

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2004 di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang individu, tempat pakan dan minum, penampung kotoran, jarum gavage volume 1 ml, timbangan, kertas label, aluminium foil, dissecting set, bak parafin, botol stok larutan, spuit injeksi, batang pengaduk, kapas, tisu, kertas minyak.

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 ekor mencit (*Mus musculus*) strain Swiss webster yang berumur 2 bulan. Bahan yang digunakan adalah khitin yang diperoleh dari Laboratorium Pangan dan Gizi Pusat Antar Universitas (PAU) UGM Yogyakarta, pakan ayam BR II, sekam, aquades, klorofom, dan alkohol 70 %.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Penyiapan Hewan Uji

Mencit (*Mus musculus*) diaklimasi selama 1 minggu, sebelum ditempatkan pada kandang individual dilakukan penimbangan bobot badan

mencit, hasilnya dicatat dan dihitung koefisien keragaman (KK). Selama aklimasi, mencit diberi pakan ayam BR II.

3.3.2 Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Uji

Mencit ditempatkan dalam kandang plastik individu berukuran 20 x 30 cm beratap kawat, kandang diberi alas tidur berupa sekam padi dan diganti 3 hari sekali. Pakan dan minuman diberikan dalam jumlah tidak terbatas (*ad libitum*) Pakan yang diberikan selama perlakuan adalah pakan ayam BR II yang berbentuk butiran. Pembersihan kandang dan penggantian air minum dilakukan 3 hari sekali sedangkan pengamatan suhu dilakukan setiap hari. Penimbangan bobot badan dilaksanakan pada awal masa pemeliharaan, setiap minggu dan pada saat sebelum sectio pada akhir perlakuan.

Perlakuan khitin yang diberikan berdasarkan hasil konversi dosis yang digunakan oleh manusia pada mencit, mengikuti tabel konversi perhitungan antar jenis hewan menurut Laurence dan Bacharach (1964) dalam Donatus (1998). Konsumsi khitin pada manusia menurut 500 -1000 mg per hari (Anonim, 2004). Angka konversi dari manusia (70 kg) ke mencit (20 g) = 0,0026. Berdasarkan angka konversi tersebut diperoleh dosis khitin untuk mencit (20 g) = $0,0026 \times 500 \text{ mg} = 1,3 \text{ mg/ekor/hari}$ atau $0,0026 \times 750 = 1,95 \text{ mg/ekor/hari}$ atau $0,0026 \times 1000 \text{ mg} = 2,6 \text{ mg/ekor/hari}$, sehingga dalam penelitian ini didapatkan khitin untuk perlakuan sebesar 1,3 ; 1,95 ; dan 2,6 mg/ekor/hari. Ketentuan pemberian khitin dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ulangan yaitu :

P0 = sebagai kontrol, hanya diberikan akuades saja

P1 = diberi campuran khitin 1,3 mg/ekor /hari + 0,5 ml akuades

P2 = diberi campuran khitin 1,95 mg/ekor/hari + 0,5 ml akuades

P3 = diberi campuran khitin 2,6 mg/ekor /hari + 0,5 ml akuades.

Cara Pembuatan Campuran Khitin

1. Khitin 1,3 mg/ekor/hari + 0,5 ml akuades adalah dengan mencampur 6,5 mg khitin dalam 2,5 ml akuades
2. Khitin 1,95 mg/ekor/hari + 0,5 ml adalah dengan mencampur 9,75 mg khitin dalam 2,5 ml akuades.
3. Khitin 2,6 mg/ekor/hari + 0,5 ml adalah dengan mencampur 13 mg khitin dalam 2,5 ml akuades.

Fungsi akuades pada perlakuan untuk mempermudah pemberian khitin per-oral. Perlakuan dilaksanakan selama 30 hari, pemberian larutan khitin pertama dianggap hari pertama. Pemberian larutan khitin dilakukan secara oral dengan menggunakan spuit injeksi dengan jarum gavage volume 1 ml.

3.4 Parameter

1. Bobot Lemak Abdominal

Bobot lemak abdominal didapat setelah hewan didecapitasi pada akhir perlakuan. Bagian abdominal disayat sehingga kulit abdominal terbuka. Lemak-lemak yang terdapat di sekitar saluran pencernaan dan lemak yang mengelilingi ren diambil kemudian ditimbang bobotnya dan hasilnya dicatat.

2. Konsumsi Pakan

Konsumsi pakan dihitung dengan menimbang berat pakan yang diberikan pada mencit dikurangi jumlah pakan yang tersisa selama seminggu.

3. Lemak Terdigesti

Lemak terkonsumsi diperoleh melalui penghitungan jumlah lemak dalam pakan, sedangkan lemak dalam feses diperoleh melalui analisis lemak dalam feses yang dikoleksi seminggu sekali selama empat minggu. Penghitungan lemak terdigesti menurut Anggorodi (1985) adalah :

$$\% \text{ Lemak terdigesti} = \frac{(BKPt \times \% Lt) - (BKF \times \% LF)}{(BKPt \times \% Lt)} \times 100\%$$

Keterangan :

BKPt = berat kering pakan terkonsumsi (gram)

Lt = lemak terkonsumsi (%)

BKF = berat kering feses (gram)

LF = lemak feses (%)

3.5 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan, semua kondisi lingkungan diatur sedemikian rupa sehingga stabil dan homogen. Data yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian diuji menggunakan ANOVA pada taraf kepercayaan 95 % dan bila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf kepercayaan 95 % .