

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian tentang pengaruh *dipping* puting sapi perah yang terindikasi mastitis subklinis dengan rebusan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dan pH susu di laksanakan pada tanggal 25 Maret – 25 April 2015. Pelaksanaan penelitian dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Mulyorejo Tenganan, Kabupaten Semarang.

#### 3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 ekor sapi perah yang dipilih berdasarkan uji CMT dengan skor ++ dan +++ pada setiap puting sapi. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 botol sampel ukuran 150 ml untuk wadah sampel susu, botol kaca untuk larutan *dipping*, kertas pH dengan (McolorpHast) untuk mengukur pH susu, reagen CMT dengan (Bovi-Met), *paddle* CMT, botol *dipping*, *coolbox*, *ice gel*, alkohol 70% (One-Med), tissue, iodine povidon 10% (merk Kimia Farma) dan rebusan daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

#### 3.2. Metode

Penelitian ini dilakukan melalui 2 tahap yaitu tahap persiapan dan tahap perlakuan. Tahap persiapan dilakukan sebelum perlakuan dimulai yaitu pada hari ke-0 (H0) dan perakuan dilakukan selama 28 hari (H28).

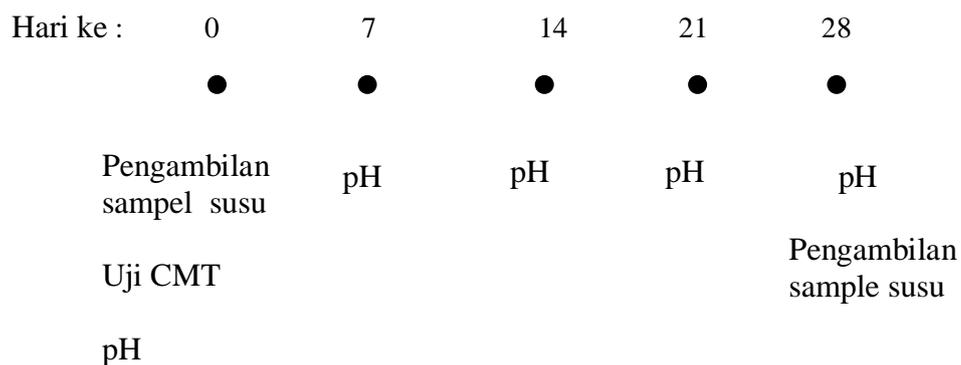
### 3.2.1. Periode persiapan

Persiapan bahan *dipping* rebusan daun kersen, Sebelum dilakukan proses perebusan daun kersen dikeringkan terlebih dahulu di dalam oven selama 24 jam pada suhu 40<sup>0</sup> C. kemudian daun yang sudah kering direbus selama 15 menit sampai mendidih kemudian disaring dan di masukkan ke dalam botol *dipping*. Perbandingan rebusan daun kersen konsentrasi 20% = 200 g daun + 800 ml aquades, konsentrasi 30% = 300 g daun + 700 ml aquades, dan konsentrasi 40% = 400 g daun + 600 ml aquades. Setelah rebusan dingin dapat digunakan untuk proses *dipping*.

### 3.2.2. Periode pelaksanaan penelitian

Penelitian dilakukan selama 4 minggu, pada hari sebelum perlakuan (H-0) dilakukan uji *California Mastitis Test* (CMT) hasil uji CMT dapat dilihat pada Lampiran 1. Uji jumlah *Stahpylococcus aureus* dilakukan pada hari sebelum perlakuan (H-0) dan hari terakhir (H-28) untuk mengetahui perubahan setelah perlakuan dilakukan. Hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 melakukan pengukuran pH susu dan perhitungan total koloni *Stahpylococcus aureus* analisis dilakukan di Balai Kesehatan Masyarakat Veteriner Boyolali dan proses *dipping* dilakukan setiap hari setelah proses pemerahan pagi dan sore. Pada tahap perlakuan, sebelum dilakukan pemerahan tempat pemerahan di sanitasi sampai bersih. Kemudian setelah selesai sanitasi puting dicuci dengan air hangat menggunakan *tissue* sampai bersih. Kemudian dilakukan pemerahan dengan menggunakan tangan, sebelum pemerahan tangan disemprot menggunakan alkohol 70%. Setelah

pemerahan tuntas, dilakukan *dipping* puting dengan rebusan daun kersen sesuai perlakuan dan iodine povidon sebagai kontrol. Pengambilan data dilakukan pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28. Pengambilan sampel susu sebanyak 150 ml dari hasil pemerahan pagi sesuai perlakuan. Susu sebanyak 150 ml dimasukkan kedalam botol sampel yang sudah disterilkan dan dimasukkan ke dalam *ice box* yang sudah diberikan *ice gel* sebagai pendingin. Susu yang telah dimasukkan ke dalam *ice box* kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan uji jumlah koloni *Stahpylococcus aureus*. Alur tahap penelitian digambarkan pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Desain Perlakuan *Dipping*, Uji *California Mastitis Test* (CMT), dan *Stahpylococcus aureus* pada Susu

Parameter yang di amati antara lain uji CMT, jumlah koloni *Stahpylococcus aureus*, dan pH susu.

**3.2.2.1. Proses pengujian CMT.** Uji *California Mastitis Test* (CMT) dilakukan untuk mengetahui sapi mastitis subklinis dengan skor ++ dan +++, sebelum susu diperah pada pemerahan pagi hari. Langkah pengujian CMT adalah sebagai berikut:

- a) Puting dibersihkan dengan menggunakan kapas yang dibasahi alkohol 70%. Kemudian dikeringkan dengan menggunakan kapas.
- b) Susu curahan pertama dibuang kemudian susu curahan kedua diteteskan sebanyak 2 ml ke dalam *paddle*
- c) Sebanyak 2 ml cairan reagen CMT (Bovimet) ditambahkan dan digoyang selama 10 detik. Perubahan diamati sejak reagen dicampurkan ke dalam susu, untuk mengetahui jumlah skor CMT.

**3.2.2.2. Prosedur perhitungan total koloni *Staphylococcus aureus*.** Pengujian jumlah *Staphylococcus aureus* menggunakan media selektif dengan metode cawan hitung *Total plate count* (TPC) langkah kerjanya sebagai berikut : menuangkan *Baird Parker Agar* (BPA) ke dalam cawan petri steril tunggu membeku. Mengambil susu secara aseptik sebanyak 25 ml, di tambahkan aquades steril sebanyak 225 ml ke dalam erlenmeyer kemudian dihomogenkan selama 2 menit untuk pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian ambil 1 ml susu dengan pipet dan dimasukkan aquades steril pada tabung 20 ml untuk pengenceran  $10^{-2}$  dihomogenkan. Pengenceran  $10^{-3}$  dengan mengambil 1 ml susu dari pengenceran  $10^{-2}$  ke dalam 9 ml larutan aquades steril sampai pengenceran  $10^{-4}$ . Setelah pengenceran selesai, pindahkan susu yang sudah diencerkan 1 ml kedalam 2 cawan masing masing (0,5 ml, 0,5 ml) yang sudah berisi media *Baird Parker Agar*. Kemudian inokulum diratakan menggunakan batang gelas bengkok pada permukaan agar dan biarkan inokulum sampai terserap ke media sekitar 10 menit, setelah itu cawan dimasukkan ke dalam inkubator dengan cara cawan dibalik dan diinkubasi selama 45 - 48 jam pada suhu  $35^{\circ}$  C. Setelah proses inkubasi,

menghitung koloni *Staphylococcus aureus* pada *Baird Parker Agar*. Rumus perhitungan jumlah koloni dicantumkan pada rumus 1 dan 2.

$$\text{Jumlah koloni CFU/ml} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}} \dots\dots\dots(1)$$

Persentase penurunan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* (%)

$$= \frac{\text{Jumlah awal} - \text{jumlah akhir}}{\text{Jumlah awal}} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

**3.2.2.3. Prosedur uji pH susu.** Pengukuran pH dilakukan menggunakan kertas pH universal dengan cara kertas pH dicelupkan pada susu perlakuan yang sudah di homogenkan selama 10 detik kemudian dilihat perubahan warna pada kertas pH universal.

### 3.3. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) 4 perlakuan dan 4 ulangan sesuai petunjuk Gasper (1991). Perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut :

- T0 : Sebagai kontrol positif *dipping* menggunakan iodine povidon
- T1 : *Dipping* menggunakan rebusan daun kersen 20%
- T2 : *Dipping* menggunakan rebusan daun kersen 30%
- T3 : *Dipping* menggunakan rebusan daun kersen 40%

### 3.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dan jika terjadi perbedaan dilanjutkan dengan uji Duncan (Gasperz, 1991). Data statistik Penurunan Jumlah koloni *Stahpylococcus aureus* dan pH susu diolah dengan analisis ragam berikut dengan model linear sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = nilai pengamatan pada 4 ulangan, pengaruh utama 4 perlakuan

$i$  = jumlah perlakuan (4 macam)

$j$  = jumlah ulangan (tiap perlakuan terdiri dari 4 ulangan/sapi)

$\mu$  = nilai rata-rata umum perlakuan

$\alpha$  = pengaruh perlakuan (4 macam)

$\varepsilon_{ij}$  = pengaruh galat dari 4 perlakuan (T0, T1, T2, dan T3) dan 4 ulangan/sapi.

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis ragam dengan uji F pada taraf 5%.

Kaidah penarikan hasil adalah sebagai berikut :

Jika  $F_{hitung} < F_{tabel}$ , (taraf 5%) maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

Jika  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , (taraf 5%) maka  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak