

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Maret 2017 dan pengolahan data dilakukan pada bulan Maret hingga April 2017.

3.1. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian marinasi yaitu daging itik afkir yang berusia ± 2 tahun yang diperoleh di RPU (Rumah Pemotongan Umum) Pasar Penggaron Semarang, serai dapur dengan ukuran ± 30 cm yang diperoleh di Pasar Banyumanik, *Brilliance Agar* (BA), *MacConkey Agar* (MCA), *Potato Count Agar* (PCA), NaCl fisiologis dan aquades.

Peralatan yang digunakan dalam percobaan pembuatan marinasi serai dapur terhadap daging itik adalah a_w meter Novasina MS 1, blender, *autoclave*, mortar, baskom, rak dan tabung reaksi, cawan petri, mikropipet, tip mikropipet, erlenmeyer, bunsen, aluminium foil, kapas, penangas air, *beaker glass*, timbangan analitik, inkubator, dan laminar.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari rancangan penelitian, prosedur penelitian, pengujian parameter dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi konsentrasi marinasi jus serai dapur yang berbeda dalam waktu yang sama. Konsentrasi jus serai dapur yang digunakan 0% (tanpa perlakuan), 6%, 9%, 12% dan 15% dari berat daging itik dimana masing - masing perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali ulangan. Rancangan yang digunakan memiliki unit percobaan 20, yang terdiri atas T0 sebanyak 4 ulangan yaitu T0U1, T0U2, T0U3 dan T0U4. T1 sebanyak 4 ulangan yaitu T1U1, T1U2, T1U3, dan T1U4. T2 sebanyak 4 ulangan yaitu T2U1, T2U2, T2U3 dan T2U4. T3 sebanyak 4 ulangan yaitu T3U1, T3U2, T3U3 dan T3U4. T4 sebanyak 4 ulangan yaitu T4U1, T4U2, T4U3 dan T4U4.

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

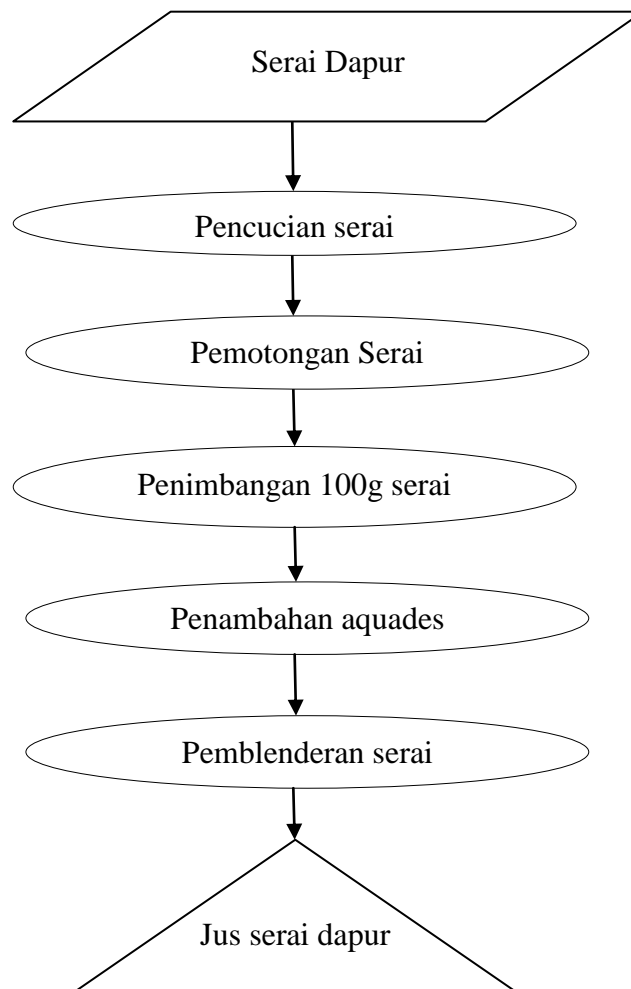
H0 : Tidak terdapat perbedaan antara daging itik yang dimarinasi dengan jus serai dapur dan yang tidak dimarinasi dengan jus serai dapur

H1 : Terdapat perbedaan minimal satu dari daging itik yang dimarinasi dengan jus serai dapur dan yang tidak dimarinasi dengan jus serai dapur.

3.2.2. Prosedur Penelitian

3.2.2.1. Pembuatan Jus Serai Dapur. Pembuatan *marinade* serai dapur dengan menggunakan serai dapur yang dihaluskan. Proses pembuatan *marinade* pada penelitian ini dilakukan dengan pencucian serai yang akan digunakan kemudian serai dipotong – potong menjadi ukuran yang lebih kecil. Serai yang sudah

dipotong ditimbang sebanyak 100 gram dan ditambahkan aquades, selanjutnya dimasukkan kedalam blender. Perbandingan antara berat serai dan banyaknya air yang ditambahkan adalah 1 : 2. Diagram alir proses pembuatan jus serai dapur dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Jus Serai Dapur.

3.2.2.2. Marinasi Daging Itik. Daging itik yang digunakan untuk marinasi adalah daging itik yang sudah di *fillet*. Daging kemudian dicuci bersih dan ditimbang masing – masing seberat 25 gram. Daging itik yang sudah ditimbang dicampurkan dengan *marinade* serai dapur sesuai dengan konsentrasi yang sudah ditentukan yaitu 0% (tanpa perlakuan) serta 6%, 9%, 12% dan 15% dari berat daging itik.

Bahan *marinade* dibalurkan pada daging itik dengan menggunakan tangan yang sudah dikenakan sarung tangan plastik, dipastikan seluruh daging itik sudah tercampur merata dengan jus serai dapur. Daging itik yang sudah dimarinasi selanjutnya ditempatkan dalam wadah gelas plastik yang sudah dibersihkan. Daging itik diistirahatkan selama 6 jam pada suhu ruang dan ditutup dengan plastik *wrap* untuk meminimalisir kontaminasi bakteri. Setelah dilakukan marinasi dilanjutkan dengan uji untuk mengetahui pertumbuhan bakteri dan aktivitas air yang terjadi pada daging itik. Diagram alir marinasi daging itik dapat dilihat pada Ilustrasi 2.

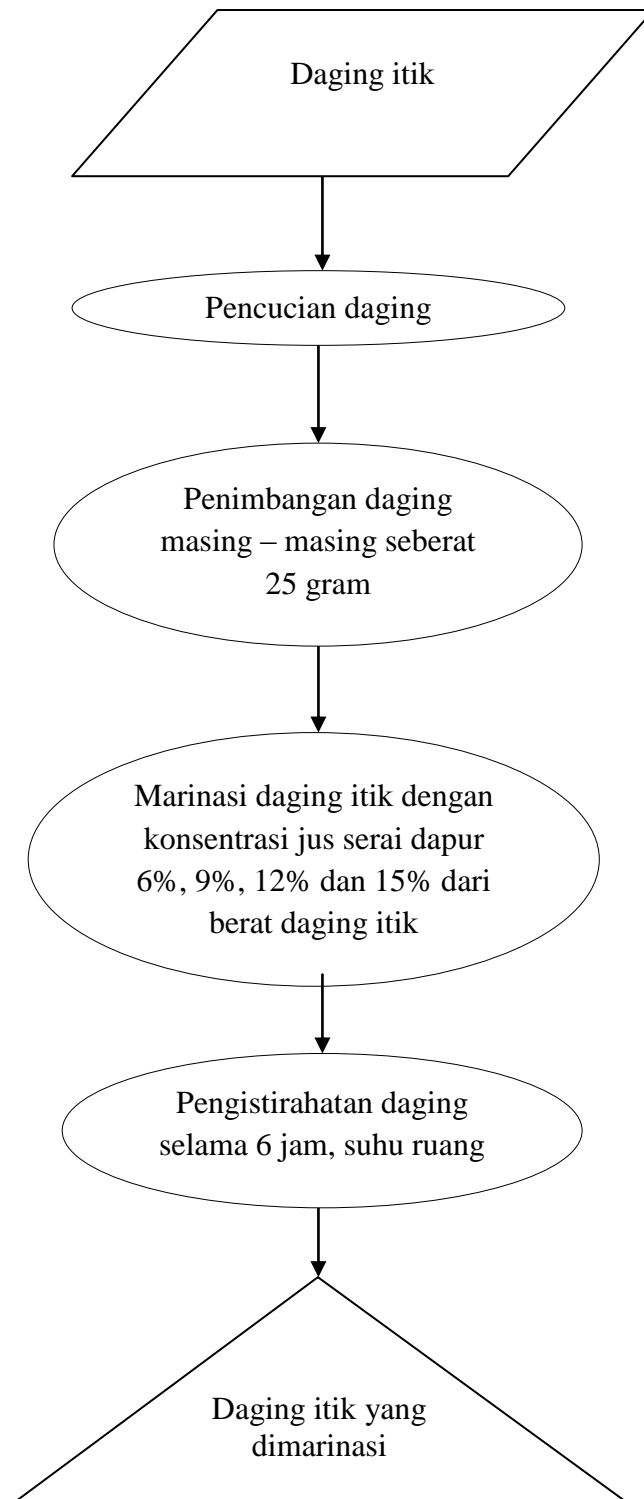
3.2.3. Pengujian Parameter

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu pertumbuhan bakteri pada daging itik meliputi uji total bakteri, *Coliform*, *E. coli* dan aktivitas air. Pada hasil akhirnya setiap uji yang dilakukan akan dibandingkan dengan perlakuan sampel yang ditentukan

3.2.3.1. Uji Total Bakteri (SNI, 2008). Sebanyak 25g daging itik dihaluskan menggunakan mortar dan ditambahkan dengan larutan pengencer NaCl fisiologis 0.85% steril (pengenceran 10^{-1}). Selanjutnya pada pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet secara aseptis dan dimasukkan kedalam 9 ml larutan pengencer steril NaCl fisiologis 0,85% (pengenceran 10^{-2}) dan dilanjutkan sampai pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Selanjutnya pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} masing – masing diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dituangkan didalam cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu kemudian dituangi dengan 12 – 15 ml medium *Plate*

Count Agar (PCA) steril. Masing – masing cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Setelah diinkubasi selanjutnya dihitung jumlah koloni yang ada (25 – 250 koloni). Komposisi dari medium *Plate Count Agar* dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.2.3.2. Uji Total Coliform (Fardiaz, 1993). Sebanyak 25g daging itik dihaluskan menggunakan mortar dan ditambahkan dengan larutan pengencer NaCl fisiologis 0.85% steril (pengenceran 10^{-1}). Selanjutnya pada pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet secara aseptis dan dimasukkan kedalam 9 ml larutan pengencer steril NaCl fisiologis 0,85% (pengenceran 10^{-2}) dan dilanjutkan sampai pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Selanjutnya pada masing – masing pengenceran diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dituangkan didalam cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu kemudian dituangi dengan 12 – 15 ml media selektif untuk pengujian *Coliform*, yaitu *Brilliance Agar* (BA). Masing – masing cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Setelah diinkubasi selanjutnya dihitung jumlah koloni yang ada. Koloni bakteri *Coliform* berwarna merah muda. Komposisi dari medium *Brilliance Agar* dapat dilihat pada Lampiran 5.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Marinasi Daging Itik

3.2.3.3. Uji Total *Escherichia coli* (Fardiaz, 1993). Sebanyak 25g daging itik dihaluskan menggunakan mortar dan ditambahkan dengan larutan pengencer NaCl fisiologis 0,85% steril (pengenceran 10^{-1}). Selanjutnya pada pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet secara septis dan dimasukkan kedalam 9 ml larutan pengencer steril NaCl fisiologis 0,85% (pengenceran 10^{-2}) dan dilanjutkan sampai pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Selanjutnya pada masing – masing pengenceran diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dituangkan didalam cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu kemudian dituangi dengan 12 – 15 ml media selektif untuk *E. coli*, yaitu *Mac Conkey Agar* (MCA) steril. Masing – masing cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Setelah diinkubasi selanjutnya dihitung jumlah koloni yang ada. Koloni bakteri *E. coli* berwarna merah keunguan. Komposisi dari medium *Mac Conkey Agar* dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.2.3.4. Uji Aktivitas Air (a_w) (Susanto, 2009). Penentuan nilai aktivitas air dari daging itik menggunakan a_w meter tipe Novasina Ms 1 yang sudah dikalibrasi. Pengukuran nilai a_w dilakukan dengan cara sampel yang akan diukur ditimbang seberat 3 gram kemudian dimasukkan kedalam wadah yang tersedia pada a_w meter tersebut. Wadah harus terisi secara penuh tidak ada ruang yang tersisa, selanjutnya wadah ditutup dan dimasukkan kedalam a_w meter. Dipastikan wadah yang digunakan sudah dibersihkan. Sampel yang sudah dimasukkan kedalam alat lalu didiamkan kurang lebih 15 menit atau sampai a_w meter berbunyi dan nilai a_w dapat dilihat pada layar yang tertera.

3.2.4. Analisis Data

Analisis ini menggunakan uji satu sampel dengan konsentrasi yang berbeda diukur berdasarkan waktu yang sama. Penelitian dengan uji RAL hasil nilai variabel dari masing – masing perlakuan diamati dan dibandingkan secara kualitatif, kemudian hasil yang diperoleh akan dibahas dengan dukungan informasi pustaka. Analisis data ini dilakukan dengan membandingkan nilai rata – rata dari setiap konsentrasi serai dapur yang digunakan, dengan uji tersebut akan diketahui apakah ada pengaruh dari konsentrasi yang berbeda terhadap daging itik. Uji wilayah ganda *Duncan* digunakan untuk mengetahui nilai tengah mana saja yang sama dan nilai tengah mana saja yang tidak sama ketika dilakukan uji lanjut. Sebelum dilakukan uji *Duncan*, terlebih dahulu dilakuan *Analysis Of Varian* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% untuk menemukan variabel independen dalam penelitian dan mengetahui interaksi antar variabel serta pengaruhnya terhadap suatu perlakuan (Gomez dan Gomez, 1995).