

III. MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juli 2017 di Laboratorium Teknologi Pascapanen Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau dan Dinas Perindustrian dan Perdagangan Riau (DISPERINDAG).

3.2. Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging sapi. Bahan pengikat antara lain tepung sagu dan tepung ubi jalar ungu. Bahan-bahan lain untuk masing-masing perlakuan yaitu, bawang putih, garam, merica, penyedap, dan es batu/air es. Bahan yang digunakan dalam analisis mikroba adalah media PCA (*Plate Count Agar*), bahan untuk antibakteri adalah media NA (*Nutrient Agar*), bakteri *E. coli*, bakteri *coliform*, air suling steril, kertas saring, NaCl, Alat yang digunakan untuk proses pembuatan bakso yaitu timbangan analitik, blender, kompor, mangkok plastik, pisau, panci untuk merebus bakso dan sendok. Analisis mikroba antara lain: timbangan analitik, *colony counter*, *petridish*, *spreader*, pipet Pasteur, tabung erlenmeyer, batang pengaduk, *juicer*, *aluminium foil*, *autoclave*, pH meter, piring, air minum, garpu dan alat tulis.

3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan adalah umur simpan sebanyak 4 perlakuan dan 3 ulangan. Bakso dikemas dengan menggunakan plastik

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

HDPE dengan konsentrasi tepung ubi jalar ungu sebanyak 20%. Perlakuan adalah umur simpan pada suhu dingin 5°- 6°C yang terdiri dari atas: 0, 4, 8 dan 12 hari.

Rincian perlakuan sebagai berikut :

P0 : Bakso daging sapi disimpan pada suhu dingin selama 0 hari

P1 : Bakso daging sapi disimpan pada suhu dingin selama 4 hari

P2 : Bakso daging sapi disimpan pada suhu dingin selama 8 hari

P3 : Bakso daging sapi disimpan pada suhu dingin selama 12 hari

Data penelitian yang dihasilkan diolah secara statistik dengan menggunakan analisis ragam menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) seperti pada Tabel 3.1. Model Matematis rancangan menurut Steel dan Torrie (1991) adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Pengamatan pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

μ : Rataan umum

τ_i : Pengaruh perlakuan ke i

ϵ_{ij} : Pengaruh acak pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

i : 1,2,3,4

j : 1,2,3

Tabel 3.3. Analisis sidik ragam bakso daging sapi dengan penambahan tepung ubi jalar ungu

Sumber	DB	JK	KT	F hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	tr-1	JKT	-	-	-	-

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{y^2}{tr}$$

Jumlah Kuadrat Total (JKT) $\sum Y_{ij}^2 - FK$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \sum \frac{y^2}{tr} - FK$$

Jumlah Kuadrat Galat (JKG) = JKT – JKP

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTG}$$

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Pembuatan Tepung Ubi Jalar Ungu

Teknik pembuatan tepung ubi jalar ungu berdasarkan Karleen (2010) ubi jalar ungu terlebih dahulu dibersihkan, lalu dilakukan pengupasan kulit ubi jalar ungu selanjutnya dipotong-potong tipis dan kecil dengan tujuan untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan dengan menggunakan panas matahari selama 1-2 hari. Setelah kering ubi jalar ungu dapat digiling atau dihancurkan dengan menggunakan alat penggiling tepung, penggilingan dilakukan hingga ubi jalar ungu kering tersebut hancur menjadi tepung dan diayak dengan saringan 60 mesh. Berikut ini merupakan alur pembuatan tepung ubi jalar ungu dapat dilihat pada Gambar 3.1 sebagai berikut.

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

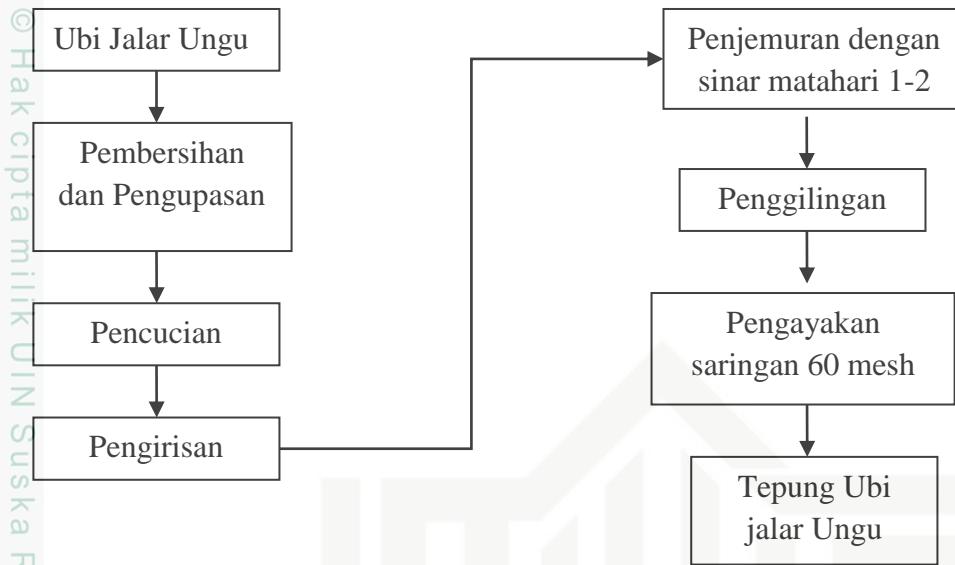
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

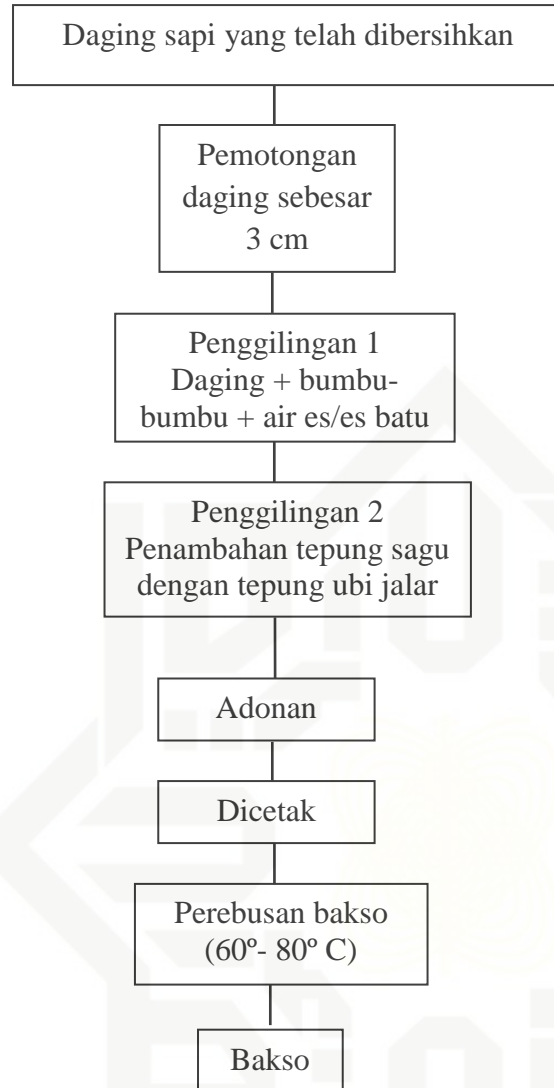
UIN Suska Riau
Sultan Syarif Kasim Riau



Gambar 3.1 Diagram Alur Pembuatan Tepung Ubi Jalar Ungu (Karleen, 2010)

3.4.2. Pembuatan Bakso

Proses pembuatan bakso menurut Bintoro (2008) adalah daging sapi dibersihkan terlebih dahulu dari lemak permukaan dan jaringan ikat kemudian dipotong kecil-kecil sebesar 3 cm daging digiling sampai halus dengan ditambahkan es batu sebesar 15% dari berat daging. Kemudian ditambahkan bumbu yang terdiri dari bawang putih dan merica sebanyak 2,5% dari berat daging. Kemudian ditambahkan tepung ubi jalar ungu dan tepung sagu sesuai perlakuan, campur sampai homogen. Selanjutnya adonan dicetak dalam air dengan suhu 60-80°C selama 15 menit. Pematangan bakso dilakukan pada air panas (suhu 100°C) selama 10 menit, kemudian diangkat dan ditiriskan untuk dilanjutkan melihat sifat mikrobiologinya. Berikut adalah alur pembuatan bakso dapat dilihat pada Gambar 3.2 sebagai berikut:



Gambar 3.2. Diagram Alir Pembuatan Bakso (Bintoro, 2008)

Formulasi bakso daging sapi yang ditambahkan dengan tepung ubi jalar

ungu dapat dilihat pada Tabel 3.1 berikut ini.

Tabel 3.1 Formulasi Pembuatan Bakso Daging Sapi

No.	Bahan	Konsentrasi Perlakuan (%)
1.	Daging Sapi	63
2.	Tepung Ubi Jalar Ungu	20
3.	Tepung Sagu	1,35
4.	Es Batu	12,64
5.	Bawang Putih	0,33
6.	Garam	2,10
7.	Merica	0,25
8.	Penyedap	0,33
Total		100

Sumber : Sri Hadi, (2008) ; *SNI (2014)

3.5. Parameter Penelitian

3.5.1. Nilai pH Bakso (AOAC, 1995)

Derajat keasaman bakso diukur dengan menggunakan pH meter dan dikalibrasi dengan larutan *buffer* dengan nilai pH 4 dan 7. Sampel ditimbang 1 gram, kemudian ditambah aquades 10 ml, setelah itu sampel dihaluskan selama satu menit, sampel dipindahkan ke dalam gelas ukur, pH meter dicelupkan ke dalam sampel kira-kira 2-4 cm. Nilai pH diperoleh dengan membaca skala yang ditunjukkan oleh jarum penunjuk.

3.5.2. Perhitungan Angka Lempeng Total (SNI 2897 :2008)

Penghitungan angka lempeng total menggunakan metode cawan tuang (*pour plate*). Sampel ditimbang sebanyak 25g, kemudian dimasukkan didalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan BPW 0,1% steril, kemudian dihomogenkan dengan stomacher selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengencer 10^{-1} . Suspense 10^{-1} sebanyak 1 ml dipindahkan kedalam 9 ml larutan BPW dengan pipet steril untuk mendapatkan pengencer 10^{-2} . Selanjutnya buat pengencer 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya dengan cara yang sama.

Selanjutnya dimasukkan 1 ml suspensi dari setiap pengenceran kedalam cawan petri secara duplo. Cawan petri ditambahkan 15-20 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya, maka harus dilakukan homogenisasi dengan memutar cawan membentuk angka delapan dan didiamkan sampai menjadi padat. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur $34-36^{\circ}\text{C}$ selama 24 - 48 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Penghitungan jumlah koloni dilakukan pada setiap pengenceran kecuali

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

pada cawan petri yang berisi koloni penyebar (*spreader colonies*) dengan cara memilih cawan yang berisi jumlah koloni 25 sampai 250 koloni yang tumbuh di media dihitung sebagai total mikroba.

3.5.3. Uji *Coliform* (SNI 2897:2008)

Prinsip penghitungan jumlah *Coliform* adalah berdasarkan metode *Most Probable Number* (MPN) yang terdiri atas uji presumtif (pendugaan) dan uji konfirmasi (peneguhan) menggunakan media cair dalam tabung reaksi dan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan timbulnya gas di dalam tabung *durham*.

Pengujian diawali dengan penyiapan sampel sebanyak 25 g secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan BPW 0,1% steril, lalu dihomogenkan dengan stomacher selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengenceran 10^{-1} . Uji pendugaan dilakukan dengan pemindahan 1 ml larutan pengencer 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml larutan BPW 1% untuk mendapatkan pengencer 10^{-2} . Selanjutnya dengan cara yang sama dibuat pengenceran 10^{-3} . pipet masing-masing berisi 1 ml dari setiap pengencer kedalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 35°C selama 24-48 jam. Diperhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

Uji peneguhan harus selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Pengujian dilakukan dengan memindahkan biakan positif dari hasil pendugaan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung ECB yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya ECB diinkubasikan pada

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Diarangi mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

temperature 45,5°C selama 24±2 jam. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas. Selanjutnya gunakan tabel *Most Probable Number* (MPN) untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung BGLBB yang positif sebagai jumlah *Coliform* per milliliter atau per gram.

3.5.4. Uji *Eschericia coli*

Prinsip pengujian *E.coli* menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dengan menggunakan seri 3 tabung. Pengujian dilakukan dengan uji pendugaan, uji peneguhan dan isolasi-identifikasi melalui uji biokimia indole, methyl red, voges-proskauer dan citrate (iMViC). Pengujian diawali dengan menyiapkan sampel sebanyak 24 g secara aseptik kemudian dimasukkan de dalam plastk steril yang telah berisi 225 larutan BPW 0,1% steril, lalu dihomogenkan dengan stomacher selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengencer 10⁻¹. Selanjutnya pengujian dilakukan dengan menggunakan seri 3 tabung yaitu :

1. Uji pendugaan

Uji pendugaan dilakukan dengan memindahkan 1 ml larutan pengencer 10⁻¹ tersebut dengan menggunakan pipet steril ke dalam 9 ml larutan BPW 1% untuk mendapatkan pengencer 10⁻². Dengan cara yang sama dibuat pengenceran 10⁻³. Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung *durham*. Inkubasi dilakukan pada temperature 35°C selama 24–48 jam dan diperhatikan adanya gas yang terbentuk didalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

2. Uji peneguhan (konfirmasi)

Uji peneguhan harus selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Pengujian dilakukan dengan memindahkan biakan positif dari hasil pendugaan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung ECB yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya ECB diinkubasikan pada temperature 45,5°C selama 24±2 jam dan bila hasilnya negatif inkubasikan kembali selama 48±2 jam dan perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

3. Uji isolasi-identifikasi

Uji isolasi dan identifikasi dilakukan dengan pembuatan goresan pada media L-EMBA atau VRBA dari tabung ECB yang positif, inkubasi pada temperatur 35°C selama 18-24 jam. Koloni yang diduga *E.coli* adalah memiliki diameter 2mm sampai 3mm, warna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, dengan atau tanpa metalik kehijauan yang mengkilat pada media L-EMBA. Selanjutnya koloni yang diduga dari masing-masing media L-EMBA diambil dengan jarum ose dan dipindahkan ke PCA miring. PCA miring diinkubasi pada temperatur 35°C selama 18-24 jam untuk uji biokimia.

Uji indol dilakukan melalui inokulasi koloni dari tabung OCA pada TB dan diinkubasikan pada temperatur 35°C selama 24±2 jam selanjutnya tambahkan 0,2-0,3 ml *reagen kovac*. Hasil reaksi positif ditandai dengan adanya bentuk cincin merah pada lapisan atas media sedangkan hasil negatif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kuning.

Uji voges-proskauer (VP) dilakukan dengan pengambilan biakan dari media PCA, lalu diinokulasikan pada temperatur 35°C selama 48±2 jam. Inokulan

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

dipindahkan sebanyak 5 ml MR-VP ke tabung reaksi dan ditambahkan 0,6 ml larutan a-naphthol dan 0,2 ml KOH 40%, kemudian homogenkan. Hasil reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah muda eosin dalam waktu 2 jam.

Uji methyl red (MR) diambil dari media PCA lalu diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml media MR-VP dan diinkubasikan pada temperature 35°C selama 48±2 jam. Selanjutnya ditambahkan 2 – 5 tetes indikator MR pada tabung. Hasil uji positif ditandai dengan adanya warna merah dan hasil reaksi negatif ditandai adanya warna kuning.

Uji citrate dilakukan dengan menginokulasikan koloni dari media agar miring PCA ke dalam media KCB dan diinkubasikan pada temperatur 35°C selama 96 jam. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya kekeruhan pada media.

3.6. Analisis data

Data angka lempeng total dan pH disajikan dalam bentuk tabel, selanjutnya dianalisis dengan menggunakan regresi linear dan analisis sidik ragam. Sedangkan data jumlah *E.coli* dan *Coliform* disajikan secara deskriptif dengan membandingkan berdasarkan batas cemaran yang ditetapkan SNI. Masa simpan ditentukan apabila jumlah angka lempeng total, *E.coli* dan *Coliform* melebihi batas yang ditetapkan oleh SNI. Analisis regresi linier adalah untuk menyatakan bentuk hubungan antara dua variabel atau lebih. Jadi disini ada variabel yang variasinya dipengaruhi (*dependent-Y*) oleh variabel lainnya (bebas-X) (Maryanto dan Tripena, 2008). Model matematis analisis regresi linier adalah:

$$Y = a + bX$$

Keterangan :

a : Konstanta

b : Koefisien regresi

X : Subjek pada variabel independen yang mempunyai nilai tertentu

Y : Subjek dalam variabel dependen yang diprediksi

Data uji nilai pH dan angka lempeng total menggunakan analisis sidik ragam, Apabila perlakuan menunjukkan pengaruh nyata yaitu $F_{hit} > F_{tabel}$ ($\alpha = 0,05$) atau ($\alpha = 0,01$) maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) menurut Gaspersz (1991).

Model Matematis uji BNT sebagai berikut:

$$BNT_{\alpha} = T\left(\frac{\alpha}{2}\right) \cdot \frac{\sqrt{2 \times KTG}}{r}$$

t : Perlakuan

r : Ulangan

KTG : Kuadrat tengah galat

Jika selisih kombinasi $> BNT$ pada $\alpha 0,05$ menyatakan perlakuan berbeda nyata Gaspersz (1991).

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.