

BAB 3

MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama dua bulan, mulai dari Agustus hingga September 2010. Penelitian ini dilakukan di dua tempat, pembuatan infusa jintan hitam dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Sedangkan tempat pemeliharaan ayam selama penelitian berlangsung bertempat di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan preparat histopatologi organ *bursa Fabricius* dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.2. Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah DOC (*Day Old Chick*) ayam pedaging jantan dengan *strain* Cobb 500 produksi PT Wonokoyo Jaya Corp. Berat badan ayam antara 37 – 42 gram. Ayam tersebut dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok perlakuan. Setiap perlakuan terdapat 7 ekor hewan coba, sesuai dengan penghitungan rumus $t(n-1) \geq 15$. Hasil yang diperoleh adalah sebanyak 5 ekor hewan coba, namun untuk cadangan hewan coba maka digunakan sebanyak 7 ekor hewan coba. Penempatan dan

penentuan perlakuan yang diterima oleh setiap hewan coba dilakukan dengan metode acak dengan cara pengundian agar semua hewan coba memiliki kesempatan yang sama. Ayam yang digunakan adalah ayam jantan dengan tujuan agar pertumbuhan ayam cepat dan seragam.

3.2.2. Infusa Jintan Hitam

Pembuatan infusa jintan hitam dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini menggunakan infusa jintan hitam 20% karena pemberian jintan hitam dalam dosis yang lebih tinggi akan menyebabkan efek toksik pada hewan coba.

Cara pembuatan infusa jintan hitam 20% adalah dengan mencampurkan 20 gram bubuk jintan hitam dengan aquades sebanyak 100 ml. Bubuk jintan hitam diperoleh dengan cara menumbuk biji jintan hitam, kemudian diayak dengan menggunakan saringan. Setelah itu, larutan tersebut dipanaskan dengan menggunakan penangas dengan suhu 90°C selama kurang lebih 15 menit. Kemudian larutan diangkat dan didinginkan. Setelah dingin, larutan tersebut disaring dan hasil saringan ditambahkan air sampai volume 100 ml (Ritonga, 2007). Untuk efisiensi waktu, pembuatan infusa jintan hitam dilakukan pada hari pertama ayam akan diberi perlakuan. Penggunaan infusa dalam penelitian ini efektif karena cara pembuatan infusa tersebut relatif mudah, praktis, efektif dan ekonomis (Wijayanti, 2008).

3.2.3. Pakan

Pakan yang digunakan selama pemeliharaan ayam adalah pakan dengan formulasi standar untuk ayam pedaging tahap awal (*starter*) dengan merek dagang CP 511 produksi PT Charoen Pokphand serta diberi minum yang berasal dari air bersih Perusahaan Daerah Air Minum Surabaya (PDAM).

3.2.4. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk melakukan penelitian adalah kandang *litter* yang berukuran 1x1x0,5 meter untuk memelihara hewan coba serta 4 pasang tempat pakan dan minum untuk hewan coba, 2 buah lampu halogen dan 2 buah lampu *infrared* masing-masing 100 watt sebagai sumber panas, *thermometer* untuk mengukur suhu lingkungan, dan *thermoregulator* yang digunakan untuk mengatur suhu secara otomatis.

Peralatan yang digunakan untuk seksi adalah gunting bedah, scalpel, pinset, nampan untuk tempat organ *bursa Fabricius*, pot plastik, dan timbangan digital untuk menghitung berat organ *bursa Fabricius*. Untuk memeriksa hasil sediaan preparat histopatologi digunakan mikroskop yang dilengkapi dengan mikrometer.

3.3. Metode Penelitian

Sebelum hewan coba datang, kandang didesinfeksi menggunakan formalin 40% yang berfungsi sebagai bakteriosid dengan cara disemprotkan. Kandang yang

digunakan adalah kandang dengan jenis *litter* dengan ukuran 1x1x0,5 meter. Kandang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum, serta *thermometer* untuk mengetahui suhu di sekitar kandang.

Pada saat hewan coba datang, diberi minum air gula dengan konsentrasi 5% untuk mengurangi *stress* akibat perjalanan. Hewan coba juga diadaptasikan dengan lingkungan tempat penelitian selama 14 hari sebelum mendapat perlakuan.

Percobaan ini menggunakan 28 ekor DOC ayam *broiler*. Pada hari pertama hingga ke 7 ayam ditempatkan pada kandang yang sama dan belum diberi perlakuan. Kemudian pada hari ke 8 ayam dibagi menjadi 4 kelompok. Pengacakan dilakukan dengan cara *random*. Dalam tiap kelompok terdapat 7 ekor ayam dan masing-masing kelompok akan diberi perlakuan pada hari ke 15 selama 1 minggu. Setelah 3 minggu, ayam tersebut akan disembelih kemudian diambil organ *bursa Fabriciusnya*.

Berikut ini adalah pembagian kelompok perlakuan *heat stress* dengan pemberian infusa jintan hitam 20%.

- P0 (Kontrol) : Ayam pada kelompok ini tidak mendapat paparan *heat stress* dan tidak diberi infusa jintan hitam 20%.
- P1 : Tidak mendapat paparan *heat stress* tetapi diberi infusa jintan hitam 20% sebanyak 2 ml perhari.
- P2 : Diberi suhu 37⁰C selama 5 jam per hari tanpa pemberian infusa jintan hitam 20%.

P3 : Diberi suhu 37⁰C selama 5 jam perhari dan diberi jintan hitam 20% sebanyak 2 ml perhari.

Sumber panas yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pancaran 2 bola lampu halogen dan 2 buah bola lampu *infrared* dengan daya masing-masing 100 watt yang diletakkan 2 meter diatas kandang *litter*. Suhu panas yang dipancarkan oleh sumber panas dan sampai pada obyek penelitian dikontrol oleh sensor panas yang dihubungkan dengan *thermoregulator* sehingga suhu panas yang diterima obyek perlakuan dapat dikontrol secara otomatis pada kisaran suhu 37⁰C selama 5 jam perhari. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya dengan menggunakan suhu 34,5 – 35⁰C selama 8 jam memberikan hasil yang kurang berbeda nyata sehingga pada penelitian ini digunakan suhu 37⁰C selama 5 jam.

Infusa jintan hitam 20% diberikan dengan cara peroral. Dosis yang digunakan dalam percobaan ini adalah sebanyak 2 ml (Ritongga, 2007).

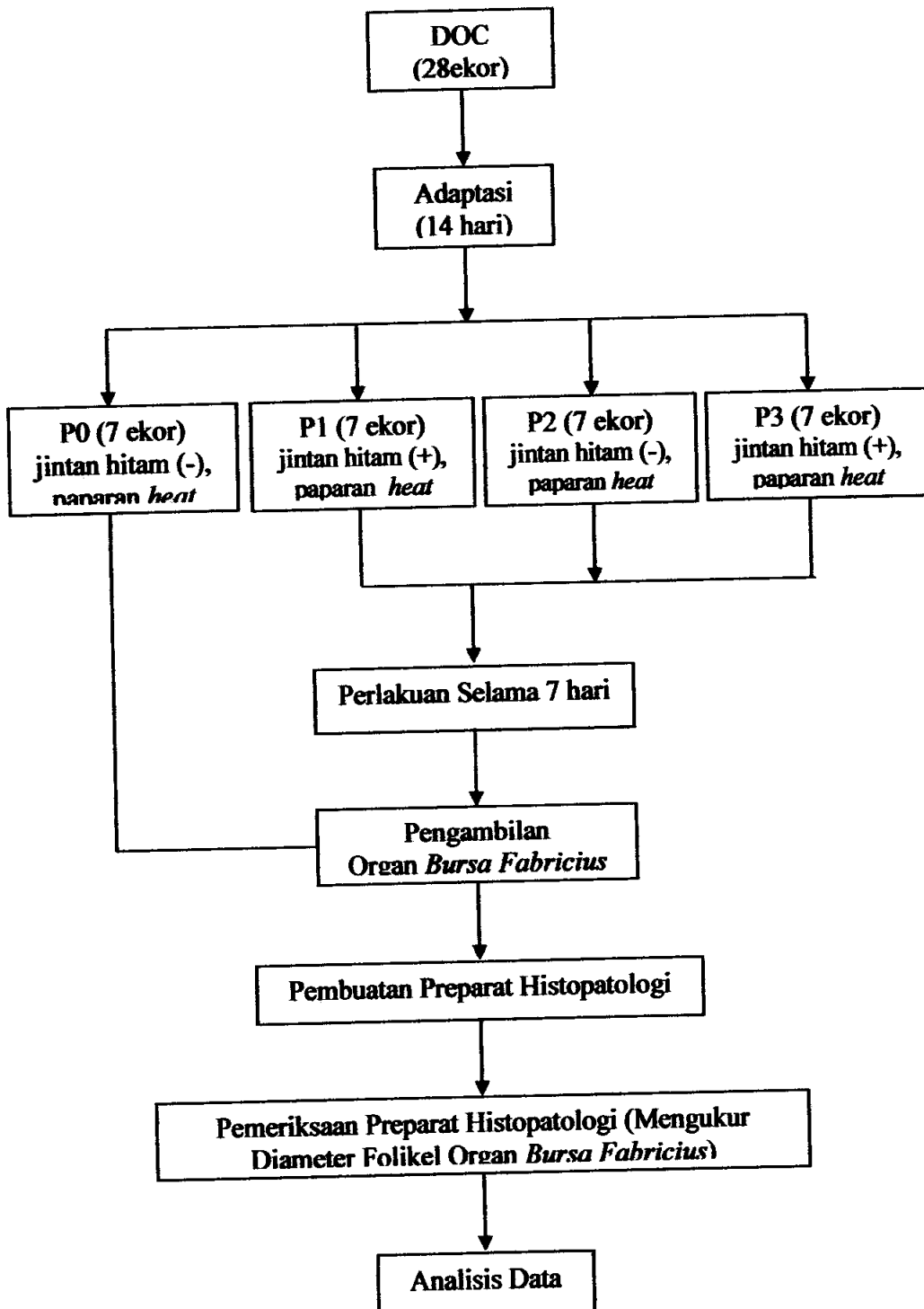
3.4. Pengambilan Sampel

Pada akhir penelitian, dilakukan pengambilan sampel organ *bursa Fabricius*. Ayam dibedah untuk diambil organ *bursa Fabricius*. Setelah melakukan proses seksi, *bursa Fabricius* dicuci terlebih dahulu dengan larutan NaCl fisiologis dengan tujuan untuk membersihkan organ dari kotoran yang menempel. Kemudian dilakukan penimbangan terhadap organ *bursa Fabricius* dengan menggunakan timbangan digital. Setelah itu organ *bursa Fabricius* dimasukkan ke dalam pot plastik yang

berisi larutan formalin 10% untuk diawetkan dan dibuat menjadi preparat histopatologi.

3.5. Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Pemeriksaan preparat histopatologi dilakukan untuk mengukur diameter folikel pada *bursa Fabricius*. Pada pengamatan dilakukan pengukuran pada diameter folikel *bursa Fabricius* dengan menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan ukuran mikrometer. Pengukuran dilakukan pada 5 lapangan pandang folikel *bursa Fabricius* yang berbeda pada tiap preparat dengan pembesaran 100x, kemudian dihitung diameter folikel dan dirata-rata (Krishnamoorthy *et al.*, 2007).

Gambar 3.1. Skema perlakuan hewan uji dalam pengumpulan data percobaan

3.6. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental*, dengan rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.7. Variabel Penelitian

Beberapa variabel yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- Variabel tergantung : Berat dan diameter folikel *bursa Fabricius*.
- Variabel bebas : Pemberian paparan *heat stress*, pemberian infusa jintan hitam.
- Variabel kendali : Umur, jenis kelamin, strain DOC, kepadatan kandang, pakan.

3.8. Analisis Data

Analisis data untuk penelitian ini akan menggunakan uji ANOVA untuk mendapatkan F hitung. Selanjutnya jika hasil yang diperoleh dari perhitungan tersebut terdapat interaksi ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui pengaruhnya (Kusriningrum, 2008). Teknik analisis data akan menggunakan program *SPSS for Windows*.