

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian terapan dengan metode eksperimen. Penelitian eksperimen yaitu penelitian yang dilakukan dengan melakukan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol sebagai pembanding (Nazir, 2003 : 63).

B. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ayam broiler dikelompokkan ke dalam kelompok kontrol dan perlakuan secara acak dengan pengulangan yang diperoleh dari rumus berikut (Gomez dan Gomez, 1995 : 242) :

$$T(r - 1) \geq 20$$

$$4(r - 1) \geq 20$$

$$r \geq 6$$

Keterangan : T : jumlah perlakuan = 4

r : jumlah pengulangan

Ayam-ayam dikelompokkan sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Jumlah pengulangan untuk setiap perlakuan pada penelitian yang dilakukan sebanyak

enam kali pengulangan. Rancangan penempatan perlakuan secara acak yang akan dilakukan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1, berikut ini :

Tabel 3.1 Randomisasi Perlakuan Ayam Broiler

1A	2A	3A	4D
5C	6A	7D	8B
9D	10C	11B	12C
13C	14B	15D	16B
17A	18C	19B	20D
21D	22A	23B	24C

Keterangan :

Perlakuan A : Pakan buatan dengan penambahan tepung kulit pisang 0 %

Perlakuan B : Pakan buatan dengan penambahan tepung kulit pisang 30%

Perlakuan C : Pakan buatan dengan penambahan tepung kulit pisang 50%

Perlakuan D : Pakan buatan dengan penambahan tepung kulit pisang 70%

Kelompok perlakuan adalah kelompok ayam broiler yang diberi pakan buatan dengan penambahan tepung kulit pisang raja bulu sebesar 30% (B), 50% (C), dan 70% (D). Kelompok kontrol (A) yaitu kelompok ayam broiler yang diberi pakan buatan tanpa penambahan tepung kulit pisang raja bulu. Ayam broiler yang telah ditandai secara acak kemudian ditempatkan pada kandang individu (Tabel 3.2).

Tabel 3.2 Penempatan kandang perlakuan

Kandang	No. Ayam					
A	1	2	3	6	17	22
B	8	11	14	16	19	23
C	5	10	12	13	18	24
D	4	7	9	15	20	21

Setiap perlakuan dilakukan enam kali pengulangan. Masing-masing individu ayam diberi pakan sebanyak 100 gram/ekor/hari dengan frekuensi pemberian pakan dilakukan sebanyak dua kali per hari yaitu pagi dan sore. Pemberian air minum dilakukan secara *ad libitum*. Pakan buatan diberikan setelah ayam berumur tiga minggu. Penimbangan berat badan dilakukan satu kali dalam seminggu. Parameter yang diamati antara lain kadar kolesterol darah dan kadar kolesterol daging ayam broiler.

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan. Tahap pertama yaitu tahap persiapan mencakup pembuatan kandang, pemeliharaan ayam broiler, pembuatan tepung kulit pisang, pembuatan komposisi pakan buatan, pemeliharaan *Day Old Chick* (DOC) ayam broiler, dan aklimatisasi. Tahap selanjutnya adalah tahap perlakuan (eksperimen) ayam broiler diberi pakan buatan selama empat minggu. Tahap terakhir dilakukan analisis kadar kolesterol dalam darah dan kolesterol daging ayam broiler. Pengukuran kadar kolesterol dalam darah dan daging

menggunakan metode CHOD-PAP *Enzymatic Colorimeter Test for Cholesterol with Lipid Clearing Factor* (LCF).

Data yang diperoleh, diolah dengan menggunakan statistik dengan program SAS (*Statistical Analysis System*). Langkah pertama yang dilakukan adalah menguji distribusi data dengan uji normalitas kemudian dilanjutkan uji homogenitas. Bila data homogen maka dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA. Uji ini digunakan untuk menguji hipotesis dengan tingkat kepercayaan 95%. Bila data yang diperoleh terdapat perbedaan yang signifikan maka dilakukan dengan uji lanjutan Duncan *Multiple Range Test* (Gomez dan Gomez, 1995).

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian adalah ayam broiler betina yang berumur tiga minggu dan pisang raja bulu. Sampel yang digunakan antara lain darah ayam broiler, daging ayam broiler yang diambil dari bagian femur dan kulit pisang raja bulu.

D. Lokasi Penelitian

Pembuatan tepung kulit pisang dilakukan di tempat tinggal anggota kelompok penelitian. Pemeliharaan ayam broiler, pemberian perlakuan, dan penimbangan berat badan ayam dilakukan di rumah pemeliharaan hewan, Subang. Analisis kadar kolesterol darah dan daging ayam broiler dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Analisis komposisi tepung kulit pisang raja bulu dilakukan di Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Lembaga

Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat, Institut Pertanian Bogor. Analisis komposisi pakan buatan dilakukan di Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor.

E. Prosedur Kerja

1. Tahap Persiapan

a) Pembuatan kandang pemeliharaan ayam broiler

Ayam broiler dipelihara dengan sistem intensif dalam kandang. Tempat pemeliharaan ayam yang digunakan adalah kandang panggung besar terbuat dari bambu berukuran 7 m × 5 m beratap genting. Kandang tersebut terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran ternak sebelumnya, kemudian disemprot dengan desinfektan. Setelah itu, kandang diberi sekat sehingga terbagi menjadi empat kandang kecil yang berukuran 1 m². Setiap kandang kecil tersebut diberi sekam padi setebal 5 – 10 cm. Sekam padi digunakan sebagai alas penutup untuk menyerap kotoran agar lantai tidak lembab dan basah serta proses dekomposisi kotoran ayam berlangsung sempurna. Kandang ini termasuk ke dalam tipe kandang sistem litter atau *deep litter system* (Suprijatna *et al.* 2005 : 142). Persiapan selanjutnya adalah pemasangan tempat makan dan air minum dengan kapasitas air satu liter.

b) Pembuatan tepung kulit pisang

Kulit pisang yang digunakan adalah kulit pisang raja bulu yang telah matang. Limbah ini diperoleh dari industri makanan Kartika Sari, Bandung. Langkah pembuatan tepung kulit pisang, sebelumnya kulit pisang dibersihkan terlebih dahulu kemudian dipotong dadu berukuran kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Setelah itu potongan kulit pisang direndam dalam natrium

metabisulfit dengan perbandingan satu kilogram kulit pisang direndam dalam satu liter air yang ditambahkan 15 gram natrium metabisulfit selama 10 menit dengan tujuan menghilangkan getah dan membunuh mikroorganismenya.

Potongan kulit pisang ditiriskan, selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari selama tiga hari. Kulit pisang yang telah kering diblender sampai halus dan dihasilkan tepung kulit pisang (Hernawati dan Aryani, 2008). Pengeringan adalah suatu metode untuk mengeluarkan atau menghilangkan sebagian air dari suatu bahan dengan cara menguapkan air dengan menggunakan energi panas. Dengan mengurangi kadar airnya, bahan makanan akan mengandung senyawa-senyawa seperti protein, karbohidrat, lemak dan mineral dalam konsentrasi yang lebih tinggi, tetapi vitamin dan zat warna akan berkurang atau rusak (tahap pembuatan tepung kulit pisang pada Lampiran 3.4).

Berdasarkan hasil analisis proksimat yang dilakukan di Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat, IPB, dapat diketahui bahwa sampel tepung kulit pisang raja bulu mengandung energi metabolisme sebesar 4.288 kJ/kcal dan serat kasar sebesar 12,08 g/100 g. Kandungan protein, air, kadar abu, kalsium, lemak dan fosfor dalam kulit pisang tersebut masing-masing sebesar 4,08 g/100 g; 10,72 g/100 g; 9,91 g/100 g; 0,53 g/100 g; 12,84 g/100 g, dan 0,25 g/100 g (Lampiran 3.1).

c) Pembuatan komposisi pakan ayam broiler

Komposisi utama pakan buatan pada penelitian ini mengandung dedak padi, jagung kuning, bungkil kelapa, bungkil kedelai, tepung ikan, tepung tulang,

minyak kelapa, Top Mix, dan CaCO_3 . (Komposisi pakan buatan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 3.2).

Pakan buatan untuk kelompok perlakuan dicampur dengan tepung kulit pisang sebanyak 30% (B), 50% (C), dan 70% (D). Semua bahan pakan buatan tersebut diaduk merata agar tidak terjadi penggumpalan (Lampiran 3.5). Perhitungan komposisi pakan buatan dibuat berdasarkan kandungan protein dan energi dalam pakan sebesar 20% dan 2900 kkal/kg (berdasarkan standar Scott *et al.* 1982). Hal ini senada dengan standar protein pakan yang mengacu pada Ensminger (Suprijatna *et al.* 2005 : 191) yaitu sebesar 20%.

d) Pemeliharaan *Day Old Chick* (DOC) ayam broiler

Ayam broiler yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari penyedia bibit ayam Missouri, Bandung. Sebanyak 24 individu DOC ayam broiler betina diberi pakan starter pabrik sampai ayam berumur dua minggu.

Suhu kandang selama proses pemeliharaan DOC ayam yang ideal diatur antara 23-26° C (Fadilah, 2004). DOC diberi air minum dengan campuran air gula dengan tujuan mengembalikan kondisi ayam yang stress dan energi yang hilang selama perjalanan. Ayam broiler kemudian dibiarkan minum selama dua jam, dan saat air gula tersebut sudah habis maka diganti dengan air biasa. Pemberian pakan pabrik dan air minum diberikan secara *ad libitum* selama pemeliharaan DOC. Pemberian pakan dilakukan dua kali sehari yaitu pagi dan sore hari.

Selama proses pemeliharaan, pada hari ke-4 semua DOC ayam broiler diberi vitamin (vitachicks) dan vaksin. Pemberian vitamin dilakukan apabila terjadi perubahan cuaca untuk menghindari terjadinya stress pada ayam. Pemberian

vaksin dicampur langsung dengan air minum dan diberikan pada pagi hari (Yunus *et al.* 2007).

e) Aklimatisasi

Ayam broiler yang telah berumur dua minggu sebanyak 24 individu diaklimatisasi terlebih dahulu sebelum diberikan perlakuan. Hewan percobaan diaklimatisasi selama satu minggu untuk menyeragamkan cara hidup dan makan. Hewan ini dipelihara dalam kandang pemeliharaan beralas sekam yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Selama aklimatisasi ayam broiler diberi pakan buatan sebanyak 100 gr/hari/ekor. Pemberian pakan dilakukan setiap dua kali sehari yaitu pagi dan sore hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Ransum yang diberikan selama aklimatisasi adalah :

R1: ransum mengandung 30% pakan buatan dan 70% pakan pabrik.

R2: ransum mengandung 50% pakan buatan dan 50% pakan pabrik.

R3: ransum mengandung 70% pakan buatan dan 30% pakan pabrik.

R4: ransum mengandung 100% pakan buatan.

Vaksinasi berikutnya dilakukan ketika ayam berumur 21 hari. Pada saat vaksinasi, diberikan *feed supplement* untuk mengurangi rasa stress dan merangsang pertumbuhan. Aklimatisasi biasanya dilakukan untuk menghadapi faktor-faktor yang terjadi di lingkungan lebih terkontrol. Pada akhir tahap ini dilakukan penimbangan bobot badan untuk mengetahui bobot badan awal ayam broiler. Proses aklimatisasi dilakukan pada minggu ketiga.

2. Tahap Perlakuan

Ayam broiler yang telah berumur tiga minggu diberi perlakuan selama empat minggu. Tiga kelompok ayam broiler diberi pakan buatan dengan penambahan tepung kulit pisang masing-masing sebesar 30% (B); 50% (C); dan 70% (D). Satu kelompok lainnya merupakan kelompok kontrol (A) yang diberi pakan buatan tanpa tepung kulit pisang. Konsumsi pakan mengacu pada Ensminger (Suprijatna *et al.* 2005 : 191) yaitu sebanyak 100 g/ekor/hari dengan kandungan protein pakan sebesar 20%. Pemberian pakan buatan dilakukan dua kali per hari yaitu pagi dan sore. Pemberian air minum diberikan secara *ad libitum*. Penimbangan berat badan dilakukan setiap satu kali dalam seminggu. Setelah empat minggu perlakuan, ayam broiler dipotong untuk kemudian diambil sampel darah dari *vena jugularis* dan daging dari bagian femur untuk dianalisis kadar kolesterolnya.

3. Tahap Analisis Parameter

a) Kadar kolesterol dalam darah

Sampel darah ayam broiler dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah steril, lalu disentrifuge pada kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang berupa serum diambil menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam mikrotube, selanjutnya siap untuk dianalisis kandungan kolesterolnya dengan menggunakan metode *Enzymatic Cholesterol High Performance (CHOD-PAP KIT)* (Boehringer dalam Sutarpa, 2005).

b) Kadar kolesterol dalam daging

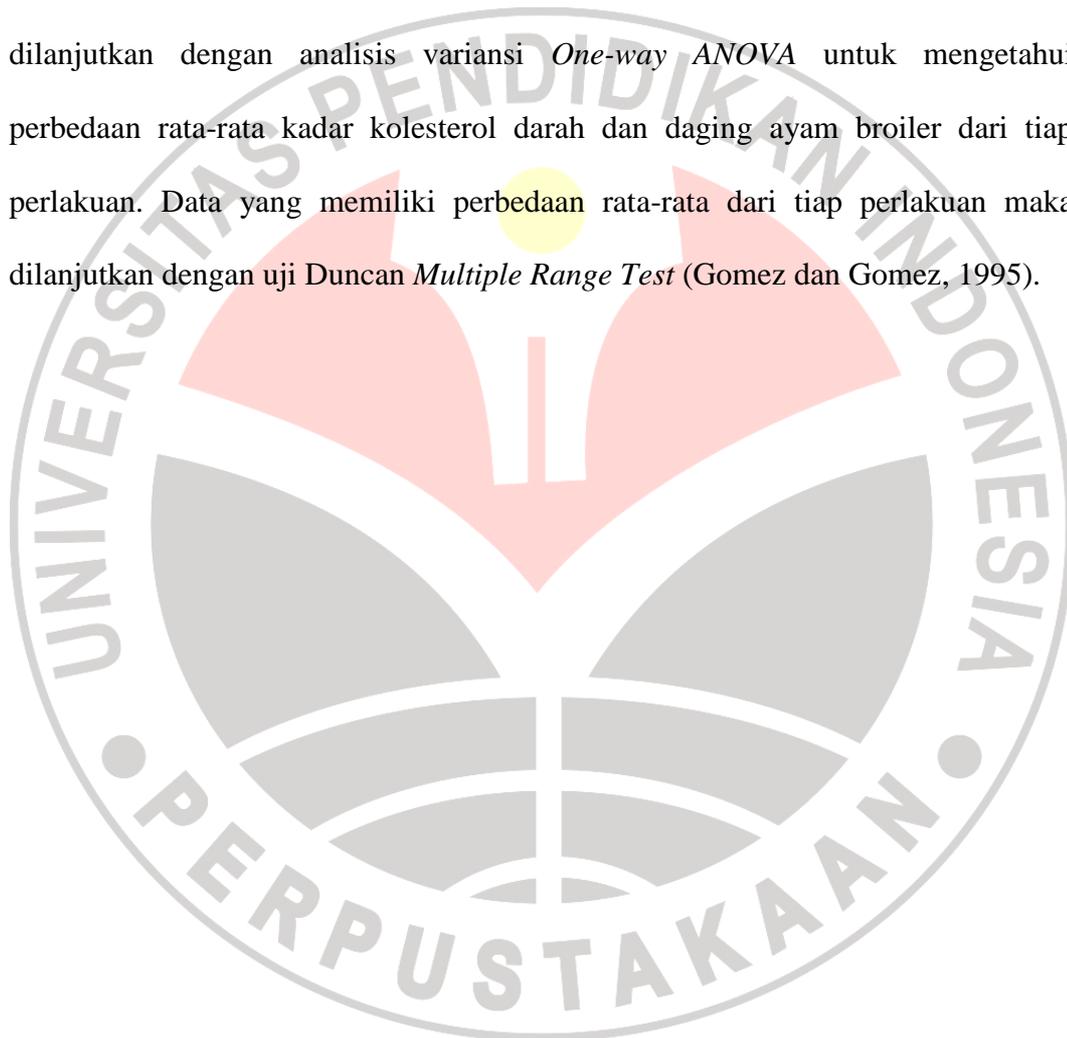
Sampel daging yang diambil dari bagian femur sebanyak lima gram dihaluskan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah steril. Ekstraksi dilakukan dengan cara menambahkan 10 mL larutan dietil eter ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan selama 48 jam. Selanjutnya daging yang ada di dalam tabung reaksi dibuang, endapan sisa lemak dilarutkan dalam buffer PBS sebanyak 0,5 mL. Campuran tersebut dihomogenisasi dan disentrifuge pada kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam mikrotube, selanjutnya dianalisis kandungan kolesterolnya dengan menggunakan metode *Enzymatic Cholesterol High Performance* (CHOD-PAP KIT) (Boehringer, 1993 dalam Sutarpa 2005). Metode pengukuran kadar kolesterol CHOD-PAP KIT pada Lampiran 3.3.

Analisis kolesterol dimulai dengan memasukkan sebanyak 200 μL sampel daging ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 1 mL reagen kolesterol dan diaduk dengan vortex agar homogen. Campuran ini diinkubasikan selama 10 menit dalam suhu kamar (20°C - 25°C), kemudian dituangkan ke dalam cuvet. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm dan hasilnya dapat dilihat dalam bentuk absorban. Sampel dan standar diukur absorbansinya terhadap blanko murni yang nantinya didapatkan ΔA .

$$C = \frac{\text{konsentrasi standar} \times (\Delta A) [\text{mg/dl}]}{\Delta \text{ standar}}$$

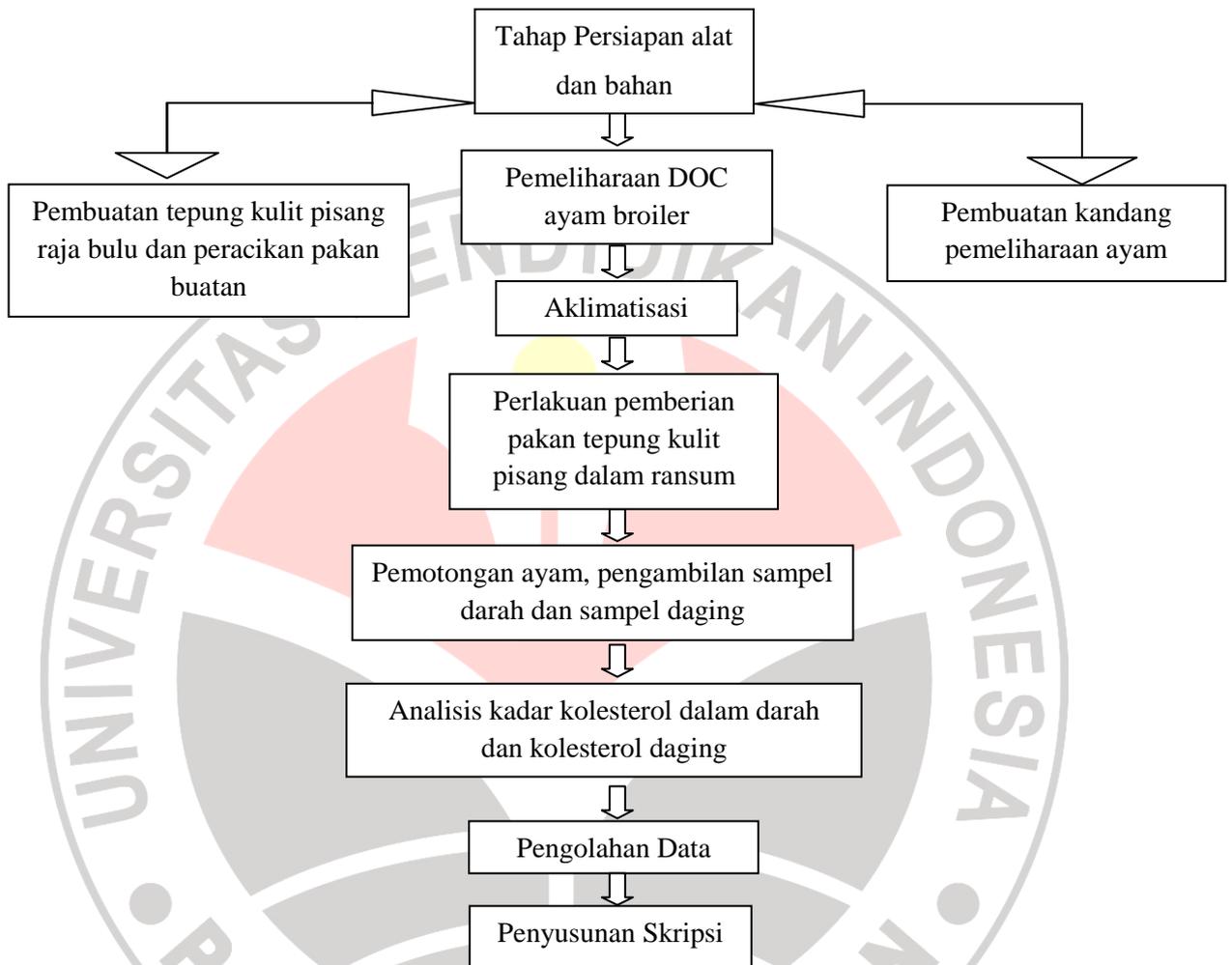
F. Analisis Data

Data kadar kolesterol darah dan daging ayam broiler yang diperoleh, diolah dengan menggunakan statistik program SAS. Analisis awal dilakukan uji normalitas (*Kolmogorov – Smirnov*) dan uji homogenitas (*Leven's*) untuk menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen atau tidak. Pengujian dilanjutkan dengan analisis variansi *One-way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar kolesterol darah dan daging ayam broiler dari tiap perlakuan. Data yang memiliki perbedaan rata-rata dari tiap perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan *Multiple Range Test* (Gomez dan Gomez, 1995).



G. Alur Penelitian

Tahap-tahap dalam penelitian yang dilakukan yaitu :



Gambar 3.1 Alur Penelitian