

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan selama 12 hari, dimulai dari tanggal 09-21 September 2018, di Laboratorium IPA Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang.

#### **B. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: *autoklaf, backer glass, bunsen, cawan petri, colony counter, erlenmeyer, gelas ukur, glass objek, hotplate, strirer bar, inkubator, kulkas/ show case, mikroskop, pipet spatula, tabung reaksi, tempat telur.*

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: *Salmonella Shigela Agar (SSA)*, telur, tissue, kapas, aquadest steril, aluminium foil, untuk pewarnaan gram digunakan kristal violet, gram iodium (lugol), etil alkohol 70%, dan safranin.

#### **C. Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri pada setiap perlakuan, menurut (Sugitha, 2016), yaitu metode eksperimen dengan menggunakan (RAL) dengan dengan 2 faktor perlakuan yaitu:

1. Faktor pertama meliputi proses penyimpanan pada berbagai suhu yaitu suhu kamar ( $27^{\circ}\text{C}$ ), suhu kulkas ( $8^{\circ}\text{C}$ ), dan Freezer ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

2. Faktor yang kedua yaitu meliputi jangka waktu penyimpanan yang dimulai dari hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6, ke-7, ke-8, ke-9, ke-10, ke-11, ke-12 dengan ulangan sebanyak 3 kali ulangan.

RAL pada umumnya cocok digunakan untuk kondisi lingkungan, alat, bahan, dan media yang homogen. Kondisi ini hanya dicapai di ruang-ruang terkontrol seperti di Laboratorium dan rumah kaca (*green house*). Menurut Hanafiah (2016), adapun patokan jumlah ulangan dianggap telah baik bila memenuhi persamaan sebagai berikut :

$$t = 14$$

$$t (n-1) \geq 15$$

$$4 (n-1) \geq 15$$

$$4n - 15 \geq 19$$

$$4 = 19/4 = 5 \text{ kali ulangan}$$

**Keterangan :**

t = banyak perlakuan

n = banyak ulangan

**Tabel 3.2. Analisis Pengaruh Suhu Penyimpanan Pada Telur Ayam Ras Ditinjau Dari Jumlah *Salmonella sp***

Perlakuan Suhu (P)	Perlakuan (Hari)	Ulangan (U)					Jumlah	Rata-Rata
		U1	U2	U3	U4	U5		
Suhu Kamar (P1 27°C)	1	P1H1U1	P1H1U2	P1H1U3	P1H1U4	P1H1U5		
	4	P1H4U1	P1H4U2	P1H4U3	P1H4U4	P1H4U5		
	8	P1H8U1	P1H8U2	P1H8U3	P1H8U4	P1H8U5		
	14	P1H14U1	P1H14U2	P1H14U3	P1H14U4	P1H14U5		
Suhu kulkas (P2 8°C)	1	P2H1U1	P2H1U2	P2H1U3	P2H1U4	P2H1U5		
	4	P2H4U1	P2H4U2	P2H4U3	P2H4U4	P2H4U5		
	8	P2H8U1	P2H8U2	P2H8U3	P2H8U4	P2H8U5		
Freezer	14	P2H14U1	P2H14U2	P2H14U3	P2H14U4	P2H14U5		
	1	P3H1U1	P3H1U2	P3H1U3	P3H1U4	P3H1U5		
	4	P3H4U1	P3H4U2	P3H4U3	P3H4U4	P3H4U5		
	8	P3H8U1	P3H8U2	P3H8U3	P3H8U4	P3H8U5		
	12	P3H14U1	P3H14U2	P3H14U3	P3H14U4	P3H14U5		
<b>Jumlah Rata-rata</b>								

Keterangan

P : Perlakuan

U : Ulangan

#### D. Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati adalah keberadaan *Salmonella* sp yang terdapat pada telur yang disimpan pada suhu kamar dan suhu kulkas. Koloni bakteri yang dihitung pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) meliputi koloni yang tumbuh baik pada permukaan, bagian dalam dan bagian bawah. Jumlah bakteri dihitung dengan rumus (Jawet, 1996).

$$\text{Jumlah koloni} = \frac{1}{\text{Faktor pengenceran} \times \text{volume inokulum}} \text{ CFU / ml}$$

Keterangan:

CFU : *Colony Forming Units*

#### E. Analisis Data Penelitian

Pengumpulan data penelitian dilakukan dengan pengambilan data primer dan data sekunder. Data yang didapatkan akan ditabulasikan dan dianalisis secara deskriptif. Hasil yang didapatkan akan dibandingkan dengan SNI 7388-2009 terkait dengan Batas Maksimum Cemarkan Mikroba dalam Pangan untuk produk unggas yang telah ditentukan keberadaan bakteri *Salmonella* sp. yaitu harus negatif (per 25 g) (Jawet, 1996).

Analisis data yang digunakan adalah analisis deskriptif kuantitatif yaitu berupa angka atau data jumlah koloni bakteri ( Sugitha, 2016). Pengolahan

data dilakukan dengan menggunakan uji Anova (Uji F), setelah data hasil dari perhitungan bakteri diketahui barulah dilakukan uji ANOVA pada taraf signifikansi 95%. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan ANOVA (uji F) untuk menguji adanya efektivitas pengaruh suhu terhadap total bakteri *Salmonella* sp pada telur ayam ras yang disimpan pada suhu ruangan yang berbeda (Hanafiah, 2012).

Untuk menentukan adanya *Salmonella* sp Terhadap Telur yang di simpan Pada Suhu Kulkas dan Suhu Kamar, maka dilakukan dengan Uji F, yaitu dengan membandingkan F hitung dengan F tabel dengan ketentuan sebagai berikut :

1. Bila  $F_{hitung} > F_{5\%}$  maka  $H_1$  diterima pada taraf uji 5% artinya berbeda nyata = (*significant difference*). Hal ini ditunjukkan dengan menempatkan satu bintang (\*) pada nilai F hitung dalam sidik ragam.
2. Bila  $F_{hitung} < F_{5\%}$  maka  $H_0$  diterima pada taraf 5% artinya tidak berbeda nyata = (*non significant difference*). Hal ini ditunjukkan dengan menempatkan satu bintang (<sup>tn</sup>) pada nilai F hitung dalam sidik ragam.

## **F. Cara Kerja**

### **1. Pengambilan dan Pemeriksaan Telur**

#### **a) Pengambilan Dan Pemeriksaan Telur**

Telur yang digunakan dalam penelitian adalah telur ayam yang baru bertelur sebanyak 8 butir, sebelum diteliti telur terlebih dahulu dicuci. Penyimpanan telur selama 14 hari yang disimpan pada suhu kamar dan suhu kulkas, yang masing-masing berisi 4 sampel telur. 4

sampel telur ini diambil dan diteliti dengan 4 perlakuan dan 5 kali ulangan dengan faktor perlakuan suhu terhadap telur yang disimpan pada suhu yang berbeda dan mengamati bagian eksterior dan interior telur ayam ras (Saraswati, 2012).

**b) Pembuatan *Salmonella Shigella Agar* (SSA)**

Media SSA dibuat sebanyak 25,75 gram dan disiapkan ½ liter (500 ml) aquadest kemudian larutkan sampai homogen di tungku pemanas (*hotplate*), kemudian sterilisasi menggunakan *autoclaf* pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya didinginkan sampai suhu 40°C.

**c) Pengenceran Sampel**

Masing-masing telur yang diteliti diambil putih dan kuningnya. Masing-masing sampel dihomogenkan. Siapkan tabung reaksi (12 tabung) berisi 9 ml aquadest steril. Sampel yang telah homogen diencerkan secara seri dengan cara 9:1 ml sampel dihomogenkan pada tabung pertama ( $10^{-1}$ ) kemudian ambil 1 ml dari tabung tersebut dan homogenkan pada tabung ke dua ( $10^{-2}$ ) begitupun seterusnya (Howard, 1996).

**d) Inokulasi Sampel Pada Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA)**

Dalam penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode tuang dimana setelah melakukan pengenceran, sebanyak 1 ml larutan tersebut diinokulasikan ke dalam cawan petri menggunakan pipet 1 ml. Kemudian ke dalam cawan tersebut dimasukkan agar steril yang telah didinginkan sampai 40°C sebanyak kira-kira 18-20 ml. Selama penuangan media, tutup cawan tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk

menghindari kontaminasi dari luar. Segera setelah penuangan cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan angka 8, setelah agar memadat, cawan-cawan tersebut dapat diinkubasikan di dalam *incubator* dengan posisi terbaik. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam (Sudarmadji, 2003).

**e) Pewarnaan Bakteri**

Dari koloni yang terbentuk dilakukan pewarnaan Gram, adapun cara pewarnaan gram yaitu: pertama kaca objek dibersihkan dengan alkohol, diambil *Salmonella* sp yang diduga berada medium SSA, kemudian diletakkan di atas kaca objek dan dibiarkan sampai kering di udara, lalu fiksasi menggunakan bunsen. Setelah kering diberi larutan violet sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan  $\pm$  1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, kemudian diditetesi iodium lugol (Afifah, 2013).

**2. Cara Kerja Untuk Mengamati Parameter Bagian Interior Yang Mempengaruhi Kualitas Telur Ayam Ras**

Untuk mengetahui kualitas ini dengan memecahkan telur di atas meja atau wadah yang datar kemudian mengamati keadaan putih telur dan kuning telur apakah encer atau kental (Sudarmadji, 2003).

Hasil dari pengamatan dapat disajikan dalam bentuk tabel data sebagai berikut :

**Tabel 3.3 Bagian Interior Telur Ayam Ras**

Suhu	Hari	Putih Telur dan Kuning Telur	
		Kental	Encer
Kamar	1		
	4		
	8		
	12		
Kulkas (pintu lemari pendingin)	1		
	4		
	8		
	12		
Freezer	1		
	4		
	8		
	12		