

#### IV. METODOLOGI PENELITIAN

Percobaan ini menggunakan pola faktorial 4 x 4 dengan hewan uji ayam broiler CP707 yang dikelompokkan menjadi 16 unit percobaan dengan 2 kali ulangan. Masing masing kelompok mendapat perlakuan menggunakan larutan mikromineral yang diberiakan secara peroral selama 2 minggu.

##### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 1998 dan bertempat di laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP Semarang.

##### B. Alat dan Bahan

Alat :

Kandang ayam dengan perlengkapannya, spuit, perlengkapan pemeriksaan status darah berupa set alat penghitung jumlah eritrosit, set alat penghitung kadar hemoglobin dan mikroskop.

Bahan :

Tiga puluh dua ayam Broiler CP707 diperoleh dari toko poultry umur 3 hari, pakan ayam standart,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , aquadest sebagai bahan pelarut mikromineral dan bahan penghitung status darah.

## C. Cara Kerja

### C.1 Pengadaan Hewan Uji

Hewan uji berupa 32 ekor ayam broiler CP707 yang diperoleh dari toko poultry saat berumur 3 hari. Ayam diberi pakan standart dengan tetap dihitung konsumsi pakannya tiap hari. Aklimasi selama 4 minggu (3 minggu di kandang litter dan 1 minggu di kandang individu dengan pembiasaan perlakuan (latihan peroral)).

Ketiga puluh dua hewan uji dikelompokkan menjadi 16 unit percobaan dengan masing-masing unit diulang 2 kali.

Unit tersebut adalah :

A0B0	A1B0	A2B0	A3B0
A0B1	A1B1	A2B1	A3B1
A0B2	A1B2	A2B2	A3B2
A0B3	A1B3	A2B3	A3B3

### C.2 Pembuatan Larutan Mikromineral

Larutan tembaga dibuat pada kadar 0 ppm, 3 ppm, 5 ppm dan 7 ppm. Larutan ini diperoleh dengan cara melarutkan senyawa  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dengan masa yang berurutan dengan kadarnya sebesar 0 mg, 11.78 mg 19.63 mg dan 27.50 mg dengan aquadest hingga menjadi 1 liter larutan.

Larutan seng dibuat dengan kadar 0 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm. Larutan ini diperoleh dengan melarutkan senyawa  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dengan masa yang berurutan dengan kadarnya sebesar 0 mg, 132 mg, 220 mg dan 308 mg dengan aquadest hingga menjadi 1 liter.

### C.3 Pemberian Larutan

Larutan diberikan sesuai dengan masing-masing unit percobaan. A0 - A3 mewakili Cu dengan kadar 0 ppm, 3 ppm, 5 ppm dan 7 ppm. B0 - B3 mewakili Zn dari kadar 0 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm. Dikombinasikan sebagai berikut:

A0B0 0 ppm Cu dan 0 ppm Zn	A2B0 5 ppm Cu dan 0 ppm Zn
A0B1 0 ppm Cu dan 30 ppm Zn	A2B1 5 ppm Cu dan 30 ppm Zn
A0B2 0 ppm Cu dan 50 ppm Zn	A2B2 5 ppm Cu dan 50 ppm Zn
A0B3 0 ppm Cu dan 70 ppm Zn	A2B3 5 ppm Cu dan 70 ppm Zn
A1B0 3 ppm Cu dan 0 ppm Zn	A3B0 7 ppm Cu dan 0 ppm Zn
A1B1 3 ppm Cu dan 30 ppm Zn	A3B1 7 ppm Cu dan 30 ppm Zn
A1B2 3 ppm Cu dan 50 ppm Zn	A3B2 7 ppm Cu dan 50 ppm Zn
A1B3 3 ppm Cu dan 70 ppm Zn	A3B3 7 ppm Cu dan 70 ppm Zn

Sebanyak 0,5 ml larutan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dan 0,5 ml larutan  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  diberikan pada hewan uji tiap hari sekali selama 2 minggu secara peroral dengan menggunakan spuit.

### D. Parameter Pengamatan

Parameter utama yang diamati adalah status darah dengan menghitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang dilakukan sesudah perlakuan.

Parameter lain yang menunjang adalah konsumsi pakan dan faktor lingkungan khususnya temperatur.

## **Tehnis Pengambilan Sampel Darah**

Analisis sampel darah dilakukan dengan cara mengambil sampel darah melalui sayap pada vena branchialis.

### **C.4.1 Penentuan Jumlah Eritrosit**

Darah dihisap dengan pipet eritrosit sampai skala 1 kemudian dengan segera larutan hayem dihisap pada skala 101 dengan menggunakan pipet yang sama. Slang pipet dilepaskan dan pipet digojok sekitar 2 menit sehingga larutan tercampur homogen. Ujung pipet ditempelkan pada tepi gelas penutup bilik hitung dan larutan akan mengalir ke bilik hitung sesudah tetesan pertama dibuang lebih dahulu. Eritrosit yang ada di kotak-kotak khusus perhitungan eritrosit dihitung (sebanyak 80 kotak). Hasil yang diperoleh dikalikan dengan 5000 merupakan jumlah eritrosit per  $\text{mm}^3$  (Yusuf, 1988).

### **C.4.2 Penentuan Kadar Hemoglobin**

Tabung hemometer terlebih dahulu diisi HCl 0,1 N sampai skala 2. Darah dihisap dengan pipet dan dengan cepat darah dihembuskan ke tabung hemometer dan didiamkan 1 menit. Diencerkan dengan aquadest setetes demi setetes sampai sesuai dengan warna larutan yang terdapat dalam blok komparator. Tinggi larutan darah merupakan kadar hemoglobin (Yusuf, 1988).

### E. Analisis Data

Percobaan menggunakan pola percobaan faktorial dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Data yang diperoleh dianalisa dengan sidik ragam atau Anova. Jika  $F$  hitung lebih besar dari  $F$  tabel dilanjutkan uji Duncan 5 % (Srigandono, 1989).

