

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

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. Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji Mencit (*Mus musculus*) albino strain Swiss Webster yang memenuhi kriteria umur 8-10 minggu, berat badan 30-40 gram, jenis kelamin jantan.

3.3. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang individu, tempat pakan dan minum, penampung kotoran, spuit injeksi, timbangan, kertas label, aluminium foil, kantong penampung feses, oven.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 ekor mencit albino jantan strain Swiss Webster umur 8-10 minggu dengan berat badan berkisar antara 30-40 gram, kitin, pakan, minum.

3.4. Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan dasar acak lengkap (RAL).

3.5. Cara Kerja

3.5.1. Pemeliharaan

Aklisasi dilakukan sebelum perlakuan yaitu selama 1 minggu. Mencit dipelihara dalam kandang plastik beratap kawat secara individual, kandang diberi alas tidur berupa sekam padi. Makanan mencit berupa pelet dan minum yang diberikan dalam jumlah berlebih (*ad libitum*) yaitu pelet sebesar 10 gram/hari dan air minum sebesar 50 ml/3 hari karena konsumsi pakan mencit 3-5 gram perhari dan konsumsi minum sebesar 50 ml perminggu (Smith & Mangkoewidjaya, 1988). Komposisi dari pelet yaitu air maksimal 12%, protein kasar minimal 19%, lemak kasar minimal 4%, serat kasar maksimal 5%, abu maksimal 6,5%, kalsium 0,9-1,1%, fosfor 0,7-0,9%, coccidiostat dan antibiotik.

3.5.2. Perlakuan Pemberian Kitin pada Hewan Uji

Perlakuan pemberian kitin yang diberikan berdasarkan hasil konversi dosis yang digunakan manusia ke mencit, mengikuti tabel konversi perhitungan antar jenis hewan menurut Laurence dan Bacharach (1964) dalam Donatus (1998) adalah konsumsi kitin pada manusia menurut tabel 500–1000 mg perhari (Anonim, 2004). Angka konversi dosis dari manusia (70 Kg) ke mencit (20 g) =

0,0026. Berdasarkan angka konversi tersebut diperoleh dosis kitin untuk mencit (20g) = $0,0026 \times 500 \text{ mg} = 1,3 \text{ mg/ekor}$, $0,0026 \times 750 = 1,95 \text{ mg/ekor}$ dan $0,0026 \times 1000 \text{ mg} = 2,6 \text{ mg/ekor}$. Sehingga dalam penelitian ini dipakai perlakuan kitin sebesar 1,3 mg/ekor/hari kitin, 1,95 mg/ekor/hari kitin dan 2,6 mg/ekor/hari kitin.

Pemberian kitin dilakukan setiap hari pada masing-masing perlakuan dengan setiap perlakuan terdiri dari 3 ekor mencit adalah sebagai berikut :

- A. Kelompok I : sebagai kontrol diberi 0,5 ml akuades.
- B. Kelompok II : 1,3 mg/ekor/hari kitin dengan 0,5 ml akuades.
- C. Kelompok III : 1,95 mg/ekor/hari kitin dengan 0,5 ml akuades.
- D. Kelompok IV : 2,6 mg/ekor/hari kitin dengan 0,5 ml akuades.

Cara pembuatan dosis kitin :

1. Perlakuan kelompok hewan uji II cara pembuatannya yaitu dengan mencampur 3,9 mg kitin dalam 1,5 ml akuades.
2. Perlakuan kelompok hewan uji III cara pembuatannya yaitu dengan mencampur 5,85 mg kitin dalam 1,5 ml akuades.
3. Perlakuan kelompok hewan uji IV cara pembuatannya yaitu dengan mencampur 7,8 mg kitin dalam 1,5 ml akuades.

Perlakuan dilaksanakan selama 1 bulan (Abelin & Lassus, 1994).

Pemberian kitin pertama dianggap hari pertama. Pemberian kitin dilakukan secara per oral dengan menggunakan spuit injeksi jarum gavage (ujung bercangul) yaitu spuit injeksi dengan jarum yang ujungnya membulat dengan volume 1 ml. Selama perlakuan pakan diberikan setiap hari dan minum setiap 3 hari sekali secara *ad libitum*.

3.5.3. Cara Pengambilan Data

a. Konsumsi pakan

Konsumsi pakan dihitung dengan melakukan penimbangan pakan yang diberikan dikurangi dengan pakan yang tersisa setiap minggu. Jumlah pakan yang diberikan mulai hari pertama sampai hari terakhir perlakuan merupakan total konsumsi, dan untuk menghitung lemak terkonsumsi yaitu : konsumsi pakan/minggu x kadar lemak pakan (Murniasih, 2003).

b. Kadar lemak pada feses

Koleksi feses dilakukan setiap seminggu sekali selama 1 bulan. Feses ditampung dengan menggunakan kertas koran, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu sekitar 40-50°C, selama 48 jam. Sampel feses total kering dibungkus dengan aluminium foil digunakan untuk penentuan kadar lemak feses dengan metode soxhlet (Nariyati, 2001).

3.6. Parameter

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Lemak terkonsumsi

Lemak terkonsumsi dihitung dengan menggunakan rumus :

Lemak terkonsumsi (gram) = Jumlah konsumsi pakan/minggu (gram) x
kadar lemak pada pakan (%)

- Lemak terabsorpsi

Jumlah lemak terabsorpsi dihitung dengan cara:

Jumlah lemak terkonsumsi (gram) – jumlah lemak feses (gram).

- Kadar Lemak pada Feses

Kadar lemak pada feses (%) diperoleh dari analisis kadar lemak feses dengan metode soxhlet

- Parameter pendukung yang diamati adalah:

- a. Konsumsi pakan (gram)
- b. Berat badan awal (gram)
- c. Berat badan akhir (gram)
- d. Tebal lapisan fungsional pada jejunum intestinum tenue (μm)

3.7 Analisis Data

Data hasil penelitian ditabulasikan untuk dianalisis, data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* dan dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk menentukan analisis parametrik atau non parametrik. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa semua data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji statistik dengan menggunakan analisis parametrik menggunakan uji ANOVA. Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 95%. Kemudian untuk mengetahui titik minimum kurva perlakuan digunakan regresi polinomial. Bila hasil uji normalitas menunjukkan tidak semua data terdistribusi normal maka untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji statistik dengan menggunakan analisis non

parametrik dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji lebih lanjut dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* (Munawar, 1995; Usman & Akbar, 1995).

