

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Pengaruh Penambahan Zeolit pada Proses *Pelleting* Terhadap Kandungan Bakteri dan Jamur Pellet Limbah Penetasan yang Disimpan dalam Waktu Berbeda” dilaksanakan pada bulan Oktober – Desember 2016 di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.

3.1. Materi

Materi dalam penelitian ini adalah limbah penetasan yang terdiri dari cangkang telur, telur gagal menetas dan DOC afkir, onggok sebagai *filler*, zeolit sebagai mineral absorben, medium “*Nutrient Agar*” (NA) untuk menghitung total bakteri dan medium “*Sabouroud Dextrose Agar*” (SDA) untuk menghitung total jamur. Alat yang digunakan adalah plastik dan ember untuk menampung limbah, blender untuk menghaluskan limbah, panci untuk mengukus limbah, mesin *pelleting*, mesin pengering untuk mengeringkan pellet, peralatan analisis mikroba yaitu autoklaf, inkubator, oven, pipet, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, gelas ukur, gelas beaker, erlenmayer, cawan petri, aluminium foil, kapas katun, kertas label, *colony counter*, *water bath*, kertas saring, *electric stirrer*, pemanas spirtus, spatula, dan timbangan elektrik.

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 2x3 dengan ulangan sebanyak 3 kali. Faktor perlakuan pertama adalah penambahan zeolit yaitu Z0 (penambahan zeolit 0%) dan Z1 (penambahan zeolit 3%). Faktor perlakuan kedua adalah masa penyimpanan yaitu T1 (penyimpanan 4 minggu), T2 (penyimpanan 8 minggu) dan T3 (penyimpanan 12 minggu). Berikut adalah kombinasi perlakuan zeolit dan lama penyimpanan:

Z0T1 = pellet dengan penambahan zeolit 0% dan disimpan selama 4 minggu

Z0T2 = pellet dengan penambahan zeolit 0% dan disimpan selama 8 minggu

Z0T3 = pellet dengan penambahan zeolit 0% dan disimpan selama 12 minggu

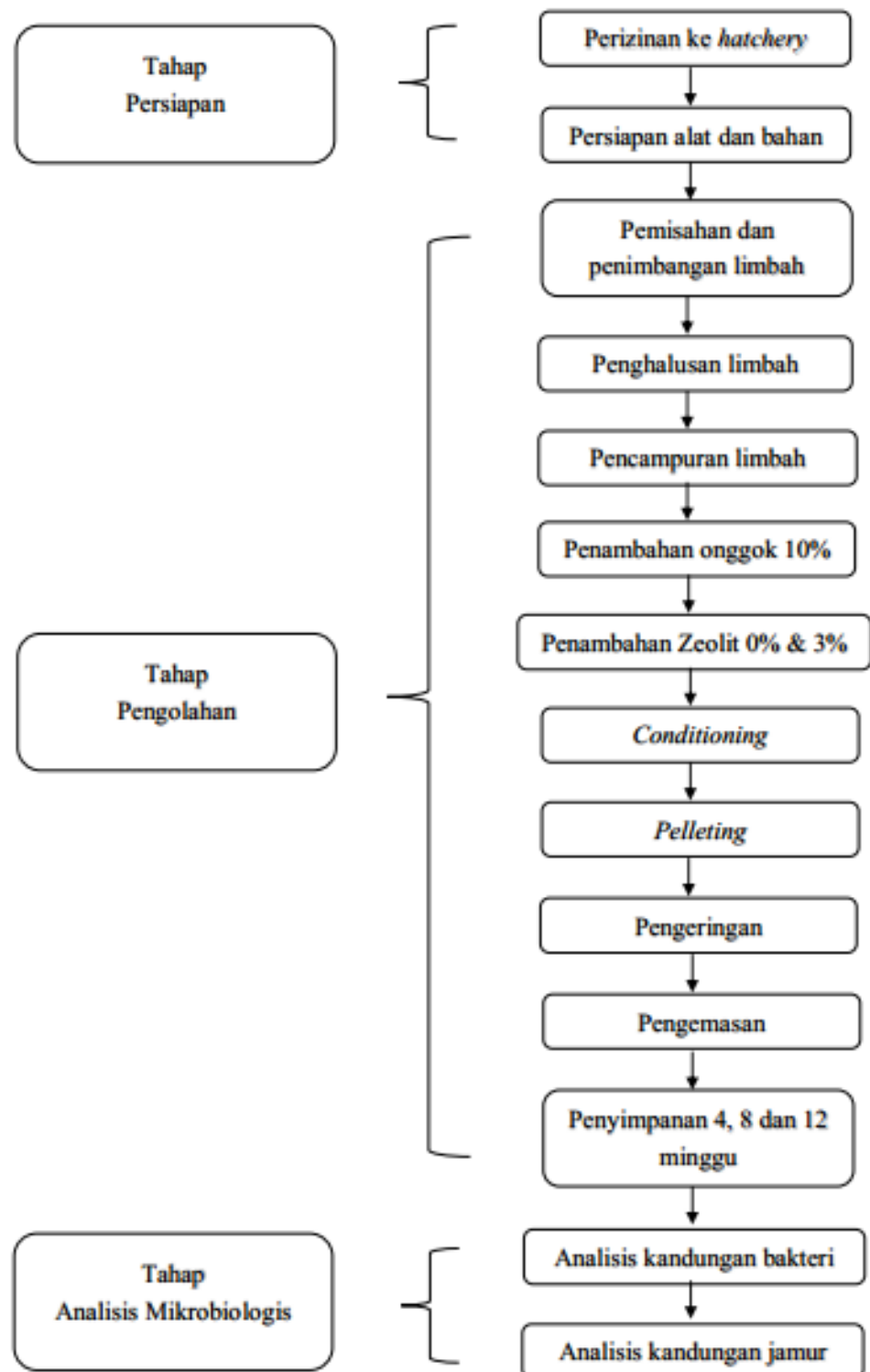
Z1T1 = pellet dengan penambahan zeolit 3% dan disimpan selama 4 minggu

Z1T2 = pellet dengan penambahan zeolit 3% dan disimpan selama 8 minggu

Z1T3 = pellet dengan penambahan zeolit 3% dan disimpan selama 12 minggu

3.2.2. Prosedur penelitian

Penelitian dilakukan dalam 3 tahapan, yaitu tahap persiapan, tahap pengolahan dan tahap analisis mikrobiologis (Ilustrasi 1).



Ilustrasi 1. Alur Pelaksanaan Penelitian

Tahap pertama adalah persiapan, terdiri dari perizinan ke perusahaan *hatchery* PT. Setia Terang Bersinar yang berada di daerah Gunung Pati, Kabupaten Semarang, persiapan alat-alat yang akan digunakan untuk penelitian, menghaluskan onggok dan menghaluskan zeolit menjadi tepung.

Tahap kedua adalah pengolahan limbah, diawali dengan pemisahan masing-masing komponen limbah. Pembuatan pellet dilakukan menurut metode Sulistiyanto dkk. (2016).

Tabel 1. Komposisi Limbah Penetasan

Jenis Limbah	Persentase limbah
Cangkang telur	30
Telur gagal menetas	60
DOC afkir	10

Komposisi limbah penetasan ayam secara langsung disajikan pada Tabel 1. Masing-masing komponen dihaluskan menggunakan blender, lalu ditambahkan filler (bahan pengisi) berupa onggok 10% (B/B) dan dicampur rata. Zeolit ditambahkan sebanyak 0% dan 3% (B/B) dicampur hingga rata kemudian dilakukan proses *conditioning*/pengukusan (80 – 90°C) selama 15 menit. Penambahan zeolit 3% berdasarkan hasil terbaik dari penelitian pendahuluan. Pellet dicetak dengan ukuran diameter lubang cetakan 6 mm dan panjang pellet 3 cm. Pengeringan pellet menggunakan mesin pengering aliran udara panas selama 24 jam pada suhu 40 - 45°C. Pellet disimpan dalam plastik yang tertutup rapat selama 4 minggu, 8 minggu, dan 12 minggu pada suhu kamar (25°C dan kelembaban \pm 70%).

3.2.3. Parameter yang diamati

Parameter yang diamati adalah kandungan bakteri dan kandungan jamur pellet limbah penetasan dengan penambahan zeolit (0% dan 3%) dan lama penyimpanan berbeda (4, 8 dan 12 minggu).

3.2.4. Pengumpulan data

Data diperoleh dari hasil analisis mikrobiologi, meliputi analisis kandungan bakteri dan analisis kandungan jamur. Metode analisis menggunakan metode “*Pour Plate*” (cawan tuang). Penghitungan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni dalam cawan petri, diawali dengan mengencerkan limbah padat sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diambahkan 9 cc NaCl 0,85 steril dan dihomogenkan. Tabung reaksi steril sebanyak 6 buah disiapkan dan diberi label 10^{-2} sampai 10^{-7} kemudian masukan 9 cc NaCl 0,85 steril pada masing-masing tabung. Sampel yang sudah diencerkan diambil sebanyak 1 cc, lalu dimasukkan ke dalam tabung 10^{-2} dan dihomogenkan, dan seterusnya dilakukan pengenceran sampai dengan 10^{-7} . Kandungan bakteri dan jamur yang dihitung hanya untuk 3 pengenceran terakhir. Cawan petri steril sebanyak 4 buah diberi tanda 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dan blangko. Sampel yang sudah diencerkan selanjutnya sebanyak 0,1 cc dimasukkan pada masing-masing cawan petri dan pada blangko dimasukkan 0,1 cc NaCl 0,85 steril. Masing-masing cawan petri dituangi media NA untuk bakteri dan SDA untuk jamur dalam bentuk cair yang sudah disterilkan ($40-42^{\circ}\text{C}$) sebanyak 15 ml, campur dengan memutar sampai homogen dan diamkan hingga membeku. Agar yang telah membeku diinkubasikan di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18

- 24 jam untuk bakteri dan pada suhu 42°C selama 3 – 5 hari untuk jamur, lalu dilakukan perhitungan jumlah koloni mengikuti “*Standard Plate Count*” (Fardiaz, 1993) dalam satuan *Colony Forming Unit* per gram (Cfu/g) dengan rumus:

$$\text{Jumlah Bakteri/Jamur} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

3.3. Analisis data

Data dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) taraf signifikansi 5% untuk mengetahui pengaruh nyata perlakuan. Uji wilayah ganda Duncan dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan bila terdapat pengaruh nyata perlakuan (Steel dan Torie, 1991). Model linear yang digunakan berdasarkan rancangan acak lengkap dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} ; i = (1,2) \quad j = (1,2,3,4) \quad k = (1,2,3)$$

Keterangan:

Y_{ijk}	=	Kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan pada petak percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij (taraf ke-i dari penambahan zeolit dan taraf ke-j dari lama penyimpanan)
μ	=	Nilai tengah umum kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan
α_i	=	Pengaruh aditif dari penambahan zeolit ke-i
β_j	=	Pengaruh aditif dari lama penyimpanan ke-j
$(\alpha\beta)_{ij}$	=	Pengaruh interaksi antara penambahan zeolit ke-i dan lama penyimpanan ke-j
ε_{ijk}	=	Pengaruh galat percobaan pada petak percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij

Hipotesis statistik

- a. H₀ : $(\alpha\beta)_{ij} = 0$, berarti tidak ada interaksi antara penambahan zeolit dengan lama penyimpanan terhadap kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan.
- H₁ : minimal ada satu $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$, ada interaksi antara penambahan zeolit dengan lama penyimpanan terhadap kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan.
- b. H₀ : $\alpha_i = 0$, berarti tidak ada pengaruh penambahan zeolit terhadap kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan.
- H₁ : minimal ada satu $\alpha_i \neq 0$, minimal ada satu penambahan zeolit yang dapat mempengaruhi kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan.
- c. H₀ : $\beta_j = 0$, berarti tidak ada pengaruh lama penyimpanan terhadap kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan.
- H₁ : minimal ada satu $\beta_j \neq 0$, minimal ada satu dari lama penyimpanan yang dapat mempengaruhi kandungan bakteri dan jamur pellet limbah penetasan.

Menurut Steel dan Torrie (1991) kaidah keputusan yang harus diambil adalah:

a. Pengaruh interaksi

- Apabila F hitung Z (zeolit) x T (lama penyimpanan) < F tabel pada taraf 5% maka tidak terjadi interaksi yang nyata antara faktor Z dengan faktor T (non signifikan).
- Apabila F hitung Z x T \geq F tabel pada taraf 5% maka terdapat interaksi yang nyata antara faktor Z dengan faktor T (signifikan).

b. Pengaruh Penambahan Zeolit

- Apabila $F_{hitung} Z < F_{tabel}$ pada taraf 5% maka faktor Z tidak berpengaruh nyata (non signifikan).
- Apabila $F_{hitung} Z \geq F_{tabel}$ pada taraf 5% maka faktor Z berpengaruh nyata (signifikan).

c. Pengaruh Lama Penyimpanan

- Apabila $F_{hitung} T < F_{tabel}$ pada taraf 5% maka faktor T tidak berpengaruh nyata (non signifikan).
- Apabila $F_{hitung} T \geq F_{tabel}$ pada taraf 5% maka faktor T berpengaruh nyata (signifikan).