

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif. Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experiment research* atau penelitian eksperimen murni. Desain penelitian yang digunakan adalah *posttest only controlled group design* (*posttest* kelompok kontrol) dengan melibatkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan serta ulangan, sehingga akan dapat diidentifikasi pengaruh antara variabel bebas dengan variabel terikat dalam penelitian.

#### 3.2 Lokasi Penelitian

*Gallus gallus domesticus* L. dipelihara pada saat *Day Old Chick* (DOC) hingga berumur 35 hari yang dilakukan di Peternakan Suparman 2, Kelurahan Argosuko, Kecamatan Poncokusumo, Kabupaten Malang. Skrining fitokimia ekstrak daun *Ruellia tuberosa* L. dilakukan di Laboratorium Herbal Meteria Medika Malang. Analisis sampel darah untuk kadar SGPT dan SGOT *G. domesticus* dilakukan di Laboratorium Riset dan Diagnostik Satwa Sehat Indonesia yang berada di Tidar, Malang.

#### 3.3 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan sejak bulan Januari hingga Februari 2024.

### **3.4 Populasi, Teknik Sampling dan Sampel**

#### **3.4.1 Populasi**

Populasi dari penelitian ini adalah seluruh *G. domesticus* yang berjumlah 2.000 ekor di Peternakan Suparman 2, Kelurahan Argosuko, Kecamatan Poncokusumo, Kabupaten Malang.

#### **3.4.2 Teknik Sampling**

Penelitian ini menggunakan teknik sampling *simple random sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel dan penentuan lokasi secara acak dengan menentukan jumlah sampel yang akan diteliti, memberi nomor urut pada semua satuan sampel yang diambil dan dapat mewakili wilayah penelitian dalam pengambilan sampel secara keseluruhan. Teknik sampling dapat dikatakan simple karena dalam pengambilan sampel dilakukan apabila populasinya homogen tanpa melihat strata dalam suatu populasi dan diambil secara acak.

#### **3.4.3 Sampel**

Sampel dari penelitian ini adalah *G. domesticus* yang berumur 8-14 hari, dengan berat badan 70-85 gram, dalam keadaan sehat dan tidak terdapat kelainan secara morfologi serta tidak diperhatikan jenis kelaminnya (*unisex*).

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Jenis Variabel**

##### **3.5.1.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dari penelitian ini adalah dengan konsentrasi ekstrak daun *R. tuberosa* yaitu sebesar 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 375 ppm, 500 ppm, 625 ppm, dan 1000 ppm. Ekstrak daun *R. tuberosa* akan dicampurkan ke dalam pakan *G. domesticus* merk Patrioe Feed BR1 PS.

##### **3.5.1.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kadar SGPT dan SGOT dalam darah *G. domesticus*.

##### **3.5.1.3 Variabel Kontrol**

Variabel kontrol dari penelitian ini adalah umur *G. domesticus*, kondisi lingkungan kandang, ukuran kandang, dan berat pakan.

#### **3.5.2 Definisi Operasional Variabel**

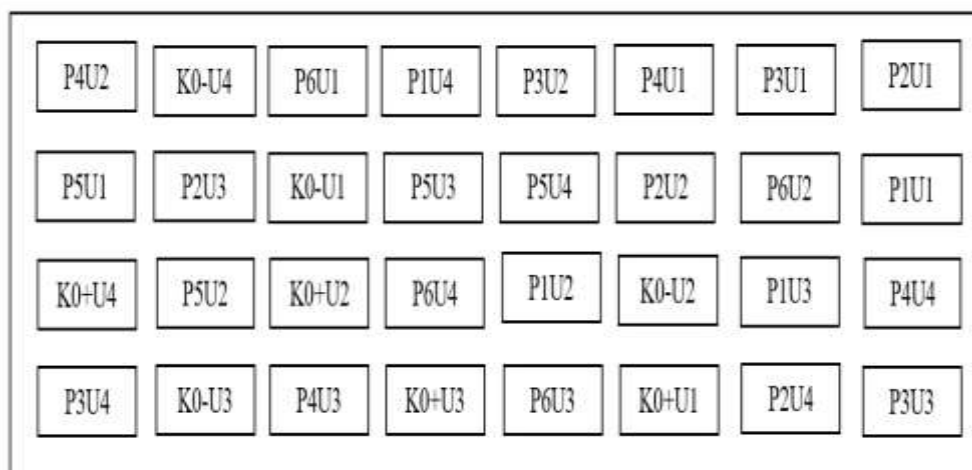
Berdasarkan dari jenis variabel yang sudah ditentukan, maka perlu adanya definisi operasional variabel untuk menghindari terjadinya suatu kesalahan dari pengertian. Definisi operasional dari variabel-variabel akan disajikan dalam Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Parameter
Konsentrasi ekstrak daun <i>R. tuberosa</i>	Konsentrasi ekstrak daun <i>R. tuberosa</i> yang diberikan dalam pakan <i>G. domesticus</i> , yaitu 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 375 ppm, 500 ppm, 625 ppm, dan 1000 ppm.	-
Profil darah <i>G. domesticus</i>	Profil darah dijadikan sebagai parameter untuk gambaran respon ternak terhadap pemberian tambahan dalam pakan.	Perhitungan kadar SGPT dan SGOT dalam darah <i>G. domesticus</i> .
Umur <i>G. domesticus</i>	Umur dari <i>G. domesticus</i> yang digunakan adalah 8-14 hari.	-
Ukuran dari kandang <i>G. domesticus</i>	Kandang <i>G. domesticus</i> memiliki ukuran yang p x l x t (60 x 60 x 60 cm).	-
Kondisi lingkungan pada kandang	Suhu pada kandang yang digunakan berada pada kisaran 25-29°C. Kandang dibersihkan dengan penyemprotan disinfektan secara teratur.	-
Pakan <i>G. domesticus</i>	Pemberian pakan yang digunakan peternak pada <i>G. domesticus</i> adalah Patriot Feed BR1 PS.	-

### 3.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). Gambaran dari rancangan untuk penempatan satuan unit (*flock*) disajikan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Bagan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Keterangan gambar :

- K<sub>0-</sub> : Perlakuan kontrol diberi 1,5% *tween* 80 sebanyak 100 ml
- K<sub>0+</sub> : Perlakuan kontrol positif (+) diberi antibiotik (Tetrasikin)
- P<sub>1</sub> : Pemberian ekstrak daun *R. tuberosa* 125 ppm + 1,5% *tween* 80 dalam pakan
- P<sub>2</sub> : Pemberian ekstrak daun *R. tuberosa* 250 ppm + 1,5% *tween* 80 dalam pakan
- P<sub>3</sub> : Pemberian ekstrak daun *R. tuberosa* 375 ppm + 1,5% *tween* 80 dalam pakan
- P<sub>4</sub> : Pemberian ekstrak daun *R. tuberosa* 500 ppm + 1,5% *tween* 80 dalam pakan
- P<sub>5</sub> : Pemberian ekstrak daun *R. tuberosa* 625 ppm + 1,5% *tween* 80 dalam pakan
- P<sub>6</sub> : Pemberian ekstrak daun *R. tuberosa* 1000 ppm + 1,5% *tween* 80 dalam pakan
- U<sub>1</sub> : Ulangan kesatu (1)
- U<sub>2</sub> : Ulangan kedua (2)
- U<sub>3</sub> : Ulangan ketiga (3)
- U<sub>4</sub> : Ulangan keempat (4)

Rancangan tersebut berfungsi untuk mengetahui pengaruh disetiap perlakuan yang diberikan sejumlah pengulangan. Perlakuan dalam penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi berbeda, yaitu 125 ppm, 250 ppm, 375 ppm, 500 ppm, 625 ppm, dan 1000 ppm yang ditambahkan dalam pakan dan terdapat perlakuan kontrol dan kontrol positif (+). Terdapat 8 perlakuan dengan 4 pengulangan untuk masing-masing perlakuan, sehingga total perlakuan adalah 32 unit. Pada beberapa perlakuan yang digunakan terdapat 3 ekor *G. domesticus*, sehingga total *G. domesticus* yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian adalah 96 ekor.

Besarnya jumlah dari pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus federer sebagai berikut:

**Rumus Federer**

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

**Keterangan Rumus :**

n = Jumlah Sampel

t = Perlakuan

Perhitungan :

r = Ulangan

$$(7-1)(r-1) \geq 15$$

$$6(r-1) \geq 15$$

$$6r - 6 \geq 15$$

$$6r \geq 15 + 6$$

$$6r \geq 21 : 6$$

$$r \geq 3,5 \rightarrow \text{dibulatkan menjadi } 4$$

Perhitungan Jumlah Sampel:

$$n = t \times r$$

$$n = 7 \times 4$$

$$n = 28 \text{ unit perlakuan}$$

**3.7 Prosedur Penelitian**

Terdapat 3 tahapan yang akan dilakukan dalam prosedur penelitian ini, yaitu tahap persiapan, tahap pelaksanaan, dan pengambilan data.

**3.7.1 Tahap Persiapan****3.7.1.1 Pengurusan Kode Etik**

Penelitian ini sudah dikaji secara keseluruhan oleh KEPK (Komisi Etik Penelitian Kesehatan) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Proses penelitian ini telah memenuhi persyaratan dalam kelayakan etik yang memiliki kode E.5.a/022/KEPK-UMMI/2024.

### 3.7.1.2 Persiapan Alat dan Bahan

Adapun alat yang akan digunakan dalam proses penelitian ini dapat disajikan pada 3.2.

**Tabel 3.2 Alat-alat dalam Penelitian**

Alat-Alat	Kegunaan
32 unit kandang yang berukuran 60 cm x 60 cm x 60 cm (p x l x t)	Sebagai tempat untuk memelihara <i>G. domesticus</i>
32 unit tempat pakan merk Gentamin dan tempat minum merk Medivac	Sebagai tempat untuk memberi pakan dan minum <i>G. domesticus</i>
1 unit timbangan digital merk Onemed	Menimbang berat badan dan kebutuhan dari pakan <i>G. domesticus</i>
4 unit lampu merk Philips 15 watt	Untuk cahaya di kandang saat malam hari
2 unit pemanas jenis gasolec merk fortevit	Mengatur suhu pada kandang agar sesuai dengan suhu yang dibutuhkan <i>G. domesticus</i>
2 tirai biru berbahan terpal	Untuk menutup kandang ketika malam hari atau hujan
1 unit blender merk Miyako	Menghaluskan daun-daun <i>R. tuberosa</i> yang sudah kering
2 lembar kertas label merk Golden Cock	Menandai setiap perlakuan yang berbeda pada kandang
1 unit termometer merk GEA	Melakukan pengukuran suhu di kandang
32 unit spuit merk Gidcare	Mengambil sampel darah dari bagian vena brachialis pada <i>G. domesticus</i>
32 unit tabung darah EDTA merk Vaculab	Tempat meletakkan sampel darah <i>G. domesticus</i>
1 pack handscoon merk Sensi	Mencegah kontaminasi
1 pack masker medis merk Mouson	Terhindar dari penularan penyakit
2 unit ice gel	Pendingin untuk tempat penyimpanan dari sampel darah
1 unit box sterofoam	Tempat menyimpan tabung EDTA yang berisi darah
1 unit botol penyemprot kandang merk Matrix	Menyemprot disinfektan di kandang
6 unit Cawan petri	Tempat mengeringkan ekstrak <i>R.tuberosa</i> yang sudah dicampur <i>tween 80</i>
2 unit Magnetic stirer	Menghomogenkan ekstrak <i>R.tuberosa</i> dengan <i>tween 80</i>
1 unit Oven	Mengeringkan ekstrak <i>R.tuberosa</i> yang sudah dicampurkan dengan <i>tween 80</i>

Adapun bahan yang akan digunakan dalam proses penelitian ini dapat disajikan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Bahan-bahan dalam Penelitian

Bahan	Jumlah
<i>Gallus gallus domesticus</i> L.	96 ekor
Air minum	Adlibitum (tidak terbatas)
Ekstrak etanol daun <i>Ruellia tuberosa</i> L.	800 gr
1,5% Tween 80	8 L
Pakan komersil merk Patriot Feed BR1 PS	440 kg
Cairan disinfektan merk Destan	1 buah

### 3.7.1.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun *Ruellia tuberosa* L.

Dalam penyediaan ekstrak etanol daun *R. tuberosa* melalui beberapa proses sebagai berikut.

1. Melakukan pemisahan daun *R. tuberosa* dari tangkainya.
2. Kemudian daun *R. tuberosa* yang telah diambil dicuci dengan bersih.
3. Pengeringan Daun *R. tuberosa* dengan cara diangin-anginkan selama  $\pm$  2-3 hari dan tidak meletakkannya pada tempat yang terkena sinar matahari langsung.
4. Selanjutnya dilakukan penggilingan daun *R. tuberosa* yang sudah kering menjadi serbuk menggunakan blender.
5. Kemudian dilakukan ekstraksi simplisia *R. tuberosa* dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan dibiarkan selama 3-7 hari.
6. Setelah itu dilakukan evaporasi pada hasil maserasi simplisia *R. tuberosa* dengan Rotavapor.
7. Ekstrak *R. tuberosa* yang dihasilkan akan dibentuk menjadi serbuk kembali dengan mencampurkan maltodekstrin sebanyak 5 gr dan dimasukkan ke dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan aquades hingga 50 ml.



8. Aduk campuran tersebut dengan *magnetic stirrer* sampai homogen selama 30 menit.
9. Tambahkan ekstrak *R. tuberosa* dan 1,5% tween 80 sebanyak yang diperlukan, lalu aduk kembali campuran tersebut dengan *magnetic stirrer* sampai homogen selama kurang lebih 30 menit.
10. Kemudian, campuran tersebut akan dikeringkan dengan *metode thin layer drying*.
11. Selanjutnya, campuran tersebut dituangkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan 3 mm untuk dikeringkan menggunakan oven pada suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$  selama 4 jam sampai mudah terlepas dari cawan petri.
12. Hasil campuran yang sudah kering akan dihaluskan kembali sampai menjadi serbuk yang halus.

#### **3.7.1.4 Persiapan Kandang**

Kandang *G. domesticus* disiapkan dengan melakukan pembersihan dan sterilisasi di kandang kurang lebih 1 minggu sebelum kandang akan digunakan, prosesnya dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Membersihkan terlebih dahulu kotoran yang terdapat di tempat pakan dan minum serta kandang.
2. Melakukan penyemprotan desinfektan di setiap sisi kandang untuk sterilisasi.
3. Melakukan pemasangan lampu sebagai sumber cahaya di kandang.
4. Melakukan pengukuran suhu di kandang agar sesuai dengan kebutuhan dari *G. domesticus*.
5. Label dari perlakuan akan diberikan pada setiap kandang untuk mempermudah proses pengamatan.

6. Membersihkan kandang di pagi hari secara teratur.

#### **3.7.1.5. Aklimasi *Gallus gallus domesticus* L.**

Perlakuan pada *Day Old Chick* (DOC) *G. domesticus* dilakukan dengan cara memasukkannya ke kandang sesuai dengan RAL yaitu secara acak. Kemudian dilakukan aklimasi selama 7 hari agar *G. domesticus* dapat beradaptasi di kandang yang baru. Aklimasi *G. domesticus* dilakukan dengan memberi pakan merk Patriot Feed BR1 PS yang terdiri dari protein, kalsium, energi, fosfor, dan lemak. Pemberian minum pada *G. domesticus* diberikan secara *ad libitum*.

#### **3.7.2 Tahap Pelaksanaan**

Dalam penelitian ini dilakukan pada kandang *open house* dengan pelaksanaan sebagai berikut:

1. Mempersiapkan pakan dan minum untuk *G. domesticus*.
2. Meletakkan *G. domesticus* ke dalam flock percobaan yang sudah diberi label sesuai dengan bagan rancangan, dimana setiap flock diisi sebanyak 3 ekor ayam.
3. Pakan dan minum *G. domesticus* diberikan selama 5 minggu secara rutin sesuai dengan jadwal pemberian, yaitu di pagi hari jam 08.00 WIB dan sore hari jam 16.00 WIB. Pakan yang diberikan pada *G. domesticus* disesuaikan dengan perlakuan, yaitu K0-, K0+, P1, P2, P3, P4, P5, dan P6. Kebutuhan pakan pada setiap periode pemeliharaan dari *G. domesticus* akan disajikan dalam Tabel 3.4 dan komposisi pakan merk Patriot Feed BR1 PS di setiap periode disajikan pada Tabel 3.5.

Berdasarkan SNI 8173.2:2015 tentang pakan ayam ras pedaging (*broiler*) – bagian 2: masa awal (*starter*) dan SNI 8173.3:2015 tentang pakan ayam ras pedaging (*broiler*) – bagian 3: masa akhir (*finisher*) kebutuhan pakan ayam setiap periode pemeliharaan dapat diketahui sebagai berikut pada Tabel 3.4.

**Tabel 3.4 Kebutuhan Pakan Setiap Periode Pemeliharaan**

Kebutuhan Nutrien	Periode Starter	Periode Finisher
Energi	3000 Kkal/kg	3100 Kkal/kg
Protein	20%	19%
Lemak	5%	5%
Kalsium (Ca)	0,80-1,10%	0,80-1,10%
Fosfor (P)	0,50-0,60%	0,45-0,55%

**Tabel 3.5 Komposisi Pakan Merk Patriot Feed BR1 PS**

Umur	Jenis pakan	Tipe pakan	Komposisi Pakan
Umur 1-21 hari (Fase starter)	Patriot Feed	BR1 PS	Energi : 3065 Kkal/kg
			Protein : 21%
Umur 22-35 hari (Fase Finisher)			Lemak : 5-6%
			Kalsium (Ca) : 0,9-1,1%
			Fosfor (P) : 0,7-0,9%

(Sumber : Imam et al., 2022; Ralahalu et al., 2020)

4. Mengontrol setiap hari kondisi suhu di kandang.
5. Pembersihan kandang dilakukan secara teratur di pagi hari.
6. Pengambilan sampel darah dilakukan secara acak dari tiap *flock* percobaan pada hari ke 35.

### 3.7.3 Tahap Pengambilan Data

Darah *G. domesticus* diambil di hari ke 35 pemeliharaan. Darah *G. domesticus* diambil pada tiap unit perlakuan masing-masing sebanyak 2 ml di sayap ayam bagian dalam yaitu bagian vena brachialis menggunakan spuit 3 ml. Selanjutnya, darah *G. domesticus* dimasukkan ke dalam tabung EDTA dan dikirim ke Laboratorium Riset dan Diagnostik Satwa Sehat Indonesia untuk dilakukan analisis profil darah yaitu kadar SGPT dan SGOT.

### 3.7.4 Tahap Analisis

Analisis profil darah *G. domesticus* meliputi kadar SGPT dan SGOT dalam darah dengan metode kinetik IFCC (*Internasional Federation of Clinical Chemistry*). Kinetik-IFCC merupakan suatu pengukuran fotometris dari perubahan nilai absorbansi per satuan waktu dan telah diakui oleh kimia klinik secara internasional. Pengukuran menggunakan Kinetik-IFCC berguna untuk mengukur aktifitas enzim, yaitu kecepatan enzim dalam mengubah substrat (Wanti et al., 2020). Prinsip dari Kinetik-IFCC adalah SGOT mengkatalisis transaminase dari L-aspartate dan alfa-ketoglutarat membentuk L-glumate dan pyruvat, kemudian pyruvat direduksi menjadi malate oleh enzim Malate Dehydrogenase (MDH) dan Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) yang kemudian teroksidasi menjadi NAD. Sedangkan SGPT mengkatalisis transaminase dari L-alanin dan alfa-ketoglutarat membentuk L-glumate dan oxaloacetate, kemudian oxaloacetate direduksi menjadi malate oleh enzim Laktat Dehydrogenase (LDH) dan Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) yang kemudian teroksidasi menjadi NAD. Banyaknya NADH yang teroksidasi hasil absorban akan berbanding

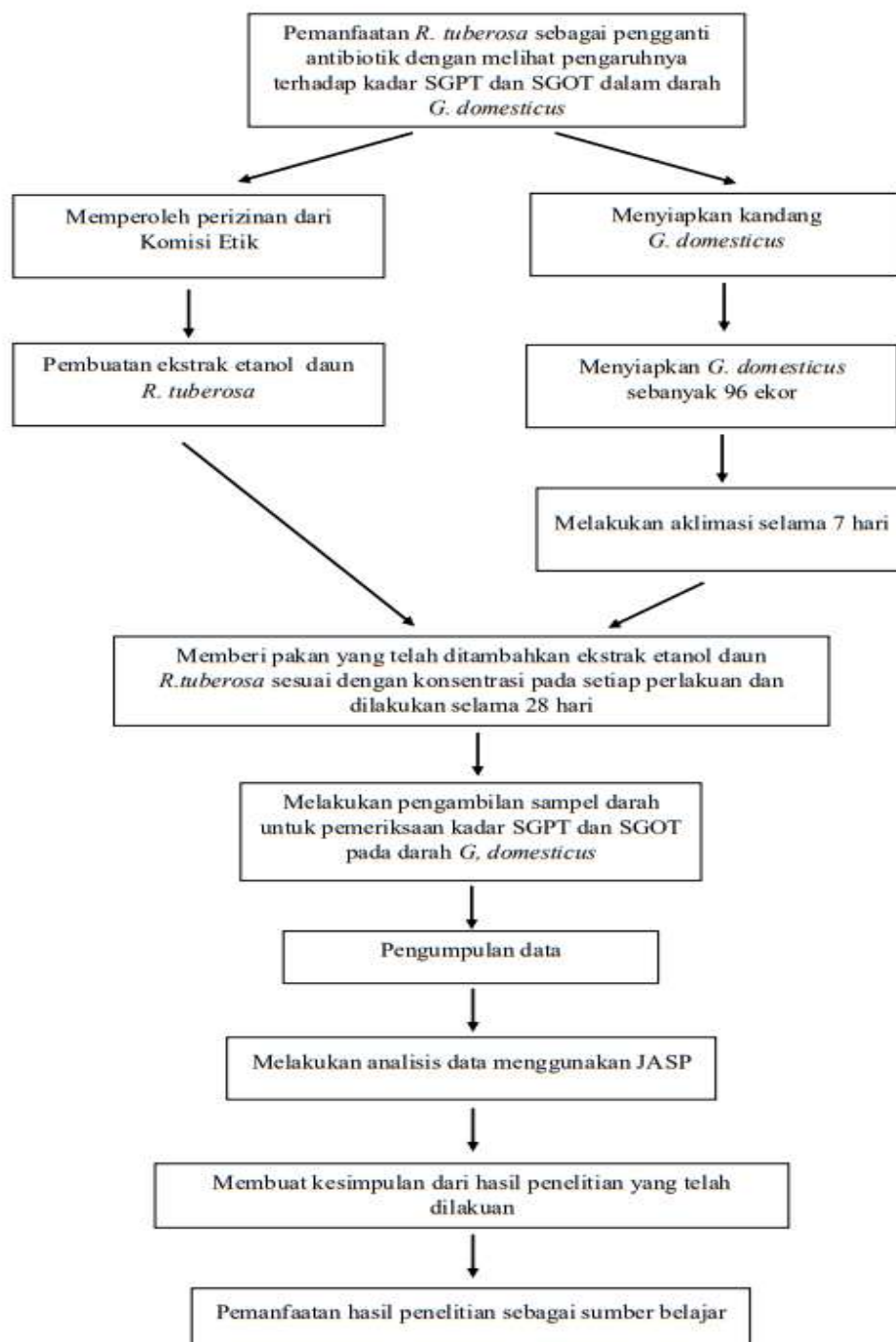
langsung dengan aktivitas SGPT dan SGOT. Selanjutnya akan diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 340 nm (Qomari et al., 2022).

Prosedur metode Kinetik-IFCC adalah darah diambil dan ditampung terlebih dahulu pada *vacutainer* yang berisi EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan. Selanjutnya melakukan *centrifuge* pada sampel darah dengan kecepatan 4000 rpm menggunakan alat *Rotofix 32* selama 5 menit untuk memperoleh serum. Kemudian serum dimasukkan dalam alat *Dimension RXL* merk *DD Behring* yang sudah dilakukan pemrograman untuk mengukur kadar SGOT dan SGPT dalam darah ayam. Prinsip pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT dapat menggunakan spektrofotometri (Candra, 2013).

### **3.8 Kerangka Kerja Penelitian**

Kerangka kerja yang dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.2.





Gambar 3.2 Kerangka Kerja Penelitian

### 3.9 Metode Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, pengumpulan data dilakukan melalui observasi secara langsung dan kemudian dicatat mengikuti prosedur yang telah dibuat. Observasi

pada *G. domesticus* yang diberi perlakuan berbeda dengan memberi beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun *R. tuberosa*. Setelah itu, kadar SGPT dan SGOT dalam darah dihitung di Laboratorium Riset dan Diagnostik Satwa Sehat Indonesia.

### 3.10 Teknik Analisis Data

Analisis data penelitian ini menggunakan *Jeffrey's Amazing Statistics Program* (JASP) untuk melakukan perhitungan. Demi memastikan bahwa data adalah homogen, maka uji normalitas dan homogenitas dilakukan. Normalitas data diuji dengan uji *Shapiro-Wilk*, dimana jika nilai  $p > 0,05$  maka data dapat dikatakan normal. Sedangkan untuk uji homogenitas diuji dengan uji *Levene test*, dimana jika nilai  $p > 0,05$  maka data dapat dikatakan memiliki kesamaan. Setelah data penelitian ditemukan terdistribusi secara normal dan homogen di setiap perlakuan, maka uji *One-Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan dari suatu percobaan. Jika data yang dihasilkan terdistribusi tidak normal dan homogen maka akan dilanjutkan pengujian dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, dimana apabila  $p > 0,05$  maka tidak terdapat perbedaan atau hipotesis diterima, namun jika  $p < 0,05$  maka terdapat perbedaan atau hipotesis ditolak. Jika hasil analisis tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka uji lanjutan tidak dilakukan.