

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Berbagai Lama Waktu *Dipping* Menggunakan Larutan Formalin sebagai Desinfektan terhadap Total Bakteri dan pH Susu Sapi Perah” telah dilaksanakan selama 1 bulan dari tanggal 15 September sampai dengan 12 Oktober 2014. Kegiatan penelitian ini bertempat di UPTD Pembibitan Ternak Unggul Mulyorejo Desa Barukan, Kecamatan Tenganan, Kabupaten Semarang.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan terdiri atas susu segar dari 24 ekor sampel sapi perah pada kondisi kandang yang sama, larutan formalin 0,7%, alkohol 70%, dan aquades yang digunakan untuk pengenceran. Peralatan yang digunakan antara lain 3M™ Petrifilm™ *Aerobic Count Plates*® sebagai media tumbuh bakteri, botol kaca untuk tempat sampel susu segar, *dry es box* untuk tempat menyimpan susu dalam botol dengan es batu, tabung reaksi beserta rak sebagai tempat pengenceran, pipet untuk mengambil bahan pengencer dan susu segar, takaran susu kapasitas 100 ml untuk mengukur volume sampel susu dan pengencer formalin, inkubator sebagai tempat inkubasi petrifilm yang sudah ditetesi 1 ml susu yang telah diencerkan (inokulum), pH meter RoHs® dengan ketelitian 0,1 untuk mengukur pH susu.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Perlakuan

Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan dan masing-masing 6 ulangan.

Perlakuan dibedakan berdasarkan lama waktu *dipping* yang berbeda, yakni :

T0 : perlakuan tanpa *dipping*

T1 : perlakuan *dipping* formalin 0,7% selama 5 detik

T2 : perlakuan *dipping* formalin 0,7% selama 10 detik

T3 : perlakuan *dipping* formalin 0,7% selama 15 detik

Perhitungan batas aman penggunaan formalin sebagai desinfektan untuk *dipping* puting susu, sebagai berikut :

- Diketahui :
- Konsentrasi formalin : 0,7%
 - Volume larutan *dipping* : 20 ml/puting
 - BJ formalin : 1,081
 - Larutan *dipping* yg tertinggal di puting sekitar 3 ml
 - Batas ambang formalin : **0,2 mg** menurut BPOM (2011)

Perhitungan formalin yang dimungkinkan tertinggal di puting :

$$0,7 / 100 \times 3 \text{ ml} = 0,021 \text{ ml (dalam ml)}$$

$$W \text{ (berat formalin)} = 1,081 \text{ mg/ml} \times 0,021 \text{ ml}$$

$$= \mathbf{0,0227 \text{ mg/puting}} \text{ (masih dalam batas aman)}$$

Denah percobaan disusun secara acak sebagai berikut :

T1U4	T2U5	T0U4	T2U6	T3U3	T1U6
T3U5	T0U2	T2U2	T3U4	T0U5	T2U4
T2U3	T3U1	T3U2	T0U3	T2U1	T0U5
T0U1	T1U2	T1U3	T1U1	T1U5	T3U6

3.2.2. Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 4 x 6 sesuai petunjuk Srigandono (1987) dengan model matematis sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} ; \quad i = (1, 2, 3, 4) \dots\dots\dots (1)$$

$$j = (1, 2, 3, 4, 5, 6)$$

Keterangan :

- Y_{ij} = nilai pengamatan total bakteri dan pH susu ke-j yang memperoleh perlakuan waktu *dipping* ke-i ; $i = (1, 2, 3, 4)$ dan $j = (1, 2, 3, 4, 5, 6)$
- μ = Nilai tengah umum total bakteri dan pH susu
- α_i = pengaruh lama waktu *dipping* ke-i terhadap Total Bakteri dan pH susu
- γ_{ij} = pengaruh galat percobaan pada total bakteri dan pH susu ke-j yang memperoleh perlakuan waktu *dipping* ke-i

Data yang diperoleh, diuji dengan *analysis of variance* (ANOVA), yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hipotesis statistik yang dapat disampaikan, sebagai berikut :

- H_0 : $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = 0$ (yang berarti tidak ada pengaruh waktu *dipping* terhadap total bakteri dan pH susu)
- H_1 : minimal ada satu $T_i \neq 0$ ($i = 1, 2, 3, 4$), (minimal ada satu perlakuan waktu *dipping* yang berpengaruh terhadap total bakteri dan pH susu)

3.2.3. Prosedur penelitian

3.2.3.1. Tahap pendahuluan. Kegiatan pada tahap pendahuluan meliputi pemilihan 24 ekor sapi laktasi dengan cara melihat rekording dan menanyakan langsung kepada pemilik peternakan mengenai data sapi. Pemilihan sapi

berdasarkan pada bobot badan, produksi susu dan bulan laktasi (Lampiran 1.). Sapi yang digunakan memiliki bulan laktasi 2 dan 3, bobot badan rata-rata 394,21 ± 19,95 kg; CV = 5,03% (Lampiran 2.) serta rata-rata produksi susu perhari 9,41 ± 1,44 liter; CV = 14,72% (Lampiran 3.). Selanjutnya dilakukan penandaan sapi sesuai dengan perlakuan yang dikenakan. Persiapan alat yang hendak digunakan untuk menguji pH (pH meter) dan total bakteri (petrifilm, botol kaca, *dry es box*, tabung raksi dan rak, serta pipet). Pembuatan larutan formalin dengan konsentrasi 0,7% dengan rumus sebagai berikut :

$$V1 \times N1 = V2 \times N2 \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan :

V1 : volume formalin yang tersedia (ml)

N1 : konsentrasi formalin yang tersedia (%)

V2 : volume formalin setelah pengenceran (ml)

N2 : konsentrasi formalin yang dikehendaki (%)

Perhitungan pengenceran formalin yang digunakan sebagai larutan *dipping* dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.2.3.2.Tahap perlakuan. Tahap perlakuan yaitu T0 dilakukan tanpa *dipping*, kemudian perlakuan T1, T2 dan T3 dilakukan *dipping* menggunakan larutan formalin pada puting dengan waktu yang berbeda-beda yaitu 5 detik,10 detik dan 15 detik pada masing-masing sapi dilakukan setelah 5 menit pasca pemerahan sore hari. Perlakuan dilakukan dengan ulangan masing-masing 6 kali.

Penelitian dilakukan selama 9 hari, 3 hari prelium, 3 hari perlakuan beserta pengambilan data dan 3 hari analisis *total plate count* (TPC). Pada tahap

perlakuan sebelum dilakukan pemerahan sapi dibersihkan terlebih dahulu, kemudian ambung dan puting dicuci terlebih dahulu menggunakan air hangat dengan lap dan dikeringkan sambil dilakukan *massage*, kemudian susu dipancarkan dan dilakukan pemerahan. Setelah 5 menit pemerahan selesai kemudian puting *didipping* sesuai dengan perlakuan yang dikenakan dan setelah perlakuan *dipping* sapi dijaga 30 menit tidak *laying*. Perlakuan *dipping* puting sapi tersebut dilakukan pada pemerahan sore hari dengan pengambilan sampel susu segar pada pagi hari, begitupun pada pengambilan sampel perlakuan tanpa *dipping*.

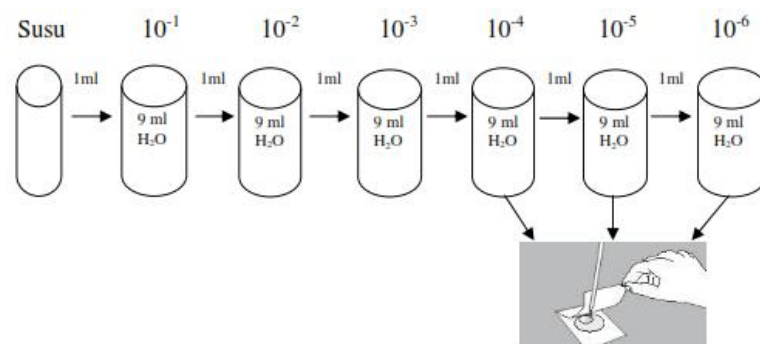
3.2.4. Pengukuran parameter

Parameter penelitian yang diamati meliputi total bakteri dan pH susu.

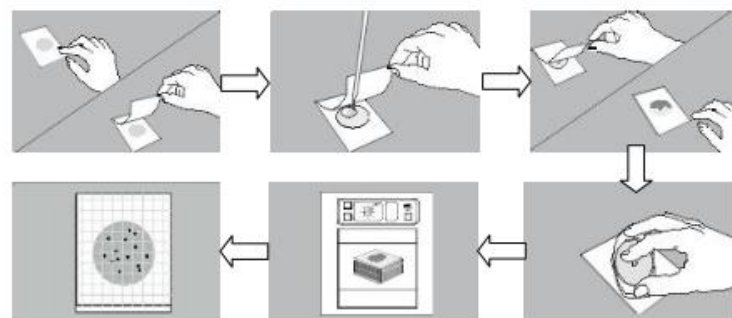
3.2.4.1. Total bakteri susu. Pengukuran jumlah total bakteri menggunakan metode hitungan cawan (TPC). Prinsipnya yaitu 1 ml sampel yang telah diencerkan ditumbuhkan pada media petrifilm maka akan berkembangbiak membentuk koloni yang tampak mata. Jumlah bakteri susu dihitung dari hasil pemerahan pagi (*dipping* sore) sebanyak 1% dari produksi total dan diambil menggunakan takaran susu dimasukkan ke dalam botol kaca dari masing-masing perlakuan. Pengukuran jumlah bakteri menggunakan 3M™ Petrifilm™ *Aerobic Count Plates*® sebagai berikut : sampel susu segar diencerkan dengan cara menyiapkan 6 tabung reaksi yang sudah diisi larutan aquades sebanyak 9 ml. Satu ml susu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang pertama, diaduk dan kemudian diambil kembali 1 ml untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang ke-2,

selanjutnya diaduk kembali dan diambil 1 ml untuk dimasukkan ke tabung reaksi ke-3, begitu seterusnya hingga tabung reaksi yang ke-6. Petrifilm ditempatkan pada permukaan yang rata, kemudian tutupnya diangkat. Satu ml inokulum yang sudah diencerkan sesuai tingkat pengenceran yang dikehendaki diteteskan pada tengah petrifilm. Petrifilm yang telah diisi inokulum ditutup dengan hati-hati supaya tidak terbentuk gelembung udara di dalamnya. Inokulum diratakan dalam petrifilm dengan menggunakan *spreader*. Petrifilm dimasukkan ke dalam inkubator dengan bagian muka di atas (boleh ditumpuk tetapi tidak boleh lebih dari 20 lembar). Inkubasi dilakukan selama 48 jam dengan suhu 37° C. Metode pengenceran dan aplikasi petrifilm disajikan di Ilustrasi 2. :

Pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6}



Prosedur Penghitungan Total Bakteri Susu Menggunakan Petrifilm



Ilustrasi 2. Prosedur Pengenceran Sampel Susu dan Penghitungan Total Bakteri Susu Menggunakan Petrifilm.

Koloni dihitung dengan standar perhitungan yaitu *standart plate count* (SPC) dan memperhatikan tingkat pengenceranya. Rumus penghitungan total bakteri sebagai berikut :

$$\text{Koloni per ml} = \text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengencer}} \dots\dots\dots (3)$$

Setelah didapatkan hasil koloni, dilakukan perhitungan perbandingan antara masing-masing perlakuan menggunakan rumus perhitungan persentase penurunan jumlah bakteri :

$$\text{Persentase penurunan (\%)} = \frac{\text{Rataan Total Bakteri 1} - \text{Rataan Total Bakteri 2}}{\text{Rataan Total Bakteri 1}} \dots (4)$$

3.2.4.2. pH susu. Pengukuran pH susu dilakukan juga pada pemerahan pagi hari akibat *dipping* sore. Sampel susu diambil dari masing-masing perlakuan sebanyak 50 ml dari jumlah seluruhnya menggunakan takaran susu. Susu disiapkan lalu tangkai pengukur pH meter dicelupkan ke dalam susu dan ditunggu sampai angka berhenti dan bisa dibaca. Hasil pH yang didapat kemudian dibandingkan antar perlakuan dan dihitung persentase kenaikannya. Berikut rumus perhitungan persentase kenaikan nilai pH :

$$\text{Persentase kenaikan (\%)} = \frac{\text{Rataan Nilai pH 2} - \text{Rataan Nilai pH 1}}{\text{Rataan Nilai pH 1}} \dots\dots\dots (5)$$