

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April s/d Mei 2011. Bertempat di peternakan unggas Desa Pajaran Kecamatan Tumpang, Kabupaten Malang. Analisis kolesterol kuning telur dan indeks warna kuning telur dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian pengaruh pemberian tepung keong mas (*Pomacea canaliculata*) dan tepung paku air (*Azolla pinnata*) terfermentasi terhadap kadar kolesterol dan warna kuning telur ayam petelur strain Isa Brown periode *layer* ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan.

P0 : Tidak ada penambahan tepung *Azolla pinnata* terfermentasi dan tepung *Pomacea canaliculata* pada ransum (kontrol).

P1 : Penambahan 2,5% tepung *Azolla pinnata* terfermentasi + 10% tepung *Pomacea canaliculata* pada ransum.

P2 : Penambahan 5% tepung *Azolla pinnata* terfermentasi + 7,5% tepung *Pomacea canaliculata* pada ransum.

P3 : Penambahan 7,5% tepung *Azolla pinnata* terfermentasi + 5% tepung *Pomacea canaliculata* pada ransum.

P4 : Penambahan 10% tepung *Azolla pinnata* terfermentasi + 2,5% tepung *Pomacea canaliculata* pada ransum.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variabel bebas, 2) variabel terikat dan 3) variabel terkendali.

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kadar tepung *Pomacea canaliculata* tepung dan *Azolla pinnata* terfermentasi pada ransum.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol dan warna kuning telur.

3.3.3 Variabel Terkendali

Sedangkan variabel terkendali adalah jenis hewan coba dalam penelitian ini digunakan jenis ayam petelur Strain Isa Brown periode *layer* yang berumur 19 bulan.

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan adalah ayam petelur Strain Isa Brown periode *layer* yang berumur 19 bulan, dengan jumlah sampel yang digunakan adalah 20 ekor ayam

yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, setiap kelompok perlakuan terdiri atas 4 ekor ayam sebagai ulangan.

3.5 Instrumen Penelitian

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: kandang tipe baterai, tempak pakan dan minum, seperangkat alat untuk pembuatan ransum dan tepung *Azolla pinnata* dan *Pomacea canaliculata* yaitu oven, saringan 10 mesh, ember plastic, kompor, nampan penjemur, pengaduk, pencukil (sendok garpu), alat penggiling tepung, panci alumunium, sentrifuge, tabung reaksi, vortex, kuvet, spektrofotometri, inkubator dan timbangan analitik.

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan pembuatan tepung *Azolla pinnata* dan *Pomacea canaliculata* yaitu: paku air (*Azolla pinnata*), keong mas (*Pomacea canaliculata*), garam dapur dan air sumur. Ransum pakan terdiri atas jagung, bekatul, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung ikan, feed suplemen (*topmix*), rodalon, air minum, metanol, NaCl fisiologis (0.9%), dan kloroform.

3.6 Kegiatan Penelitian

3.6.1 Pembuatan Tepung

3.6.1.1 Pembuatan Tepung Paku Air (*Azolla pinnata*)

Cara kerja pembuatan tepung paku air (*Azolla pinnata*) adalah:

1. Disiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan
2. Paku air (*Azolla pinnata*) direndam dalam bak penampungan dan dicuci untuk menghilangkan lumpur yang menempel dan tumbuhan yg tidak digunakan.
3. Paku air (*Azolla pinnata*) yang sudah bersih ditiriskan dan dikeringkan (kering angin).
4. Paku air (*Azolla pinnata*) digiling sampai halus.

3.6.1.2 Pembuatan Tepung Paku Air Terfermentasi

Cara kerja pembuatan tepung paku air (*Azolla pinnata*) terfermentasi adalah (Handajani, 2007):

1. Disiapkan tepung *Azolla pinnata* sebanyak 1000 gram yang akan di fermentasi.
2. Dicampur tepung secara homogen dengan EM4 10% dari berat tepung.
3. Dimasukkan dalam kantong plastik.
4. Diletakkan pada suhu ruang dengan suhu 37⁰C di diamkan selama 7 hari.
5. Setelah 7 hari tepung *Azolla pinnata* diangkat dan dikering anginkan.

3.6.1.3 Pembuatan Tepung Keong Mas (*Pomacea canaliculata*)

Cara kerja pembuatan tepung keong mas (*Pomacea canaliculata*) adalah (BP2TP Sumatra Utara, 2006):

1. Disiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan.

2. Keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang masih hidup direndam dalam bak penampungan kemudian ditaburi garam 250 gram untuk mengurangi jumlah kotoran dan lendir dan menghilangkan toksin pada keong mas.
3. Diaduk selama 15 menit sehingga banyak lendir yang keluar.
4. Keong mas (*Pomacea canaliculata*) didiamkan selama 15 menit
5. Keong mas dicuci sampai bersih.
6. Direbus selama 20 menit (sampai air mendidih dengan suhu 60°C).
7. Keong ditiriskan dan dicungkil dagingnya.
8. Dijemur di bawah sinar matahari sampai kering
9. Daging digiling dengan alat penggiling tepung sampai halus
10. Tepung keong mas disimpan dan digunakan sebagai campuran ransum pada ayam petelur.

3.6.1.4 Cangkang Keong mas

Cara kerja pembuatan tepung cangkang keong mas (*Pomacea canaliculata*) adalah:

1. Cangkang keong mas dicuci dengan air dan dibersikan dari sisa-sisa tanah yang masih menempel
2. Dikeringkan dengan cara dijemur selama 2 hari.
3. Cangkang keong mas yang telah kering digiling halus dan disaring dengan menggunakan saringan 100 mesh.

3.6.2 Uji Mutu

Tepung keong mas (*Pomaceae canaliculata*) dan tepung paku air (*Azolla pinnata*) terfermentasi yang telah kering kemudian dilakukan uji proksimat untuk mengetahui kandungan nutrisi sebelum digunakan sebagai pakan.

3.6.3 Penyusunan Ransum

Penyusunan ransum yang terdiri dari jagung, bekatul, bungkil kedelai, topmix, di susun merata dan diberi tambahan tepung *Azolla pinnata* terfermentasi dan tepung *Pomacea canaliculata* sesuai konsentrasi pada perlakuan kemudian di uji proksimat. Penyusunan prosentase ransum sesuai dari analisis perhitungan dari Rasyaf (2007), ransum ayam petelur periode layer harus mengandung protein antara 17-19%, lemak 4-5%, serat kasar 3-4% dan energi metabolismis sebanyak 2800-2850 Kkal/kg.

3.6.4 Persiapan Kandang

Kandang dan peralatan kandang terlebih dahulu disemprot rodalon dan dibiarkan selama 3 hari sebelum digunakan.

3.6.5 Pemeliharaan Ternak

Pemeliharaan ayam sebelum sampai dilakukan pemberian perlakuan dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Dilakukan penimbangan bobot badan ayam.
2. Dimasukkan pada kandang baterei masing-masing satu ayam tiap kandang.
3. Diberi pakan standar 120 gram per ekor per hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Perlakuan ini dilakukan selama satu minggu sebelum diberi perlakuan.

4. Pemberian perlakuan selama 4 minggu. Ransum diberikan kurang lebih 134 gram per ekor per hari. Ayam diberi ransum tambahan paku air terfermentasi dengan kadar 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10% dan tepung keong mas dengan kadar 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10% dengan total substitusi 12,5%.
5. Air minum diberikan secara *ad-libitum* dan pakan diberikan dua kali dalam sehari yaitu pada pagi hari jam 07.00 dan sore hari jam 13.00

3.6.6 Analisis Kadar Kolesterol Pada Kuning Telur

Kolesterol kuning telur diperoleh dengan cara analisis kadar kadar kolesterol kuning telur di Lab Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

Adapun cara kerja pada uji kolesterol kuning telur adalah sebagai berikut:

1. Preparasi Sampel (Metode Folch *et al.*, 1957)
 - a. Sampel dihaluskan dengan mortal martil
 - b. Timbang sampel dengan teliti sebanyak 1 – 2 g
 - c. Homogenisasi sampel dengan pelarut kloroform : metanol = 2 : 1 sampai 10 ml, kemudian lakukan shaker dengan vortex pada suhu ruang selama 2 – 5 menit. Kemudian dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit, tambahkan ke dalam tabung sentrifuge 4 ml NaCl fisiologis (0,9%) lalu sentrifuge lagi selama 5 menit, larutan akan terbentuk 2 fase, ambil fase kloroform – lipid lalu lakukan evaporasi secara hati-hati
 - d. Ambil lipid yang diperoleh lalu larutkan dalam tween 60 sebanyak 1 ml, untuk dilakukan uji kolesterol total

2. Uji Kolesterol Total (Metode CHOD – PAP)

- a. prosedur sesuai dalam tabel berikut :

Pipet ke dalam tabung	Blangko	Sampel/Standar
Sampel/standar	-	10 μ l
Reagen	1000 μ l	1000 μ l

- b. Campur dan masukkan inkubator $20^\circ - 25^\circ$ C selama 20 menit atau pada 37° C selama 10 menit. Ukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan λ 500 nm dengan larutan blangko sebagai titik nolnya.

- c. Hitung kolesterol total dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kolesterol total (mg/dl)} =$$

$$\frac{\text{Absorbansi sampel} \times \text{Konsentrasi standar}}{\text{Abs standar} \times \text{massa bahan}} \times \text{faktor pengenceran}$$

Keterangan :

Absorbansi standar = 0,452

Konsentrasi kolesterol standar = 200 mg/dl

Faktor pengenceran = 10

3.6.7 Uji Kualitas Telur (Warna Kuning Telur)

Menurut Yahya (2001) warna kuning telur dapat dinilai dengan alat yang disebut *yolk colour fan* yang berbentuk kipas terdiri dari lempengan plastik berwarna yang diberi nomor 1 sampai 15. Warna tersebut berurutan mulai dari kuning pucat sampai kuning kemerahan. Dalam pengukuran tidak perlu dilakukan pemisahan antara putih telur dan kuning telur. Pengambilan sampel dilakukan pada akhir

penelitian dengan cara mengambil telur dari masing-masing perlakuan satu butir telur berurutan sesuai jumlah ulangan selama penelitian.

3.7 Pengambilan Data

Pengambilan data diambil pada akhir penelitian yang kemudian dianalisa kandungan kolesterolnya (mg/100g) pada setiap perlakuan dengan menggunakan metode CHOD – PAP dan untuk warna kuning telur menggunakan metode *Yolk Colour Fan*.

3.8 Analisis Data

Kadar kolesterol dan warna kuning telur ayam petelur strain Isa Brown dianalisis dengan menggunakan ANAVA yaitu anava tunggal untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung *Azolla pinnata* dan *Pomacea canaliculata*. Apabila F hitung \geq F tabel 0,05 maka dilanjutkan dengan uji BNT 0,05.