

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dianalisis menggunakan metode diskriptif kuantitatif. Setiap perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan, pengamatan dilakukan tiap hari mulai hari ke-0, sampai hari ke-6, dengan rincian sebagai berikut:

Faktor Pertama : Konsentrasi perasan rimpang kunyit (F) 0%, 1%, 3%, 5%, 7%, dan 9%.

F_1 = Variasi konsentrasi perasan rimpang kunyit 0%

F_2 = Variasi konsentrasi perasan rimpang kunyit 1%

F_3 = Variasi konsentrasi perasan rimpang kunyit 3%

F_4 = Variasi konsentrasi perasan rimpang kunyit 5%

F_5 = Variasi konsentrasi perasan rimpang kunyit 7%

F_6 = Variasi konsentrasi perasan rimpang kunyit 9%

Faktor Kedua : Lama Perendaman (P) yang terdiri dari 6 hari

P_1 = Lama perendaman 1 hari (24 jam)

P_2 = Lama perendaman 2 hari (48 jam)

P_3 = Lama perendaman 3 hari (72 jam)

P_4 = Lama perendaman 4 hari (96 jam)

P_5 = Lama perendaman 5 hari (120 jam)

P_6 = Lama perendaman 6 hari (144 jam)

Dari kedua faktor tersebut dapat diperoleh kombinasi sebagai berikut:

$F_1 P_1$ = Variasi konsentrasi 0% dengan lama perendaman 1 hari

$F_1 P_2$ = Variasi konsentrasi 1% dengan lama perendaman 1 hari

$F_1 P_3$ = Variasi konsentrasi 3% dengan lama perendaman 1 hari

$F_1 P_4$ = Variasi konsentrasi 5% dengan lama perendaman 1 hari

$F_1 P_5$ = Variasi konsentrasi 7% dengan lama perendaman 1 hari

$F_1 P_6$ = Variasi konsentrasi 9% dengan lama perendaman 1 hari

$F_2 P_1$ = Variasi konsentrasi 0% dengan lama perendaman 2 hari

$F_2 P_2$ = Variasi konsentrasi 1% dengan lama perendaman 2 hari

$F_2 P_3$ = Variasi konsentrasi 3% dengan lama perendaman 2 hari

$F_2 P_4$ = Variasi konsentrasi 5% dengan lama perendaman 2 hari

$F_2 P_5$ = Variasi konsentrasi 7% dengan lama perendaman 2 hari

$F_2 P_6$ = Variasi konsentrasi 9% dengan lama perendaman 2 hari

$F_3 P_1$ = Variasi konsentrasi 0% dengan lama perendaman 3 hari

$F_3 P_2$ = Variasi konsentrasi 1% dengan lama perendaman 3 hari

$F_3 P_3$ = Variasi konsentrasi 3% dengan lama perendaman 3 hari

$F_3 P_4$ = Variasi konsentrasi 5% dengan lama perendaman 3 hari

$F_3 P_5$ = Variasi konsentrasi 7% dengan lama perendaman 3 hari

$F_3 P_6$ = Variasi konsentrasi 9% dengan lama perendaman 3 hari

$F_4 P_1$ = Variasi konsentrasi 0% dengan lama perendaman 4 hari

$F_4 P_2$ = Variasi konsentrasi 1% dengan lama perendaman 4 hari

$F_4 P_3$ = Variasi konsentrasi 3% dengan lama perendaman 4 hari

$F_4 P_4$ = Variasi konsentrasi 5% dengan lama perendaman 4 hari

$F_4 P_5$ = Variasi konsentrasi 7% dengan lama perendaman 4 hari

$F_4 P_6$ = Variasi konsentrasi 9% dengan lama perendaman 4 hari

$F_5 P_1$ = Variasi konsentrasi 0% dengan lama perendaman 5 hari

$F_5 P_2$ = Variasi konsentrasi 1% dengan lama perendaman 5 hari

$F_5 P_3$ = Variasi konsentrasi 3% dengan lama perendaman 5 hari

$F_5 P_4$ = Variasi konsentrasi 5% dengan lama perendaman 5 hari

$F_5 P_5$ = Variasi konsentrasi 7% dengan lama perendaman 5 hari

$F_5 P_6$ = Variasi konsentrasi 9% dengan lama perendaman 5 hari

$F_6 P_1$ = Variasi konsentrasi 0% dengan lama perendaman 6 hari

$F_6 P_2$ = Variasi konsentrasi 1% dengan lama perendaman 6 hari

$F_6 P_3$ = Variasi konsentrasi 3% dengan lama perendaman 6 hari

$F_6 P_4$ = Variasi konsentrasi 5% dengan lama perendaman 6 hari

$F_6 P_5$ = Variasi konsentrasi 7% dengan lama perendaman 6 hari

$F_6 P_6$ = Variasi konsentrasi 9% dengan lama perendaman 6 hari

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, pada bulan Juli s/d Agustus 2008.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel adalah perilaku atau karakteristik yang memberikan nilai beda terhadap suatu (benda, manusia, dll) ciri yang dimiliki oleh suatu anggota atau kelompok (Notoadmodjo, 2005). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini dibedakan menjadi tiga bagian yaitu:

1. Variabel Bebas

Variabel yang sengaja dibuat berbeda-beda dalam satu percobaan yaitu :

- a. Konsentrasi rimpang kunyit masing-masing: 0%, 1%, 3%, 5%, 7%, dan 9%, dan
- b. Lama perendaman 1 hari (24 jam), 2 hari (48 jam), 3 hari (72 jam), 4 hari (96 jam), 5 hari (120 jam), 6 hari (144 jam).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat, merupakan variabel yang terjadi karena perlakuan variabel bebas yaitu *E. coli* dan *Salmonella*.

3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol, merupakan variabel yang dibuat sama dalam suatu penelitian, yang meliputi: sterilisasi, suhu, media.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat-Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- | | |
|---------------------|-----------------|
| - blender | - cawan petri |
| - pisau | - gelas ukur |
| - gelas ukur 10/100 | - sikat pencuci |

- rak tabung reaksi
- labu ukur
- tabung reaksi
- sendok
- jarum spet
- elemenyer 250/500 ml
- beaker gelas
- kaca pengaduk
- termometer ruang
- gelas aquades
- jarum ose
- mikro-pipet
- vortex
- alumunium foil
- gelas arloji
- lampu spiritus
- timbangan analitik
- oven
- autoglave
- inkubator

3.4.2 Bahan-Bahan

- Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:
- Tahu segar (UKM tahu Guyup Rukun Lowokwaru, Kelurahan Kendalsari, kecamatan Lowokwaru, Kota Malang).
- Rimpang kunyit (diperoleh dari pasar Dinoyo).
- Nutrien Agar (NA), Lactose Broth (LB) (diperoleh dari Laboratorium Mikro-Biologi UIN Malang), untuk medium *E. coli*.
- *Salmonella Singgela Agar* (SS-Agar) (diperoleh dari Laboratorium Biologi UMM Malang), untuk medium *Salmonella*.
- Aquades, kain kasa, alkohol 70%, kapas (diperoleh dari Laboratorium PANADIA Coorporation, Malang).
- Kertas label, tissue, plastik bungkus, karet (diperoleh dari Sardo Swalayan, Malang).

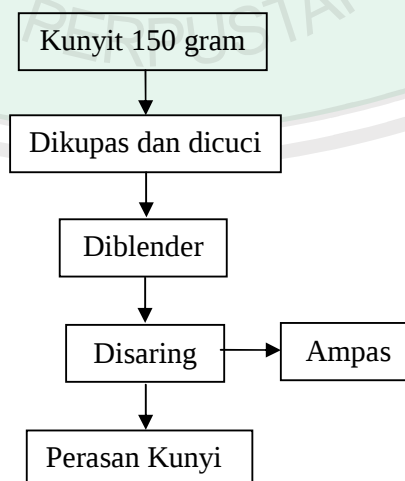
3.5 Cara Kerja Penelitian

3.5.1 Sterilisasi

Sterilisasi dalam mikroorganisme berarti membebaskan tiap benda atau substansi dari semua kehidupan dalam bentuk apapun (Irianto, 2006). Sterilisasi alat yang akan digunakan sebelum semua peralatan digunakan yaitu dengan cara membungkus semua peralatan menggunakan kertas, kemudian dimasukkan kedalam plastik, seperti cawan petri, tabung reaksi, lalu dimasukkan ke dalam autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psc (per square inci) selama kurang lebih 15 menit. Untuk alat yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan zat kimia berupa alkohol 70% (Utami, 2004).

3.5.2 Preparasi Rimpang Kunyit

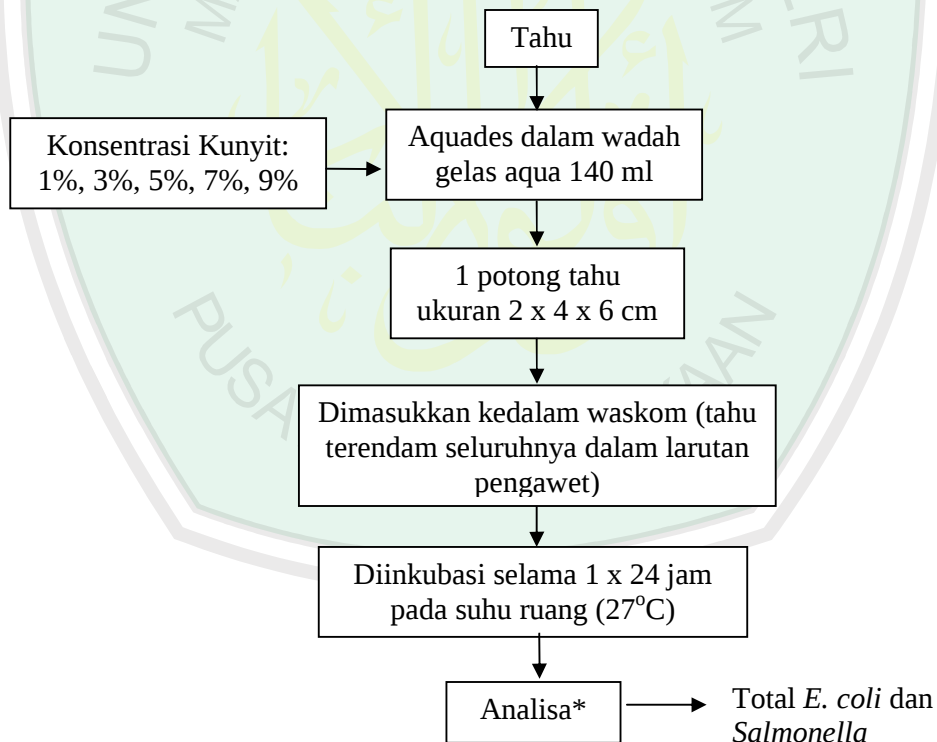
- Mempersiapkan bahan dan alat pembuatan perasan rimpang kunyit, seperti: blender, pisau, rimpang kunyit dan aquades steril.
- Rimpang kunyit dikupas, dipotong-potong kemudian dicuci dengan air mengalir dan dihaluskan dengan cara di blender.
- Kemudian diperas dan disaring dengan alat saring / kertas saring



Gambar 3. 1 Diagram Alir Proses Pembuatan Perasan Rimpang Kunyit

3.5.3 Pengujian Perasan Rimpang Kunyit Terhadap Bakteri Uji

- Pengambilan konsentrasi perasan kunyit 0%, 1%, 3%, 5%, 7%, dan 9%.
- Dimasukkan tahu ke dalam gelas aqua, dengan ukuran (2 x 4 x 6 cm), yang telah terisi air perlakuan sebanyak 140 ml.
- Ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet gelang.
- Diinkubasi pada suhu ruang (27°C)
- Pengamatan diamati tiap hari, mulai hari ke-0 sampai hari ke 6, dan
- Dilakukan penumbuhan bakteri *E. coli* (NA) dan *Salmonella* (LB SS-Agar).

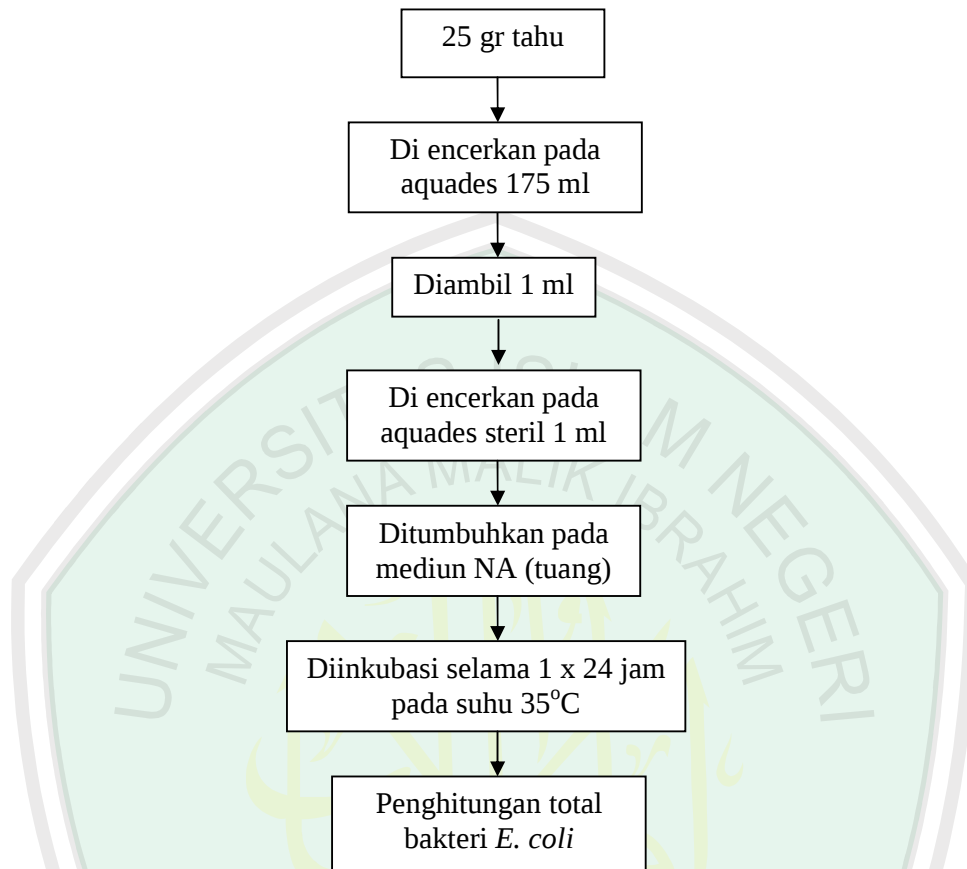


Keterangan: * analisa dilakukan setiap hari selama 6 hari, dimulai pada hari ke-0.

Gambar 3.2 Diagram Alir Proses Perlakuan (pengawetan) Terhadap Bakteri Uji.

3.5.4 Penumbuhan Bakteri *E. coli* (metode tuang / "pour plat")

- a. Menimbang sampel tahu yang dilakukan perlakuan (25 gram).
- b. Dimasukkan kedalam blander yang ditambahkan aquades steril 175 ml.
- c. Diblander selama 5 menit (tahu berubah menjadi bubur).
- d. Diambil sampel dengan mikro-pipet steril (1 ml).
- e. Dilakukan pengenceran terhadap sampel caranya ialah: pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} diperoleh dengan memasukkan 1 ml sampel kedalam 9 ml aquades steril.
- f. Kemudian di vortex (agar homogen).
- g. Diinokulasikan sebanyak 1 ml hasil pengenceran kedalam cawan petri kemudian media NA dituangkan.
- h. Diratakan dengan cara memutar-mutar cawan diatas meja sebanyak 5 kali.
- i. Diinkubasi pada suhu 35°C selama 1 x 24 jam.
- j. Mengamati koloni yang tumbuh, dan menghitung jumlahnya. Perhitungan yang dianggap benar hanya pada cawan yang terdapat 30-300 cfu.
- k. Dihitung total mikroba/ml sampel dengan rumus:
Jumlah koloni X 1/pengenceran (cfu)

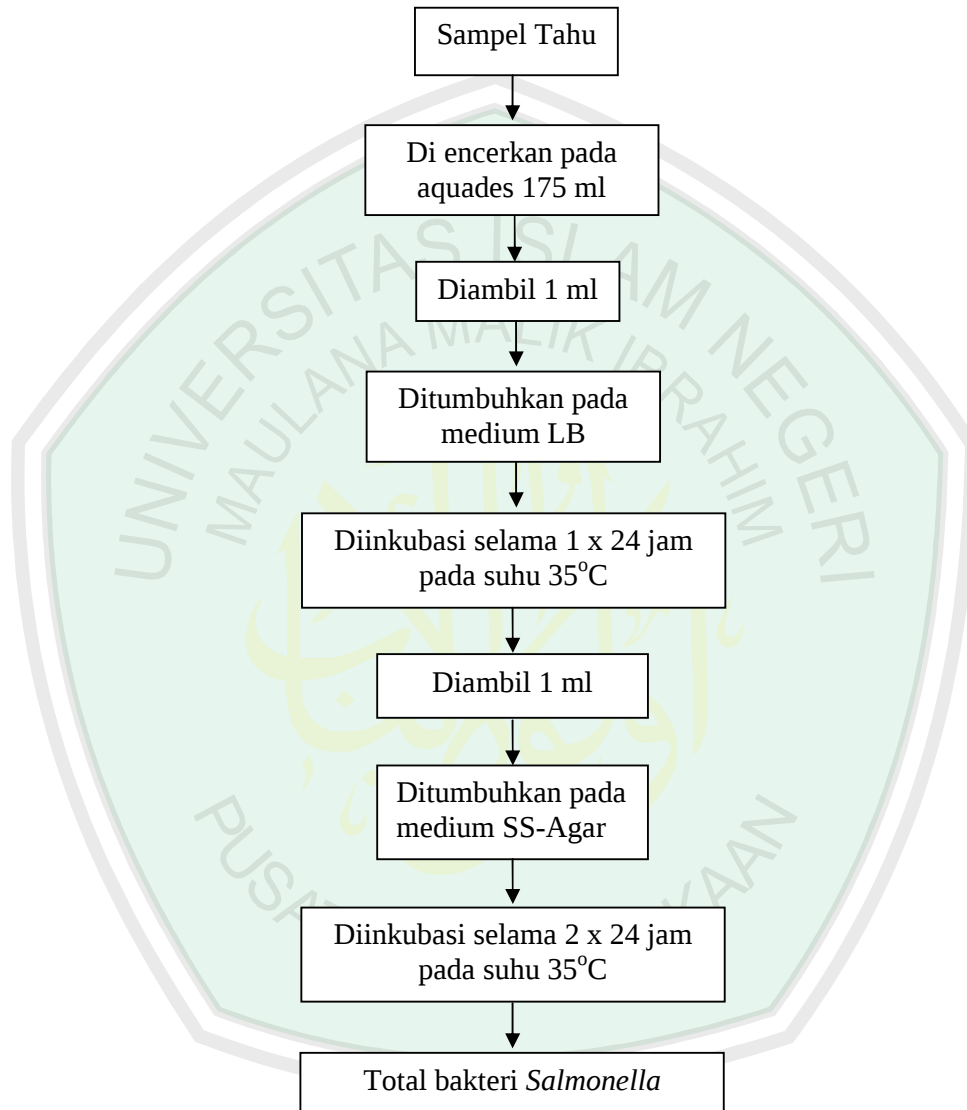


Gambar 3.3 Diagram Alir Penghitungan Bakteri *E. Coli*

3.5.5 Penumbuhan Bakteri *Salmonella* (metode tuang / "pour plat")

- Menimbang sampel tahu yang dilakukan perlakuan (25 gram).
- Dimasukkan kedalam blander yang ditambahkan aquades steril 175 ml.
- Diblander selama 5 menit (tahu berubah menjadi bubur).
- Diambil sampel dengan mikro-pipet steril (1 ml).
- Dilakukan pengenceran terhadap sampel yaitu: pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} diperoleh dengan memasukkan 1 ml sampel kedalam 9 ml ke media LB.
- Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 1 x 24 jam.
- Ditumbuhkan kedalam cawan petri Dengan media SS-Agar.

- h. Diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 x 24 jam.
- i. Dihitung total bakteri *salmonella*.



Gambar 3.4 Skematis isolasi dan Penumbuhan Bakteri *Salmonella*

3.6 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terdapat beberapa tahap yaitu:

1. Pengamatan mikrobiologi meliputi:
 - a. Uji pendahuluan
 - b. Total bakteri *E. coli* (cfu), dan
 - c. *Salmonella*

3.7 Analisa Data

Analisis kualitas dari perendaman tahu dengan bahan pengawet perasan rimpang kunyit dapat diketahui dengan total bakteri dengan metode cawan. Data hasil pengamatan dianalisa dengan menggunakan ANAVA (*Tabel Analisa Ragam*) yang diolah dengan menggunakan SPSS. Hasil uji menunjukkan adanya pengaruh, maka dilakukan uji lanjut Uji Jarak Duncan (UJD).