihisap dengan pipet hemoglobin sampai skala 20 dihembuskan ke dalam tabung tersebut, kemudian darah diencerkan dengan akuadest setetes demi setetes sambil disesuaikan dengan warna larutan yang terdapat pada blok komparator (warna standard). Setelah warna sama maka

tinggi larutan dalam tabung dapat dibaca skalanya yang menunjukkan kadar hemoglobin dalam persen (Wintrobe, 1971).

6. Penentuan nilai hematokrit dilakukan sebagai berikut :

Darah dimasukkan ke dalam tabung hematokrit sampai kira-kira tiga perempat tabung, kemudian tabung ditutup dengan lilin dan disentrifus selama kurang lebih 7,5 menit dalam mikrosentrifus 12.000 rpm. Tinggi sel darah merah dapat dibaca dengan menarik garis linear dari tinggi sel darah merah tersebut pada skala penera.

7. Sebagai data penunjang dilakukan pencatatan konsumsi pakan serta pengukuran bobot badan awal dan akhir perlakuan.

#### **D. Rancangan Percobaan dan Analisis Data**

Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan uji F yang kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (uji t).