

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian tentang pengaruh penambahan bentonit pada proses *Pelleting* terhadap total bakteri dan total fungi pada *Pellet* limbah penetasan dilaksanakan pada bulan Maret – Juni 2015 di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang. Analisis total bakteri dan total fungi di SMK Theresiana, Semarang.

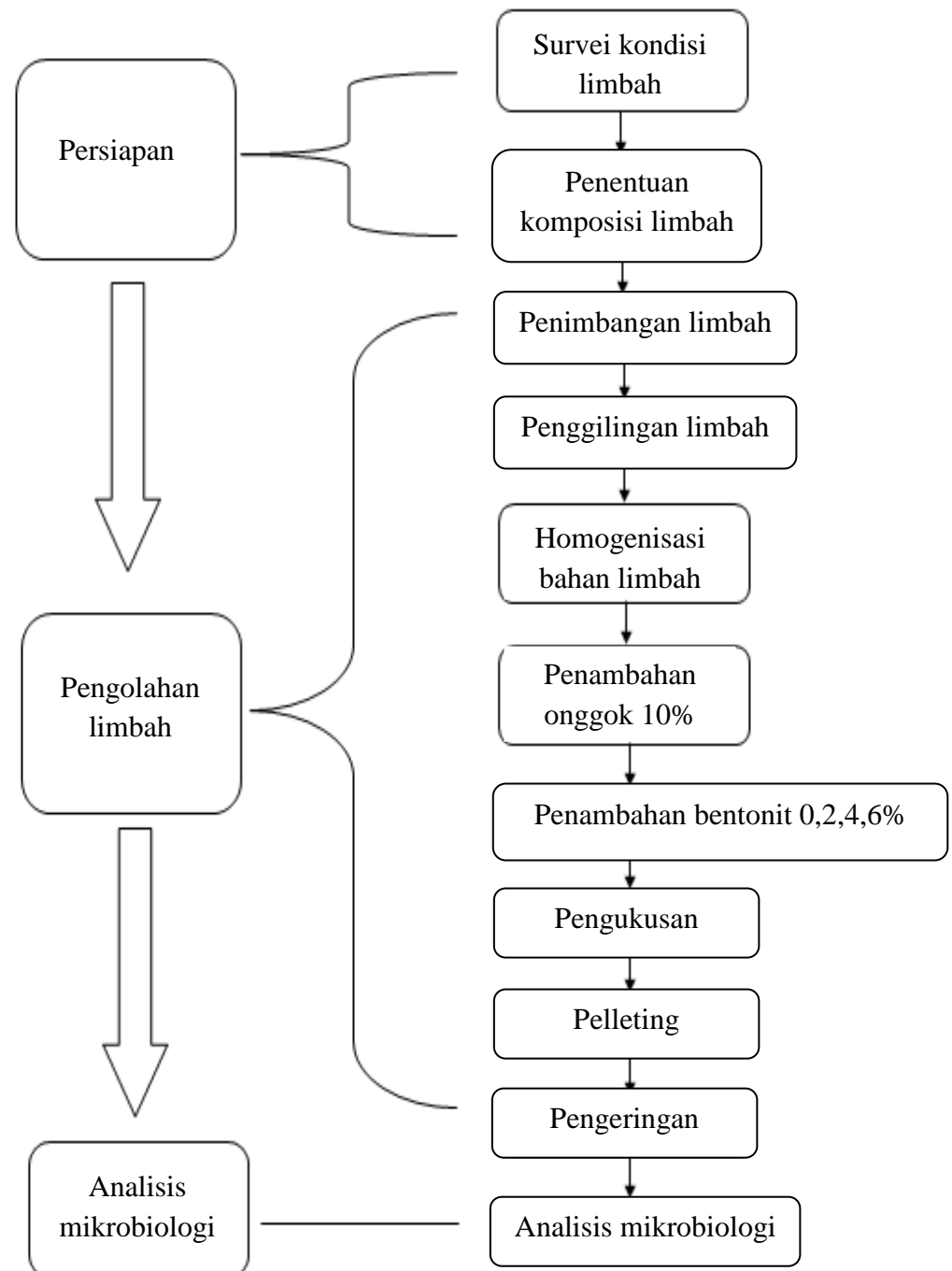
#### **3.1. Materi**

Materi dalam penelitian ini berupa limbah penetasan ayam dengan komposisi cangkang telur, telur gagal menetas, telur busuk dan DOC afkir, bentonit sebagai adsorben, onggok sebagai *filler*, NaCl 0,85% sebagai pengencer dalam penghitungan total bakteri dan total fungi, medium *Nutrient Agar* (NA) untuk menghitung total bakteri, serta medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) untuk menghitung total fungi. Alat yang digunakan adalah ember dan plastik untuk menampung limbah, blender untuk menghaluskan limbah, mesin pengering untuk mengeringkan bahan, *Pelleter*, peralatan analisis bakteri dan fungi (tabung reaksi, cawan petri, pipet ukur, pembakar bunsen, *spinball*, inkubator).

#### **3.2. Metode**

Penelitian tentang pengaruh penambahan bentonit pada proses *Pelleting* limbah penetasan terhadap total bakteri dan total fungi sebagai bahan pakan

alternatif dibagi menjadi 3 yaitu tahap persiapan, tahap pengolahan, dan tahap analisis. Alur pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Alur Pelaksanaan Penelitian

### 3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan terdiri dari survei kondisi limbah di PT. Setia Terang Bersinar dengan mencari data jumlah telur masuk, jumlah telur infertil pada saat *candling* jumlah telur yang masuk pada mesin *hatcher*, jumlah telur menetas, jumlah telur gagal menetas dan DOC afkir.

### 3.2.2. Tahap pengolahan

Tahap kedua adalah pengolahan limbah. Proses diawali dengan memisahkan masing-masing komponen limbah. Komposisi limbah yang akan digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Limbah Penetasan

Jenis Limbah	Persentase limbah ------(%)-----
Cangkang telur	28,9
Telur gagal menetas	44,32
Telur busuk	18,40
DOC afkir	8,38

Limbah penetasan dihancurkan sesuai dengan jenis limbah dengan menggunakan blender. Limbah penetasan yang sudah halus dihomogenkan sesuai dengan persentase. kemudian *filler* berupa ongkok ditambahkan sebesar 10% dari total berat limbah yang diolah (1 kg/perlakuan) dan dicampur hingga rata. Bentonit ditambahkan ke dalam perlakuan dengan aras 0, 2, 4 dan 6% (berat/berat). Limbah penetasan yang telah homogen dengan bentonit dan ongkok, kemudian dikukus selama 15 menit dengan suhu 70-80 °C. Proses pengolahan

dilanjutkan dengan pencetakan bahan dengan diameter 5 mm dengan panjang 2 cm, kemudian dikeringkan dengan menggunakan udara panas 40 °C sampai kadar air mencapai 10-15%.

### **3.2.3. Tahap analisis**

Analisis mikrobiologi meliputi total bakteri dan total fungi pada hasil olahan limbah. Analisis total bakteri dan total fungi dilakukan sebelum proses pemberian *filler* (limbah penetasan sebelum diolah) dan setelah menjadi *Pellet*. Analisis dilakukan dengan data pendukung berupa kadar air. Metode penghitungan total bakteri dilakukan dengan metode *Standard Plate Count* (Fardiaz, 1993).

**3.2.3.1. Analisis total bakteri** Penghitungan dilakukan dengan melakukan pengenceran bahan. Tabung reaksi steril sebanyak 4 buah disiapkan dan diberi tanda  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ . dimasukkan 9 cc NaCl 0,85% secara aseptis. Sampel sebanyak 1 g ditimbang secara aseptis dan dimasukkan dalam tabung  $10^{-1}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 10x), dari tabung  $10^{-1}$  diambil 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung  $10^{-2}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 100x), dari tabung  $10^{-2}$  diambil 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung  $10^{-3}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 1.000x) dan dari tabung  $10^{-3}$  diambil 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung  $10^{-4}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 10.000x). Cawan petri steril sebanyak 4 buah disiapkan, masing masing pengenceran diambil 0,1 cc dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Nutrient Agar cair (suhu 40-42 °C) sebanyak 15 cc dituangkan ke dalam masing-masing cawan

petri kemudian dihomogenkan dan dibiarkan sampai membeku. Setelah membeku, dilakukan inkubasi media dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian dihitung dengan menggunakan rumus *standart plate count* (SPC)

$$\text{Jumlah koloni (cfu/g)} = \frac{\text{jumlah koloni} \times 1}{\text{volume ditanam}} \times \text{pengenceran}$$

**3.2.3.2. Analisis total fungi** Penghitungan dilakukan dengan melakukan pengenceran bahan. Tabung reaksi steril sebanyak 4 buah disiapkan dan diberi tanda  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ . dimasukkan 9 cc NaCl 0,85% secara aseptis. Sampel sebanyak 1 g ditimbang secara aseptis dan dimasukkan dalam tabung  $10^{-1}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 10x), dari tabung  $10^{-1}$  diambil 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung  $10^{-2}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 100x), dari tabung  $10^{-2}$  diambil 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung  $10^{-3}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 1.000x) dan dari tabung  $10^{-3}$  diambil 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung  $10^{-4}$  dan dikocok sampai homogen (pengenceran 10.000x). Cawan petri steril sebanyak 4 buah disiapkan, masing masing pengenceran diambil 0,1 cc dan dimasukkan ke dalam cawan petri. *Sabouraud Dextrose Agar* cair (suhu 40-42 °C) sebanyak 15 cc dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri kemudian dihomogenkan dan dibiarkan sampai membeku. Setelah membeku, dilakukan inkubasi media dalam inkubator pada suhu 37 °C selama selama 3-5 hari. Kemudian dihitung dengan menggunakan rumus *standart plate count* (SPC)

$$\text{Jumlah koloni (cfu/g)} = \frac{\text{jumlah koloni} \times 1}{\text{volume ditanam}} \times \text{pengenceran}$$

### 3.3. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri 4 perlakuan dan 5 ulangan. Tiap ulangan menggunakan 1 kg limbah penetasan. Perlakuan yang dilakukan, yaitu :

T0 : 1 kg limbah penetasan + 0% bentonit

T1 : 1 kg limbah penetasan + 2% bentonit

T2 : 1 kg limbah penetasan + 4% bentonit

T3 : 1 kg limbah penetasan + 6% bentonit

Data dianalisis dengan analisis ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan, dan apabila terdapat pengaruh sangat nyata perlakuan dilakukan uji Wilayah Ganda Duncan dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1991).

Model linear yang digunakan berdasarkan rancangan acak lengkap dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

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

Keterangan :

$Y_{ij}$  : Total bakteri dan fungi ke-j dalam olahan limbah penetasan yang memperoleh perlakuan pemberian tepung bentonit ke-i

$\mu$  : Nilai tengah umum (rata – rata populasi) total bakteri dan fungi dalam olahan limbah penetasan

$\tau_i$  : Pengaruh aditif dari perlakuan pemberian tepung bentonit pada olahan limbah penetasan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  : Pengaruh galat percobaan pada total bakteri dan fungi ke-j yang memperoleh perlakuan pemberian tepung bentonit pada produk *Pellet* olahan limbah penetasan ke-i

Hipotesis yang diajukan adalah :

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat pengaruh perlakuan terhadap total bakteri dan total fungi pada produk *Pellet* olahan limbah penetasan

H<sub>1</sub> : Terdapat pengaruh perlakuan terhadap total bakteri dan total fungi pada produk *Pellet* olahan limbah penetasan

Kriteria pengujian yang dilakukan :

F hitung < F tabel, maka H<sub>0</sub> diterima, tidak terdapat pengaruh penambahan bentonit pada proses *Pelleting* terhadap total bakteri dan total fungi pada produk *Pellet* limbah penetasan.

F hitung ≥ F tabel, maka H<sub>1</sub> diterima, penambahan bentonit pada proses *Pelleting* menekan total bakteri dan total fungi pada produk *Pellet* limbah penetasan.