

### III. MATERI DAN METODE

#### 3.1. Waktu dan Tempat.

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2016 di Laboratorium Teknologi Pasca Panen Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN SUSKA Riau dan UPT. Pengujian dan Sertifikasi Mutu Barang Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Riau.

#### 3.2. Alat dan Bahan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak segar 4,5 kg, telur ayam ras umur 1-3 hari yang berukuran sedang (50-55 gram) sebanyak 24 butir yang berasal dari Peternakan Telur Ayam Ras di Rimbo Panjang dan air sebanyak 15 liter untuk rendaman telur ayam ras, *Plate Count Agar*, larutan *Buffer Pepton Water*, dan larutan *Lactose Broth*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hotplate*, *autoklaf*, *mixer*, tabung reaksi, cawan petri, inkubator, tabung durham, wadah steril, *stomacher*, *micro pipet*, jarum inokulasi, *erlenmeyer*, rak telur, keranjang penirisan, baskom, , *medium plate count agar* (PCA), panci, kompor, alat tulis dan buku.

#### 3.3. Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan pola rancangan acak lengkap (RAL) faktorial, faktor perlakuan (4x3) dan 2 ulangan dengan

perendaman selama 24 jam (Lestari, 2013) dimodifikasi pada bagian perlakuan.

Perlakuan dalam penelitian ini yaitu :

- a. Konsentrasi : 1. Konsentrasi 0% (A1)  
 2. Konsentrasi 15% (A2)  
 3. Konsentrasi 30% (A3)  
 4. Konsentrasi 45% (A4)
- b. Lama Penyimpanan : 1. Hari ke-0 (B1)  
 2. Hari ke-14 (B2)  
 3. Hari ke-28 (B3)

Kombinasi perlakuan rancangan acak lengkap (RAL) Faktorial dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Kombinasi Perlakuan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial

Konsentrasi	Ulangan	Lama Penyimpanan		
		0 Hari (B1)	14 Hari (B2)	28 Hari (B3)
Konsentrasi 0%	1	A1B1	A1B2	A1B3
	2	A1B1	A1B2	A1B3
Konsentrasi 15%	1	A2B1	A2B2	A2B3
	2	A2B1	A2B2	A2B3
Konsentrasi 30%	1	A3B1	A3B2	A3B3
	2	A3B1	A3B2	A3B2
Konsentrasi 45%	1	A4B1	A4B2	A4B3
	2	A4B1	A4B2	A4B3

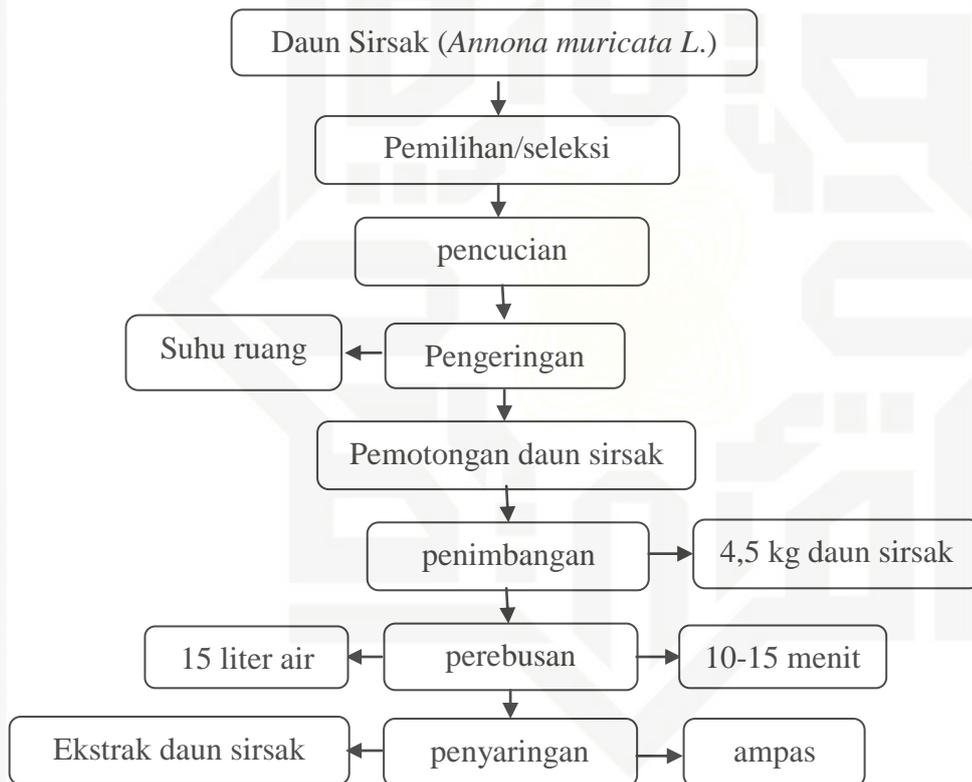
### 3.4. Prosedur Penelitian.

#### 3.4.1. Proses Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Daun sirsak yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak muda (Ummah, 2010), kandungan tanin terbanyak terdapat pada daun muda. Daun sirsak diiris-iris kecil dan dikeringkan terlebih dahulu sebelum direbus.

Konsentrasi daun sirsak yang digunakan pada penelitian ini adalah 0%, 15%,

30%, dan 45% dan lama penyimpanan 0 hari, 14 hari, dan 28 hari. Daun sirsak yaitu 4,5 kg dan 15 liter air, cara memperoleh zat tanin dari daun sirsak tersebut direbus selama 10-15 menit. Campuran daun sirsak dengan air mendidih bertujuan untuk mempercepat larutnya tanin dalam air sehingga larutan tanin yang diperoleh lebih banyak, setelah direbus kemudian airnya disaring dan didinginkan (Karmila *et al.*, 2008). Diagram alir pembuatan ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 3.1.

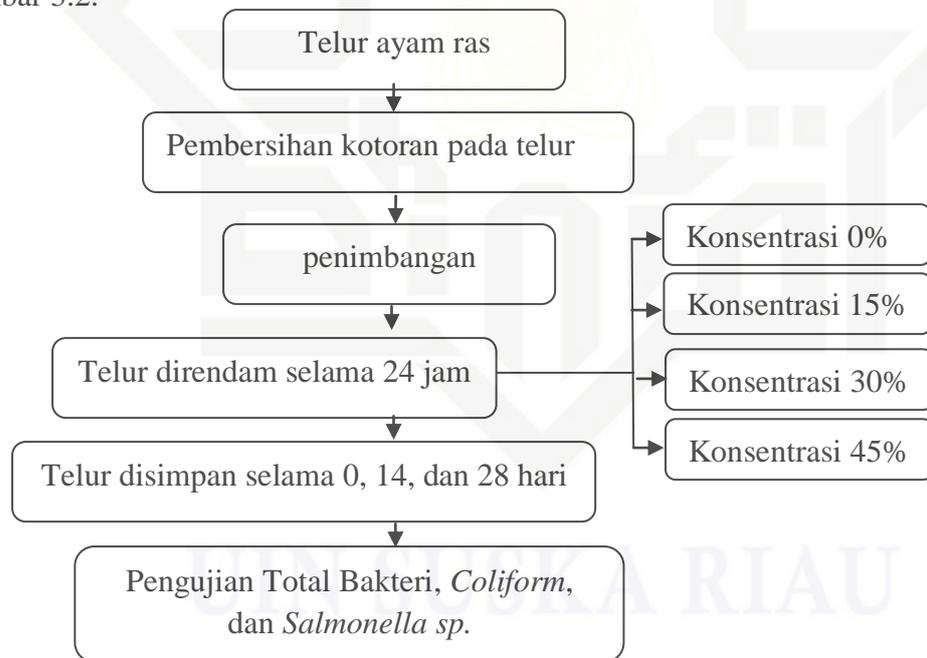


Gambar 3.1. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (Karmila *et al.*, 2008) Dimodifikasi pada bagian bahan dan perlakuan.

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

### 3.4.2. Proses Pemilihan Sampel dan Perendaman Telur.

Telur ayam ras yang telah diteliti sebanyak 24 butir yang berumur 1-3 hari, kemudian telur dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada kulit telur. Telur ayam ras dimasukkan ke dalam wadah yang berisi ekstrak daun sirsak dan terendam semua, selanjutnya wadah ditutup untuk menghindari kontaminasi dengan udara luar sehingga dapat memaksimalkan terjadinya reaksi penyamakan (Karmila, *et al.*, 2008). Telur direndam selama 24 jam, kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu dan ditaruh pada rak telur (*egg tray*) dan diberi label kemudian disimpan pada suhu ruang. Pengukuran dan pengamatan dilakukan pada hari ke 0, 14, dan 28 hari. Diagram alir perendaman telur ayam ras dengan ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Diagram Alir Perendaman Telur Ayam Ras dengan Ekstrak Daun Sirsak (Karmila *et al.*, 2008) dimodifikasi pada bagian bahan dan perlakuan.

#### 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.



### 3.5. Parameter yang Diamati.

Uji mikrobiologi merupakan salah satu uji yang penting karena selain dapat menduga daya simpan suatu makanan, juga dapat digunakan sebagai suatu indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan. Pengujian kualitas mikrobiologi telur ayam ras meliputi :

1. Total Bakteri
2. Uji *Coliform*
3. Uji *Salmonella* sp.

### 3.6. Teknik Pengambilan Data.

#### 3.6.1. Total Koloni Bakteri (SNI 2897:2008)

*Plate Count Agar (PCA)* sebanyak 25 gram dan disiapkan 1 liter aquades kemudian dilarutkan sampai homogen ditungku pemanas (*hotplate*) kemudian sterilisasi *autoklaf* 121°C selama 15 menit, selanjutnya didinginkan pada suhu 40

Telur yang diteliti diambil putih dan kuningnya. Masing-masing sampel dihomogenkan dengan menggunakan *mixer*. Siapkan tabung reaksi (lima tabung) berisi 9 ml BPW. Sampel yang telah homogen diencerkan secara seri dengan cara 1 ml sampel dihomogenkan pada tabung pertama ( $10^{-1}$ ) kemudian ambil 1 ml dari tabung reaksi tersebut dan homogenkan pada tabung kedua ( $10^{-2}$ ). Demikian seterusnya sampai tabung kelima ( $10^{-5}$ ) dan enam ( $10^{-6}$ )

Metode yang digunakan yaitu metode tuang dimana setelah melakukan pengenceran, sebanyak 1 ml larutan tersebut diinokulasi ke dalam cawan petri menggunakan pipet 1 ml. kemudian ke dalam cawan tersebut dimasukkan agar



#### 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.

steril yang telah didinginkan sampai 40°C sebanyak kira-kira 18-20 ml. Selama penuangan medium, tutup cawan tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk menghindari kontaminasi dari luar. Segera setelah penuangan, cawan petri digerakkan diatas meja secara hati-hati untuk menyebar sel-sel bakteri secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan, setelah agak memadat, cawan tersebut dapat diinkubasi di dalam inkubator dengan posisi terbalik. Jumlah bakteri yang dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah koloni} = \frac{1}{\text{Faktor pengencer} \times \text{Volume inoculum}} \text{ CFU/ g}$$

### 3.6.2. Uji *Coliform* (SNI 2897:2008)

Pada prinsipnya uji ini terdiri dari presuntif (penduga) dan uji konfirmasi (peneguhan), dengan menggunakan media cair didalam tabung reaksi dan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan timbulnya gas di dalam tabung Durham.

Uji penduga, telur yang diteliti diambil putih dan kuningnya. Masing-masing sampel dicampur dan ditimbang seberat 25-50 gram kemudian masukkan ke dalam wadah steril dan tambahkan 225 ml larutan BPW 0,1 % steril. Selanjutnya homogenkan keduanya menggunakan stomacher selama 1 menit sampai 2 menit, ini merupakan larutan pengencer 10<sup>-1</sup>. Suspensi dipindahkan dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW untuk mendapatkan larutan 10<sup>-2</sup>. Kemudian buatlah larutan 10<sup>-3</sup> dengan cara yang sama, pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengencer ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung durham. Kemudian inkubasikan pada temperatur 35°C selama 24 jam sampai 48 jam,



#### 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.

perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung durham dan hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

Uji peneguhan, pengujian selalu disertai dengan kontrol positif, kemudian pindahkan biakan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung BGLBB yang berisi tabung durham selanjutnya inkubasikan pada temperatur 35°C selama 24-48 jam. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung durham dan hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

### 3.6.3. Uji *Salmonella* sp. (SNI 2897-2008).

Pengujian *Salmonella* sp., dilakukan dengan menggunakan media selektif melalui empat tahap yaitu pra pengayaan (*pre-enrichment*), pengayaan (*enrichment*) kemudian dilanjutkan dengan uji seleksi dan uji biokimia. Tahap pra-pengayaan dilakukan dengan mempersiapkan sampel kulit telur ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 larutan LB steril, kemudian dihomogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Suspensi dipindahkan ke dalam *Erlenmeyer* atau wadah steril kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.

Tahap uji pengayaan dengan cara mengaduk perlahan biarkan pra-pengayaan kemudian diambil dan dipindahkan masing-masing 1 ml ke dalam media 10 ml TTB, 1 ml SCB. Medium TTB (*Tetratationat Broth*) dan SCB (*Selenite Cystine Broth*) diinkubasi pada temperatur 35°C selama 24 jam.



**3.7. Analisis Data**

Data penelitian yang diperoleh dalam penelitian ini, kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial kombinasi (4x3x2) menurut Steel & Torrie (1995). Model matematis rancangan menurut Steel & Torrie (1993) adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana :

$Y_{ijk}$  = nilai pengamatan pada faktor konsentrasi pada taraf ke-i, dan faktor lama penyimpanan pada taraf ke-j, dan ulangan ke-k.

$\mu$  = rata-rata nilai tengah

$\alpha_i$  = pengaruh faktor konsentrasi pada taraf ke-i

$\beta_j$  = pengaruh faktor lama penyimpanan pada taraf ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$  = pengaruh interaksi faktor konsentrasi pada taraf ke-i dan faktor lama penyimpanan pada taraf ke-j

$\epsilon_{ijk}$  = pengaruh galat dari faktor konsentrasi pada taraf ke-i dan faktor lama penyimpanan pada taraf ke-j dan ulangan ke-k.

Data analisis dengan menggunakan Analisis Sidik Ragam yang dapat dilihat pada Tabel 3.3.

- 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 mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Tabel 3.2. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
A	a-1	JKA	KTA	KTA/KTG	-	-
B	b-1	JKB	KTB	KTB/KTG	-	-
AB	(a-1)(b-1)	JKAB	KTAB	KTAB/KTG	-	-
Galat	ab (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	rab-1	JKT		-	-	-

Sumber : Steel dan Torrie (1995)

Keterangan :

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{Y_{...}^2}{r.a.b}$$

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

$$\text{Jumlah Kudrat Galat (JKG)} = JKT - JKP$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Faktor A (JKA)} = \frac{\sum Y_{ij}^2 - FK}{b.r}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Faktor B (JKB)} = \frac{\sum Y_{ij}^2 - FK}{a.r}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Interaksi Faktor A dan B JK(AB)} = JKP - JK(A) - JK(B)$$

$$KTA = JKA / (a-1)$$

$$KTB = JKB / (b-1)$$

$$KTAB = JKAB / ((a-1)(B-1))$$

$$KTG = JKB / rab-1$$

$$F \text{ hitung} = KTP / KTG$$

Bila hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata dilakukan uji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) (Steel n Torrie, 1995).

- 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.