

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang Uji Mikrobiologis *Salmonella*, *Water Activity* dan Total Bakteri Multinutrien Blok Kombinasi Cangkang Kerang dan Cangkang Telur sebagai Sumber Mineral dilaksanakan pada bulan Juli 2018 sampai dengan Agustus 2018. Lokasi penelitian yaitu di Kandang Penelitian Kambing Desa Mrunten Wetan, Kecamatan Ungaran Barat dan Laboratorium Teknologi Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

1.1. Materi

Materi yang digunakan pada penelitian ini yaitu MNB yang terdiri dari cangkang kerang, cangkang telur, hijauan jagung, molases, bentonit, urea dan garam, NaCl 0,85%, media *nutrient agar* (NA) untuk menghitung total bakteri, dan media MacConkey untuk media *Salmonella sp.* serta media biokimia.

Alat yang digunakan yaitu timbangan digital dengan kapasitas 5 kg dengan batas ketelitian 1 g yang digunakan untuk menimbang bahan penyusun MNB, cetakan yang terbuat dari pralon untuk mencetak MNB dan ember untuk mencampur bahan penyusun MNB, *grinder* yang berfungsi untuk menghaluskan cangkang kerang, cangkang telur dan hijauan jagung. Alat yang digunakan untuk analisis proksimat yaitu seperangkat alat analisis proksimat dan *Aw* meter untuk analisis *water activity*. Alat yang digunakan untuk analisis total bakteri dan

Salmonella sp. yaitu tabung reaksi, cawan petri, mikroskop, bunsen, jarum ose, pipet dan inkubator.

1.2. Metode Penelitian

Penelitian Uji Mikrobiologis *Salmonella*, *Water Activity* dan Total Bakteri Multinutrien Blok Kombinasi Cangkang Kerang dan Cangkang Telur sebagai Sumber Mineral dilakukan berdasarkan beberapa tahap, yaitu tahap pembuatan MNB dan tahap analisis.

1.2.1. Tahap pembuatan multinutrien blok

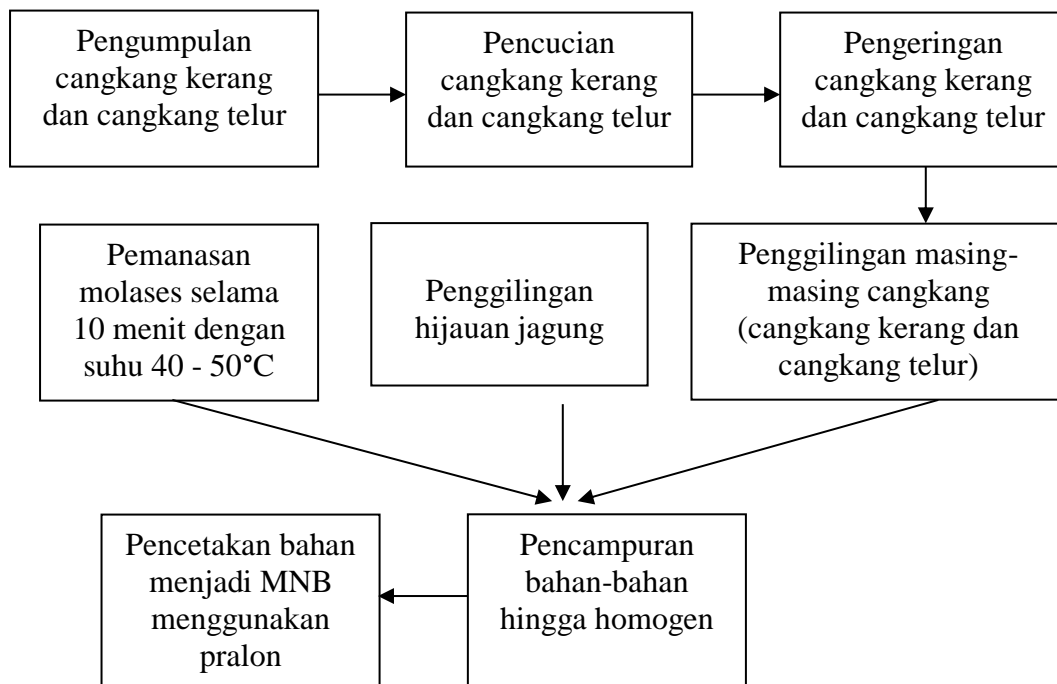
Pembuatan MNB diawali dengan pencucian pada cangkang kerang dan cangkang telur yang didapat dari lingkungan Universitas Diponegoro (Ilustrasi 1). Cangkang kerang dan cangkang telur dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditumbuk agar memudahkan dalam proses penggilingan. Hijauan jagung di potong menjadi ukuran yang lebih kecil menggunakan *chopper* untuk memudahkan dalam proses penggilingan. Hijauan jagung, cangkang kerang dan cangkang telur kemudian dihaluskan menggunakan *grinder*. Penimbangan bahan-bahan penyusun MNB dilakukan sesuai komposisi pada Tabel 1. Molases dipanaskan selama 10 menit dengan suhu 40 - 50°C dan diaduk terus menerus. Bahan penyusun MNB dicampur di dalam ember. Pencampuran bahan dilakukan dengan menuangkan bahan dengan proporsi terbesar kemudian berlanjut diikuti bahan dengan proporsi paling rendah. Bahan dicampur hingga homogen, lalu molases dituangkan dan dicampur dengan bahan lainnya. Proses pencetakan MNB

dilakukan menggunakan pralon dengan ukuran yang sama. Multinutrien blok disimpan di ruangan terbuka di bawah naungan.

Tabel 1. Komposisi MNB Masing-masing Perlakuan

| Bahan Pakan | Perlakuan | | | |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | T ₀ | T ₁ | T ₂ | T ₃ |
| | ------(%)----- | | | |
| Molases ^a | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Hijauan jagung ^b | 36 | 30 | 30 | 30 |
| Cangkang kerang ^c | - | 6 | - | 3 |
| Cangkang telur ^d | - | - | 6 | 3 |
| Garam | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Urea | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Bentonit | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Jumlah | 100 | 100 | 100 | 100 |

Keterangan : T₀ : MNB tanpa pemberian cangkang kerang dan cangkang telur; T₁ : MNB menggunakan cangkang kerang 6%; T₂ : MNB menggunakan cangkang telur 6%; T₃ : MNB menggunakan cangkang kerang 3% dan cangkang telur 3%
^{abcd} : Kadar BK; ^a : 71,64%; ^b : 84,85%; ^c : 99,31%; ^d : 98,74%



Ilustrasi 1. Alur Proses Pembuatan MNB

1.2.2. Tahap analisis

Analisis total bakteri dan *Salmonella sp.* dilaksanakan di SMK Theresiana, Semarang. Analisis total bakteri dilaksanakan berdasarkan Fardiaz (1993) dengan metode tuang (*pour plate*). Tabung reaksi steril disiapkan sebanyak 4 buah dan diberi tanda 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Masing-masing tabung diisi dengan NaCl 0,85% steril sebanyak 9 ml. Multinutrien blok diambil 1 g dari bagian MNB, lalu dimasukkan ke dalam tabung 10^{-1} dan dihomogenkan. Sebanyak 1 ml dari tabung 10^{-1} diambil dan dimasukkan ke tabung 10^{-2} lalu dihomogenkan. Proses pengenceran dilakukan sampai dengan tabung 10^{-4} . Masing-masing pengenceran diambil 1 ml kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dan diberi tanda 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Sebanyak 1 ml NaCl 0,85% dimasukkan ke dalam cawan petri untuk blanko. Media NA cair disiapkan dan dituangkan pada masing-masing cawan petri sebanyak 20 ml kemudian dihomogenkan dan ditunggu hingga membeku. Media diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 - 24 jam setelah itu dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada media. Perhitungan jumlah koloni berdasarkan rumus (Fardiaz, 1993) :

$$\text{Jumlah bakteri} = \text{Jumlah koloni} \times \text{Volume yang ditanam} \times \text{Pengenceran} \dots (1)$$

Jumlah kualitatif *Salmonella sp.* dilakukan dengan persiapan media MacConkey. Sampel yang sudah diencerkan 10^{-1} diinokulasikan pada media MacConkey menggunakan ose secara aseptis dan diinkubasikan pada inkubator pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Uji biokimia dilakukan dengan pengamatan koloni yang tumbuh pada media MacConkey, dipilih koloni yang berwarna merah kemudian diinokulasikan pada media uji biokimia. Media uji biokimia meliputi

indol, motil, glukosa, laktosa, maltosa, sakarosa, manitol, urea, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Voges Proskauer* (VP), *Methyl Red* (MR) dan *Simon Citrate*. Media uji biokimia kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam.

Water activity diukur menggunakan *Aw* meter. Multinutrien blok diambil sesuai dengan ukuran wadah *Aw* meter. *Water activity* meter dibuka dengan cara bagian hitam ditengah alat ditekan kemudian wadah yang sudah berisi sampel dimasukkan. *Water activity* meter ditutup kembali, ditekan tombol menu dan ditunggu hingga proses *warm up* selesai. Nilai *Aw* akan muncul di layar dan jika sudah konstan *Aw* meter akan berbunyi lalu dihentikan dengan cara tombol stop ditekan dan sampel dikeluarkan dari *Aw* meter. Pengukuran nilai *Aw* dilakukan sebanyak dua kali untuk tiap sampel.

1.3. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu :

T₀ = MNB tanpa pemberian cangkang kerang dan cangkang telur

T₁ = MNB menggunakan cangkang kerang 6%

T₂ = MNB menggunakan cangkang telur 6%

T₃ = MNB menggunakan cangkang kerang 3% dan cangkang telur 3%

Variabel yang diperhitungkan yaitu total bakteri, *water activity* dan jumlah kualitatif *Salmonella sp.*

1.3.1. Analisis data

Semua data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis varians (anova) dengan probabilitas kesalahan 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Jika terdapat pengaruh perlakuan, untuk mengetahui perbedaan nilai tengah antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

Model linear aditif rancangan percobaan yang diharapkan pada penelitian ini adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad ; i : 1,2,3,4 \quad ; j : 1,2,3,4$$

Keterangan :

Y_{ij} = Uji mikrobiologis MNB ke-j yang memperoleh perlakuan penggunaan jenis cangkang yang berbeda ke-i

μ = Nilai tengah umum (rata-rata populasi)

τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan pemberian jenis cangkang yang berbeda ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada uji mikrobiologis MNB yang memperoleh perlakuan penggunaan jenis cangkang yang berbeda ke-i

i = Perlakuan

j = Ulangan

1.3.2. Hipotesis statistik

Hipotesis yang diperoleh yaitu :

H0 : $\tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$; tidak terdapat pengaruh perlakuan penggunaan jenis cangkang yang berbeda terhadap uji mikrobiologis MNB.

H1 : Minimal terdapat satu $\tau_i \neq 0$; minimal terdapat pengaruh dari satu perlakuan penggunaan jenis cangkang yang berbeda terhadap uji mikrobiologis MNB.

Kriteria pengujian yaitu :

F hitung < F tabel maka H0 diterima

F hitung \geq F tabel maka H0 ditolak