

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2017 di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi penelitian, yaitu mineral berupa zeolit alam sebagai absorben, limbah penetasan, onggok, Media *Nutrient Agar* (NA) digunakan untuk menghitung total bakteri dan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) digunakan untuk menghitung total jamur. Alat yang digunakan pada penelitian, yaitu : tanur yang digunakan untuk pemanasan mineral zeolit, cawan porselin, timbangan digital, ember dan plastik, blender, mesin pengering, pelleter, peralatan analisis mikroba yaitu tabung reaksi, cawan petri, pipet ukur, bunsen, *spinball*, inkubator.

3.2. Metode

Penelitian dibagi menjadi 3 tahap, yaitu : persiapan, pengolahan dan analisis bakteri serta jamur.

3.2.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan yaitu aktivasi zeolit dengan cara pemanasan menggunakan tanur. Zeolit dibagi menjadi tiga bagian, yaitu zeolit tanpa pemanasan, zeolit

dipanaskan dengan suhu 300°C selama 6 jam dan zeolit dipanaskan dengan suhu 600°C selama 6 jam. Aktivasi zeolit dilakukan menurut petunjuk Lestari (2010).

3.2.2. Tahap pengolahan

Tahap pembuatan pellet mengacu pada Sulistiyanto *et al.* (2016). Limbah penetasan ayam yang terdiri atas cangkang telur (30%), telur gagal menetas (60%) dan DOC afkir (10%) dihaluskan menggunakan blender 1,5 l. Total berat ketiga komponen tersebut adalah 6 kg untuk satu ulangan. Onggok sebagai *filler* (bahan pengisi) ditambahkan sebanyak 10% (b/b) dan dicampur rata. Adonan dicampur merata kemudian dibagi menjadi 8 bagian dengan berat masing masing 750 g. Zeolit yang telah diaktivasi pada suhu 300°C dan 600°C ditambahkan ke dalam campuran masing-masing 0, 1, 3 dan 5% (B/B). Bahan dicampur hingga rata kemudian dikukus dengan suhu 80 - 90°C selama 30 menit dengan dilakukan pembalikan pada 15 menit pertama. Pencetakan pellet dilakukan dengan menggunakan ekstruder ukuran 32, dengan ukuran diameter lubang cetakan 5 mm dan panjang pellet 3 cm. Pengeringan pellet menggunakan mesin pengering aliran udara panas dengan suhu 40°C, sampai kadar air pellet berkisar antara 10 - 12% selama 24 jam. Pellet dilakukan pembalikan setiap 6 jam saat dikeringkan dengan tujuan agar pengeringan merata pada semua bagian. Pellet yang telah melalui proses pengeringan pada mesin pengering kemudian didiamkan pada suhu ruang, dan selanjutnya sampel pellet limbah penetasan diuji meliputi total bakteri dan jamur.

3.2.3. Tahap analisis bakteri dan jamur

Analisis mikrobiologis yang meliputi total bakteri dan jamur didasarkan pada *Standard Plate Count* (Fardiaz, 1993). Uji total bakteri dan jamur diawali dengan menyiapkan 4 tabung reaksi steril dan memberi label masing-masing tabung dengan angka 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} diisi dengan 9 ml NaCl 0,85%. Sampel pellet (1 g) yang telah dihaluskan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan label 10^{-1} dan dihomogenkan. Sampel yang telah homogen dari tabung 1 diambil 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan label 10^{-2} dan dihomogenkan. Sampel tabung reaksi dengan label 10^{-2} selanjutnya diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung dengan label 10^{-3} dan dihomogenkan. Sampel tabung dengan label 10^{-3} selanjutnya diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung dengan label 10^{-4} dan dihomogenkan. Media Agar yaitu *Nutrient Agar* (NA) dan *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) disiapkan dengan cara 4 cawan petri yang disterilkan dan diberi label tanda 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan blangko. Sampel kemudian diambil 0,1 ml dari sampel yang telah diencerkan dan dituangkan ke dalam cawan petri sesuai dengan label yang telah diberikan, pada blangko dimasukkan 0,1 ml NaCl 0,85% secara steril, selanjutnya ditambahkan ± 15 ml media yaitu *Nutrient Agar* (NA) digunakan untuk menghitung total bakteri dan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) digunakan untuk menghitung total jamur (suhu 40 - 42°C) dan dihomogenkan, didiamkan sejenak sampai Agar membeku. Media yang telah diberi sampel diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh pada media untuk setiap

pengenceran dihitung dengan mengikuti metode penghitungan *Standar Plate Count* (SPC) dengan rumus :

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

3.2.4. Rancangan percobaan

Penelitian dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 4, faktor A sebagai suhu aktivasi zeolit, yaitu faktor A1 aktivasi zeolit dengan suhu 300°C dan faktor A2 aktivasi zeolit dengan suhu 600°C. Faktor B sebagai level penambahan zeolit, yaitu B0 adalah 0%, B1 adalah 1%, B2 adalah 3% dan B3 adalah 5% dengan masing-masing 3 ulangan. Berikut merupakan kombinasi antara perlakuan zeolit diaktivasi dan level zeolit :

A1B0 : Pellet dengan zeolit diaktivasi 300°C dan level zeolit 0%.

A1B1 : Pellet dengan zeolit diaktivasi 300°C dan level zeolit 1%.

A1B2 : Pellet dengan zeolit diaktivasi 300°C dan level zeolit 3%.

A1B3 : Pellet dengan zeolit diaktivasi 300°C dan level zeolit 5%.

A2B0 : Pellet dengan zeolit diaktivasi 600°C dan level zeolit 0%.

A2B1: Pellet dengan zeolit diaktivasi 600°C dan level zeolit 1%.

A2B2: Pellet dengan zeolit diaktivasi 600°C dan level zeolit 3%.

A2B3: Pellet dengan zeolit diaktivasi 600°C dan level zeolit 5%.

Model linier yang digunakan berdasarkan Steel dan Torrie (1991) dengan rancangan acak lengkap pola faktorial dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

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

Keterangan :

Y_{ijk} : Nilai pengamatan pada faktor perlakuan A (pemanasan zeolit) ke-dan faktor perlakuan B (kombinasi level zeolit) ke-j dan ulangan ke-k

μ : Nilai tengah umum pengamatan total bakteri dan jamur

α_i : Pengaruh pemanasan zeolit ke-i

β_j : Pengaruh kombinasi level zeolit ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$: Pengaruh interaksi antara pemanasan zeolit ke-i dan kombinasi level zeolit ke-j

E_{ijk} : Pengaruh galat percobaan ke k memperoleh kombinasi perlakuan ke-ij

3.3. Parameter Penelitian

Parameter penelitian yaitu total bakteri dan jamur pada pellet limbah penetasan dengan penambahan level zeolit yang sudah diaktivasi 300°C dan 600°C.

3.4. Analisis Data

Data analisis menggunakan *Analysis of Variance* (Anova) dengan taraf signifikansi 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter (Steel dan Torrie, 1991). Data hasil penelitian ditransformasi dengan cara dihitung dengan transformasi logaritma.

Hipotesis Statistik dari penelitian

A. $H_0 : (\alpha\beta)_{ij} = 0$ (yang berarti tidak ada pengaruh interaksi antara pemanasan zeolit dengan kombinasi level zeolit yang berbeda terhadap total bakteri dan jamur).

H_1 : Minimal ada satu $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$, (ada pengaruh interaksi antara pemanasan

zeolit dengan kombinasi level zeolit yang berbeda terhadap total bakteri dan jamur).

B. H_0 : $\alpha_i = 0$ (yang berarti tidak ada pengaruh suhu aktivasi terhadap kandungan total bakteri dan jamur).

H_1 : Minimal ada satu $\alpha_i \neq 0$, minimal ada satu perlakuan suhu aktivasi yang mempengaruhi kandungan total bakteri dan jamur

C. H_0 : $\beta_j = 0$ (yang berarti tidak ada pengaruh level penambahan zeolit terhadap total bakteri dan jamur).

H_1 : Minimal ada satu $\beta_j \neq 0$, minimal ada satu perlakuan level penambahan zeolit terhadap total bakteri dan jamur.

Kaidah keputusan yang diambil adalah (Steel dan Torrie, 1991):

A. Pengaruh interaksi

1. Apabila F hitung suhu aktivasi zeolit (A) x level zeolit (B) $< F$ tabel pada taraf 5% maka tidak terjadi interaksi yang nyata antara faktor A dengan faktor B terhadap parameter (*non significant*).
2. Apabila F hitung Suhu aktivasi zeolit (A) x level zeolit (B) $\geq F$ tabel pada taraf 5% maka terdapat interaksi yang nyata antara faktor A dengan faktor B terhadap parameter (*significant*).

B. Pengaruh suhu aktivasi zeolit

1. Apabila F hitung suhu aktivasi zeolit A $< F$ tabel pada taraf 5% maka faktor A tidak berpengaruh nyata terhadap parameter (*non significant*).

2. Apabila F hitung suhu aktivasi zeolit $A \geq F$ tabel pada taraf 5% maka faktor A berpengaruh nyata terhadap parameter (*significant*).

C. Pengaruh level zeolit

1. Apabila F hitung level zeolit $B < F$ tabel pada taraf 5% maka faktor B tidak berpengaruh nyata terhadap parameter (*non significant*).
2. Apabila F hitung level zeolit $B \geq F$ tabel pada taraf 5% maka faktor B berpengaruh nyata terhadap parameter (*significant*).