

#### IV. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang menggunakan pola faktorial 4 x 4 dengan hewan percobaan berupa ayam petelur strain Isa Brown yang mendapat perlakuan kombinasi mikromineral Fe dan Cu .

##### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Pebruari sampai bulan Maret 1998, yang berlokasi di Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP Semarang.

##### B. Alat dan Bahan

###### B1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : kandang ayam beserta perlengkapannya, spuit, perlengkapan bedah, alat ukur dengan masing-masing ketelitiannya yaitu: timbangan O'Hauss (0,1 g) dan Zenogram (0,01 g), mistar (1 mm), caliper rentang (0.01 mm), millimeter block (1 mm), gelas ukur, termometer, higrometer, dan seperangkat alat pembuat preparat histologis secara mikroteknik dengan menggunakan metode parafin.

###### B2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : tiga puluh dua ekor ayam petelur tipe medium dengan strain Isa Brown umur satu hari, pakan standar untuk

ayam petelur starter (CP 521), aquades, senyawa mikromineral  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  sebagai sumber Fe dan Cu, kimia untuk pembuatan preparat histologis dengan menggunakan metode parafin.

## C. Cara Kerja

### C.1. Pengadaan hewan uji

Hewan uji yang berupa 32 ekor ayam petelur tipe medium dengan strain Isa Brown umur satu hari diperoleh dari toko poultry.

### C.2. Pembuatan larutan mikromineral untuk perlakuan

#### C2.1. Konsentrasi larutan

Mikromineral Fe berupa kristal senyawa  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  dan mikromineral Cu diperoleh dalam bentuk kristal senyawa  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  yang dilarutkan dalam aquades dengan konsentrasi sebagai berikut :

**A : Kadar  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$**

A0 : 0 mg/l = 0 ppm Fe

A1: 338,19 mg/l = 70 ppm Fe

A2: 386,50 mg/l = 80 ppm Fe

A3: 434,81 mg/l = 90 ppm Fe

**B: Kadar  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$**

B0 : 0 mg/l = 0 ppm Cu

B1 : 11,87 mg/l = 3 ppm Cu

B2 : 15,71 mg/l = 4 ppm Cu

B3 : 19,63 mg/l = 5 ppm Cu

## C2.2. Kombinasi larutan

Kombinasi dari larutan Fe dan Cu tersebut adalah sebagai berikut :

Tabel 02. Kombinasi larutan Fe dan Cu

Kombinasi		FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O			
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O		A0	A1	A2	A3
	B0	A0B0	A1B0	A2B0	A3B3
	B1	A0B1	A1B1	A2B1	A3B1
	B2	A0B2	A1B2	A2B2	A3B2
	B3	A1B3	A1B3	A2B3	A3B3

## C2.3. Cara pembuatan larutan

Adapun cara pembuatannya adalah dengan mencampurkan mikro mineral ditambah dengan 1 liter aquades dengan ketentuan sebagai berikut :

A : Kadar FeCl<sub>3</sub>.6 H<sub>2</sub>O

B : Kadar CuSO<sub>4</sub>.5 H<sub>2</sub>O

A0: 0 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O+ Aquades hingga 1 liter

B0: 0 mg CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

A1: 338,19 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

B1: 11,87 mg CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

A2 : 386,50 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

B2 : 15,71 mg CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

A3 : 434,81 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

B3 : 19,63 mg CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O + Aquades hingga 1 liter

### C.3 Langkah Penelitian

Tiga puluh dua ekor ayam terlebih dahulu ditempatkan pada kandang kolektif. Sebelum diperlakukan dengan mikro mineral dilakukan aklimasi, yaitu aklimasi perlakuan kandang selama empat minggu (tiga minggu aklimasi dilakukan dalam kandang litter dan satu minggu dilakukan dikandang *bateray*) dan aklimasi perlakuan per oral dengan aquades.

Setelah masa aklimasi berakhir, kemudian ayam diberi perlakuan dengan cara diberi larutan perlakuan secara per oral sebanyak 1 ml setiap 1 hari sekali dengan menggunakan spuit selama masa percobaan. Pemberian pakan standar dan air minum diberikan secara *ad libitum* sampai saat dilakukan pengamatan. Dilakukan penimbangan bobot badan awal, lalu satu minggu setelah perlakuan, dan pada akhir perlakuan. Pengamatan akhir dilakukan kurang lebih 2 minggu setelah aklimasi dengan cara pengamatan sesaat. Kemudian dilakukan pembuatan preparat histologis pada otot *peroneus superficialis* ayam dengan metode parafin (Suntoro, 1983). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali ulangan.

#### C 4. Penempatan hewan uji

Penempatan dilakukan secara acak dengan menggunakan tabel bilangan acak, dengan denah letak sebagai berikut :

Tabel 03. Denah Penempatan Hewan Uji

A1B3 <sup>1</sup>	A2B1 <sup>1</sup>	A0B0 <sup>1</sup>	A3B3 <sup>2</sup>	A2B2 <sup>1</sup>	A3B0 <sup>2</sup>	A2B3 <sup>1</sup>	A1B3 <sup>2</sup>
A0B3 <sup>1</sup>	A3B1 <sup>1</sup>	A0B1 <sup>1</sup>	A0B0 <sup>2</sup>	A2B3 <sup>2</sup>	A1B1 <sup>1</sup>	A2B2 <sup>2</sup>	A3B2 <sup>2</sup>
A3B0 <sup>1</sup>	A2B0 <sup>1</sup>	A1B2 <sup>1</sup>	A1B0 <sup>1</sup>	A0B2 <sup>2</sup>	A3B3 <sup>1</sup>	A1B0 <sup>2</sup>	A2B0 <sup>2</sup>
A1B1 <sup>2</sup>	A3B0 <sup>2</sup>	A3B2 <sup>1</sup>	A0B1 <sup>2</sup>	A1B2 <sup>2</sup>	A2B1 <sup>2</sup>	A0B2 <sup>1</sup>	A3B1 <sup>2</sup>

1= ulangan 1

2= ulangan 2

#### C 5. Cara Pengambilan data

Setelah masa perlakuan berakhir, hewan uji dibedah, kemudian diisolasi organ femur dan tibia dexter dan sinister. Setelah itu otot dilepas dari tulangnya kemudian ditimbang bobotnya. Tulang panjang yang telah dipisahkan dari ototnya kemudian ditimbang dan diukur panjang serta diameternya dengan menggunakan caliper rentang. Cara pengukuran panjang tulang, diukur dari bagian ujung-ujung epifisial tulang femur maupun tibia. Pengukuran diameter dilakukan pada bagian tengah diafisis tulang femur dan tibia. Pengukuran diameter fibril otot dilakukan dengan mengamati preparat histologis otot *peroneus superficialis* dengan menggunakan mikroskop cahaya.

### C 6. Parameter yang diamati

Parameter utama yang diamati adalah bobot otot *ekstremitas posterior*, diameter otot *peroneus superficialis*, bobot dan ukuran panjang serta diameter tulang femur dan tibia. Pengamatan dilakukan pada organ *dexter* dan *sinister*.

Parameter penunjang yang diamati adalah penambahan bobot badan perminggu, konsumsi pakan perhari. Adapun untuk faktor-faktor lingkungan hanya dilakukan pemantauan.

### D. Analisis Data

Data dari hasil penelitian yang merupakan percobaan pola faktorial 4x4 ini dianalisis dengan menggunakan analisis of varians (ANOVA) dengan dasar Rancangan Acak Lengkap yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5% (Yitnosumarto, 1993; Steel dan Torrie, 1995).