

III. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Biologi Radiasi, PSIH, IPB dan Laboratorium Fisiologi, Departemen Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB, yang dimulai pada bulan Juni 2003 sampai dengan bulan Agustus 2003.

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 18 ekor mencit betina putih (*Mus musculus*) berumur 8 minggu yang dipelihara di Unit Pemeliharaan Hewan (UPH), mencit tersebut diperoleh dari Laboratorium Pemuliaan Ternak, Departemen Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan IPB, sedangkan daun katuk hijau dan daun katuk kering diambil dari PSIH, IPB. Bahan tersebut diekstraksi kemudian ekstrak kentalnya digunakan dalam penelitian ini sebagai perlakuan.

3.1. Persiapan pembuatan ekstrak dan larutan daun katuk kering dan katuk hijau

Katuk kering adalah daun katuk segar yang dikeringkan secara langsung sedangkan katuk hijau adalah daun katuk segar yang dikeringkan setelah proses fermentasi (oksidasi enzimatis).

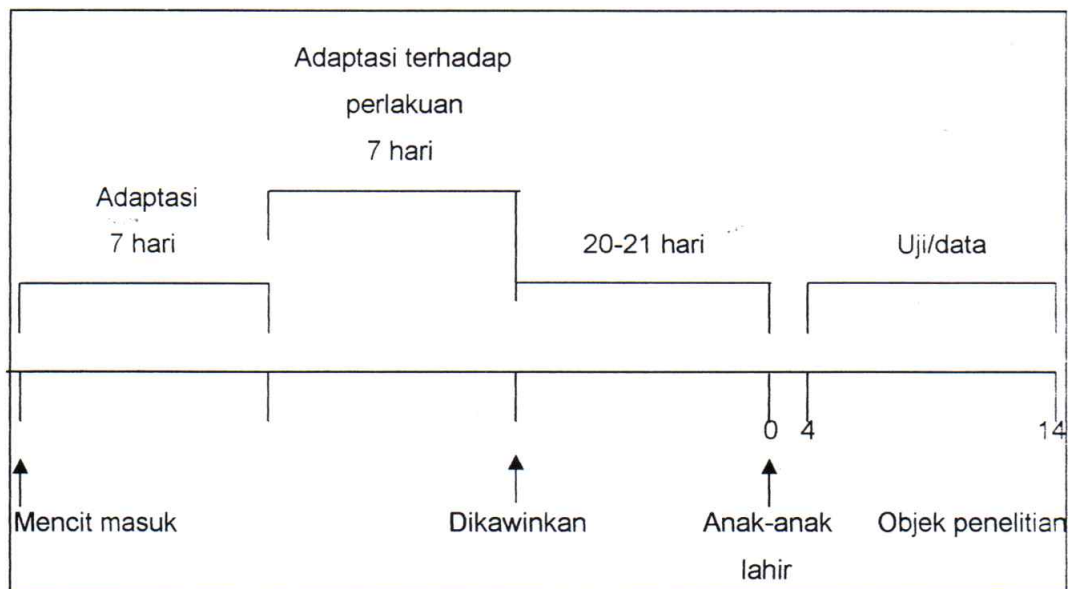
Daun katuk segar dikeringkan di dalam oven 50°C selama 25 jam sehingga didapatkan katuk kering. Katuk hijau diperoleh melalui beberapa tahapan proses, yaitu: perontokan, pelayuan, fermentasi dan pengeringan. Daun katuk dirontokkan dari batangnya kemudian dilayukan dengan menggunakan mesin pelayu (*withering through*) selama satu jam. Proses fermentasi dilakukan dengan memasukkan daun katuk layu ke dalam kotak gabus (*steroform*) selama 12 jam, kemudian pengeringan dilakukan dengan segera setelah proses fermentasi selesai pada mesin pengering oven dengan temperatur 150°C selama $\pm 1,5$ jam. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan melarutkan 100 gram remasan daun katuk di dalam ethanol 70% dengan perbandingan 1:4 dengan cara diaduk pada suhu 60° C selama 6 jam. Hasil yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring sebanyak dua kali untuk memisahkan residunya (Yuliani *et al.* 1995). Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *hot plate* selama 9 jam dengan suhu 50°C. Ekstrak daun katuk yang didapat berupa cairan kental. Pada proses ekstraksi, kadar katuk hijau yang diperoleh adalah 30% dan kadar katuk kering adalah 31%.

Larutan ekstrak katuk kering dan katuk hijau dibuat dengan melarutkan 6 gram ekstrak kental dalam 1000 ml aquades, sehingga didapatkan konsentrasi larutan ekstrak daun katuk sebanyak 0,6%. Dosis yang diberikan pada mencit yang memiliki bobot badan rata-rata 25 gram dengan rata-rata konsumsi minum 7 ml/ekor/hari adalah 1,68 gram/kg BB/hari.

3.2. Persiapan kandang dan pakan hewan percobaan

Mencit dikandangkan dalam bak plastik yang berukuran 40x30x15 cm³ dengan menggunakan kawat sebagai penutup pada bagian atas kandang. Untuk menjaga kebersihan dan kesehatan, kandang dialasi dengan sekam yang diganti setiap hari. Selama penelitian berlangsung, minum diberikan *ad libitum* dengan rata-rata setiap harinya sebanyak 7.97 ml \pm 0.07 dan pakan berupa pelet komersil HI-PRO-VITE 789[®] diberikan *ad libitum* dengan rata-rata setiap harinya sebanyak 6.09 gram \pm 0.15. Kandang-kandang tersebut diletakkan di ruang tertutup dengan kondisi bioklimat perhari 26.88°C \pm 2.75 dan kelembaban ruang kandang 78.20% \pm 11.21.

3.3. Persiapan objek penelitian



Gambar 7. Diagram Kegiatan Penelitian

3.3.1. Adaptasi dengan lingkungan, pakan dan minum

Mencit diadaptasikan selama 7 hari pada kandang baru untuk menghindari stress. Mencit diberikan makanan dan minuman *ad libitum*. Mencit betina dikandangan dalam bak dimana masing-masing bak berisi 3 ekor.

3.3.2. Adaptasi dengan pemberian ekstrak daun katuk, pakan dan minum

Setelah dilakukan proses adaptasi dengan lingkungan, pakan dan minum, mencit diberi perlakuan kembali selama 7 hari berikutnya dengan pemberian minuman ekstrak daun katuk kering dan katuk hijau sehingga proses biologis mencit sudah dipengaruhi oleh ekstrak daun katuk tersebut dan hewan coba tidak stress dengan pemberian minuman tersebut. Pemberian perlakuan ini, dilakukan sampai penelitian berakhir atau hewan telah selesai diambil sampelnya.

3.3.3. Perkawinan

Mencit dikawinkan pada kandang khusus dengan perbandingan jantan dan betina 1:3, dengan mencit tetap diberi minum ekstrak daun katuk menggunakan botol khusus. Mencit jantan dikeluarkan dari kandang agar tidak mengganggu mencit betina bunting yang akan mengalami proses kelahiran. Setelah umur kebuntingan 15 hari mencit dipindahkan ke kandang individu, dimana dalam satu kandang hanya diisi satu ekor mencit.

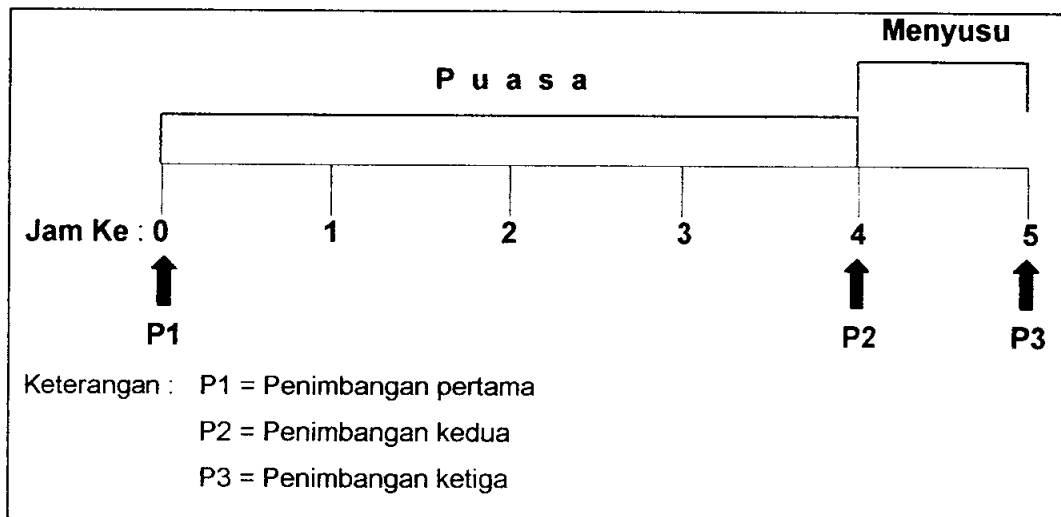
3.4. Pengambilan data

3.4.1. Pengamatan

Pengukuran produksi susu dilakukan setiap hari dimulai pada saat anaknya berusia empat hari sampai hari ke-14. Umur empat hari dimaksudkan untuk menghindari kematian pada saat penanganan dan tidak dimakan oleh induk. Untuk mengurangi kesalahan, maka jumlah anak dalam setiap perlakuan dibuat sama. Masing-masing mencit betina menyusui 6 ekor anak dari yang dilahirkan.

Pengukuran dilakukan dengan melakukan tiga kali penimbangan anak, yaitu : **Penimbangan pertama (P1)** dilakukan sebelum anak dipuaskan, setelah penimbangan pertama anak mencit dipuaskan selama empat jam dengan memisahkannya dari induk. **Penimbangan kedua (P2)** dilakukan setelah anak dipuaskan selama empat jam. Segera setelah penimbangan kedua anak

dibiarkan menyusui kembali selama satu jam. **Penimbangan ketiga (P3)** dilakukan setelah anak menyusui selama satu jam.



Gambar 8. Diagram Pengukuran Produksi Susu dengan Cara Penimbangan Anak

3.4.2. Parameter yang diukur :

1. Produksi susu

Produksi susu diperoleh dari selisih bobot badan kelompok anak pada penimbangan sebelum dan sesudah menyusui pada induknya (P3 dikurangi P2).

2. Pertambahan bobot badan

Pertambahan bobot badan diperoleh dari selisih penimbangan pertama (P1 hari ke-n dikurangi P1 hari ke-n-1).

3. Volume konsumsi minum

Air minum diberikan sebanyak 25 ml setiap harinya dan dihitung dengan cara mengukur air minum yang tersisa dalam botol.



Gambar 9. Mencit yang sedang menyusui anak-anaknya

3.4.3. Tahap Pengolahan Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan Regresi Linier dan Uji Sidik Ragam (ANOVA) dengan Rancangan Acak Lengkap, dan jika terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut (*Duncan Test*).