

## **BAB III. METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan, yaitu pada bulan Januari sampai Februari 2018 yang bertempat di Kecamatan Pujon Kabupaten Malang dan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.

### **3.2 Materi dan Alat**

#### **3.2.1 Materi Penelitian**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah urin dari ternak sapi potong, berikut ini adalah kriteria ternak yang akan diambil urinnya:

1. Sampel urin sapi potong masing – masing sebanyak 500 ml.
2. Umur ternak yang akan diambil urinnya sekitar 1 – 2 tahun.
3. Jenis sapi potong adalah berjenis limousin
4. Jenis kelamin ternak pejantan dari peternakan yang sama.
5. Jenis pakan yang digunakan seragam.

#### **3.2.1 Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah desinfektan, urin sapi potong, sumber energi (*molases*, air kelapa, air cucian beras) dan EM4 sebagai bioaktivator.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah penampungan urin, botol bekas, penyaring, plastik, thermometer, pH meter, peralatan laboratorium untuk mendeteksi mikroba kontaminan (*Escherchia coli* dan *Salmonella*).

### 3.3 Batasan Variabel dan Cara Pengamatan

#### 3.3.1 Batasan variabel

Batasan variabel ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel bebas adalah jenis sumber energi
2. Variabel terikat adalah nilai pH dan jumlah bakteri (*Escherchia coli* dan *Salmonella*).

#### 3.3.2 Cara Pengamatan

##### A. Nilai pH

Cara untuk mengukur nilai pH pada urin yang telah difermentasi adalah sebagai berikut:

1. Memasukkan larutan sampel pada gelas ukur.
2. Menghidupkan pH meter
3. Melakukan kalibrasi terlebih dahulu.
4. Mengujikan pada sampel

##### B. Bakteri (*Escherchia coli* dan *Salmonella*)

Menurut SNI, (2008) cara untuk mengetahui jumlah bakteri salah satunya yaitu dengan metode *Most Probable Number* (MPN) terdiri dari uji presumtif (penduga) dan uji konfirmasi (peneguhan), dengan menggunakan media cair di dalam tabung reaksi dan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan timbulnya gas di dalam tabung Durham. Berikut ini adalah cara ujinya:

**a. Uji Pendugaan**

1. Pindahkan 1 ml larutan pengenceran 10-1 tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW 0,1 % untuk mendapatkan pengenceran 10-2. Dengan cara yang sama seperti di atas dibuat pengenceran 10-3.
2. Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung Durham.
3. Inkubasi pada temperatur 35 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam.
4. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung Durham. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

**b. Uji Peneguhan**

1. Pengujian selalu disertai dengan kontrol positif.
2. Pindahkan biakan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung *LSTB* ke dalam tabung *BGLBB* yang berisi tabung *Durham*.
3. Inkubasikan pada temperatur 35 °C selama 48 jam ± 2 jam.
4. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *Durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.
5. selanjutnya gunakan tabel *Most Probable Number* (MPN) untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung BGLBB yang positif sebagai jumlah

koliform per ml.

### c. Interpretasi Hasil

Banyaknya koliform yang terdapat dalam contoh uji diinterpretasikan dengan mencocokkan kombinasi jumlah tabung yang memperlihatkan hasil positif, berdasarkan tabel nilai MPN. Kombinasi yang diambil, dimulai dari pengenceran tertinggi yang masih menghasilkan semua tabung positif, sedangkan pada pengenceran berikutnya terdapat tabung yang negatif. Kombinasi yang diambil terdiri dari tiga pengenceran. Nilai MPN contoh dihitung sebagai berikut:

$$\text{MPN/ml} = \frac{\text{Nilai MPN Tabel}}{100} \times \text{faktor pengenceran ditengah}$$

### 3.4 Metode Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan metode percobaan atau *eksperimen*. Metode penelitian *eksperimen* adalah suatu cara untuk mencari hubungan sebab akibat (hubungan kausal) pada penelitian yaitu antara penggunaan berbagai jenis sumber energi (*molases*, air kelapa, air cucian beras) terhadap nilai pH dan jumlah bakteri (*Escherchia coli* dan *Salmonella*) biourin sapi potong.

#### 3.4.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Rancangan Acak Kelompok merupakan suatu rancangan acak yang dilakukan dengan mengelompokkan satuan percobaan ke dalam grup-grup yang homogen yang dinamakan kelompok dan kemudian menentukan perlakuan secara acak di dalam masing-masing kelompok

Model matematik pada Rancangan Acak Kelompok adalah

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \varepsilon_{ij} ; i = 1, 2, 3 \dots t$$

$$j = 1, 2, 3 \dots r$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke  $i$  dan ulangan ke  $j$

$\mu$  = nilai tengah umum

$T_i$  = pengaruh perlakuan ke- $i$

$B_j$  = pengaruh blok ke- $j$

$\epsilon_{ij}$  = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$

### 3.4.2 Perlakuan Percobaan

Perlakuan percobaan pada penelitian ini adalah penggunaan berbagai jenis sumber energi (*molasses*, air kelapa, air cucian beras) dengan bioaktivator mikroorganisme Em4 dengan 5 perlakuan dengan 3 ulangan, sedangkan kontrol yang digunakan adalah pemberian *molasses*, berikut adalah perlakuan dalam penelitian ini :

P1 = (Molasses 10 %)

P2 = (Air Kelapa 10 %)

P3 = (Air Cucian Beras 10 %)

P4 = (Air Kelapa 20 %)

P5 = (Air Cucian Beras 20 %)

### 3.4.3 Tabulasi Data

Tabel 3. Tabulasi Data

Perlakuan	Ulangan			Jumlah $Y_i.$	Rataan
	U1	U2	U3		
P1	P1U1			Y1.	
P2		P2U2		Y2.	
P3			P3U3	Y3.	
P4				Y4.	
P5				Y5.	

Jumlah (Y <sub>j</sub> )	Y.1	Y.2	Y.3	Y..
--------------------------	-----	-----	-----	-----

### 3.5 Metode Analisis Data

Metode analisis data pada penelitian ini menggunakan Anova. Jika hasil analisis berpengaruh atau beda nyata maka akan dilanjutkan dengan uji lanjutan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dan Uji BNT. Uji ini cukup rumit jika dibandingkan dengan uji lainnya. Dalam uji DMRT atribut yang diperlukan adalah 1) data rata-rata perlakuan, 2) taraf nyata, 3) jumlah perlakuan, 4) derajat bebas (db) galat, dan 5) tabel Duncan untuk menentukan nilai kritis uji perbandingan.

Tabel 4. Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Variansi	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel
Ulangan	$i - 1$	JKU	$JKU/(dbU)$	KTU/KTG	0,05
Perlakuan	$j - 1$	JKP	$JKP/(dbP)$	KTP/KTG	0,01
Galat	$ij - (i+j) + 1$	JKG	$JKG/(dbG)$		
Total	$ij - 1$	JKT			

### 3.6 Pelaksanaan

#### 3.6.1 Persiapan

Tahap persiapan dalam penelitian ini adalah mencari Laboratorium yang akan digunakan sebagai tempat analisa data pada sampel penelitian. Tahap selanjutnya adalah menyiapkan alat dalam pengambilan dan pembuatan biourin antara lain tempat penampungan urin, kain penyaring, botol bekas dan label nama, serta persiapan dalam bahan pembuatan pupuk cair organik seperti air cucian beras, molasses, air kelapa dan bakteri starter dari Em4. Tahap selanjutnya adalah mencari peternak yang memiliki ternak sapi pedaging dengan jenis dan umur

ternak dan pemberian pakan yang seragam pada peternakan yang terdapat di Kecamatan Bumiaji Kota Batu.

### 3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

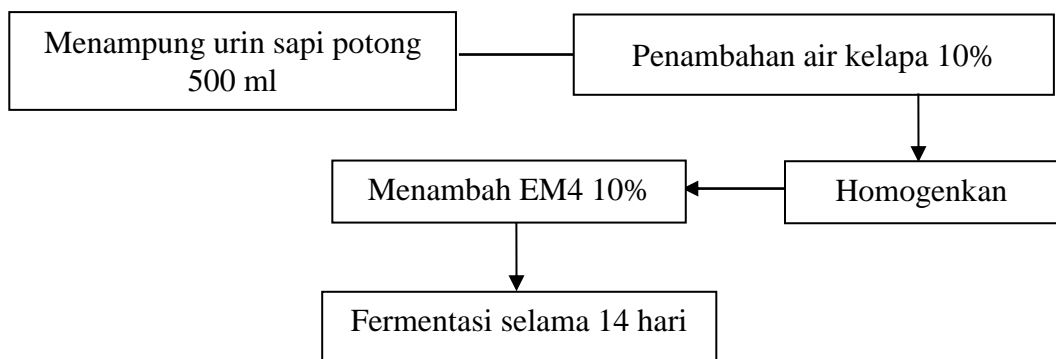
Adapun proses pembuatan sampel biourin dari urin sapi potong dengan menambahkan berbagai jenis sumber energi adalah sebagai berikut:

#### A. Pembuatan biourin dari sumber energi (*Molases* 10%)



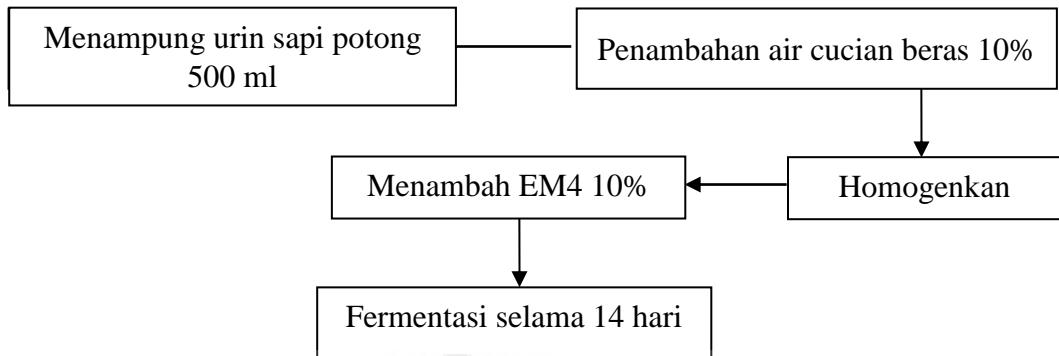
Gambar 1. Alur Pembuatan Biourin Dari *Molases* 10%

#### B. Pembuatan biourin dari sumber energi (Air kelapa 10%)



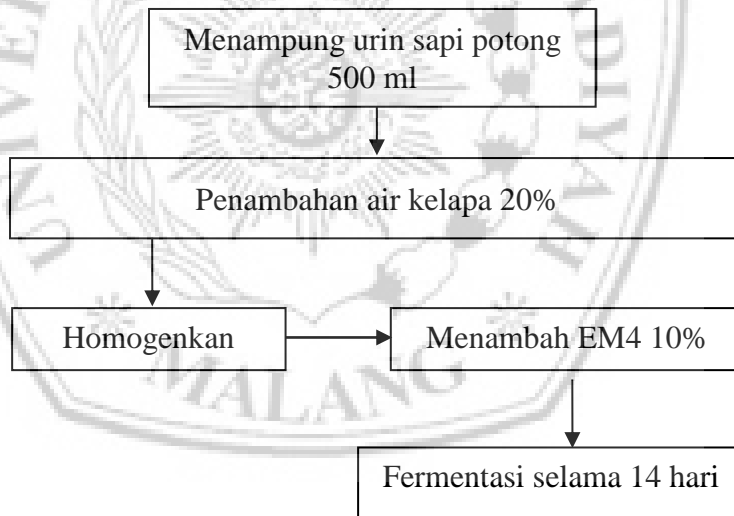
Gambar 2. Alur Pembuatan Biourin Dari Air Kelapa 10%

C. Pembuatan biourin dari sumber energi (Air cucian beras 10%)



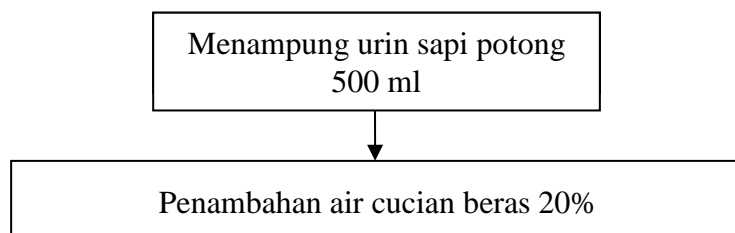
Gambar 3. Alur Pembuatan Biourin dari Air Cucian Beras 10%

D. Pembuatan biourin dari sumber energi (Air kelapa 20%)

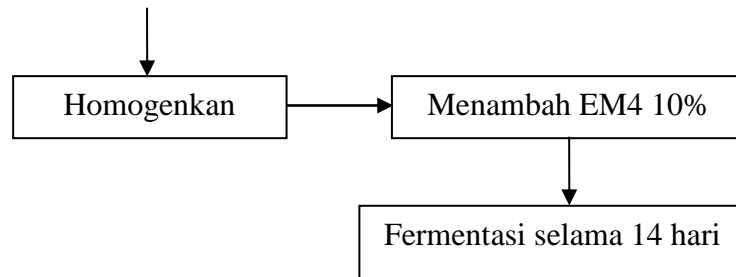


Gambar 4. Alur Pembuatan Biourin Dari Air Kelapa 20%

E. Pembuatan biourin dari sumber energi (Air cucian beras 20%)







Gambar 5. Alur Pembuatan Biourin Dari Air Cucian Beras 20%

Berikut penjelasan tahapan pelaksanaan penelitian pembuatan biourine:

1. Menampung urin ternak.

Proses pertama yaitu penampungan urin ternak sapi potong, proses ini cukup sederhana namun harus dilakukan dengan hati-hati karena dapat membahayakan jika sapi tersebut mengamuk.

Proses penampungan urin ini menggunakan bantuan timba air sebagai wadah karena memiliki penampang lubang yang lebar. Jika di dalam urin tersebut terdapat campuran feses dari sapi maka langkah selanjutnya adalah menyaring dengan saringan supaya mendapatkan urin yang murni dan bersih.

2. Memasukkan ke dalam botol

Langkah kedua adalah menuangkan urine dari dalam timba air ke dalam botol tempat fermentasi yang akan digunakan. Jumlah urin yang akan digunakan dalam proses fermentasi yaitu 500 ml.

3. Menambahkan sumber energi

Sumber energi yang akan ditambahkan ke dalam botol yang berisi urin sebanyak 500 ml antara lain (*molasses*, air cucian beras dan air kelapa). Penambahan sumber energi pada urin tersebut bertujuan sebagai sumber makanan dari mikroorganismenya yang akan dimasukkan ke dalam botol.

#### 4. Menambahkan bioaktivator

Bioaktivator merupakan mikroorganismenya hidup yang dapat bekerja menguraikan ikatan-ikatan yang terkandung dalam urin sehingga dapat menjaga pH terjaga dan bakteri yang terdapat pada urin bisa tumbuh dengan baik dalam urine ternak sapi potong tersebut dengan bantuan sumber energi yang telah ditambahkan sebelumnya.

#### 5. Mencampur semua bahan dalam botol (homogen)

Bahan-bahan yang telah tercampur di dalam botol dihomogenkan yang bertujuan untuk meratakan sumber energi serta mikroorganismenya dari bioaktivator yang telah dimasukkan ke dalam botol pada tahapan-tahapan sebelumnya.

#### 6. Fermentasi

Tahap utama dari penelitian ini adalah fermentasi, pada proses fermentasi urin menjadi biourin memerlukan waktu selama 14 hari dengan pengontrolan suhu dan pH yang bertujuan untuk mengetahui perkembangan mikroorganismenya yang terdapat pada setiap sampel. Menurut penelitian Soleh (2012), pupuk cair sudah dapat digunakan setelah melalui beberapa proses selama 14 hari dengan indikator bau ureum pada urin sudah berkurang atau hilang. Proses fermentasi yang dilakukan dengan menambahkan agens hayati sebanyak 2% .

Metode yang digunakan dalam proses fermentasi yaitu kedap udara atau secara *anaerob* dengan bantuan botol yang telah ditutup sehingga udara tidak dapat keluar maupun masuk ke dalam botol yang telah terisi urine tersebut.

### 3.6.3 Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan setelah proses fermentasi berakhir yaitu dengan mengambil sampel dengan jumlah sesuai kebutuhan uji analisis di Laboratorium yang akan digunakan, analisis data penentuan nilai pH dan jumlah bakteri (*Escherchia coli* dan *Salmonella*) biourin sapi potong yang akan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Malang. Pada proses pengambilan sampel yaitu urin akan dikontrol suhu dan pH dengan tujuan agar mengetahui perkembangan mikroorganismenya dan untuk menentukan pH dan suhu yang ideal untuk proses fermentasi.

### 3.7 Jadwal

Tabel 5. Jadwal Pelaksanaan Penelitian Selama 2 Bulan

Urutan Kegiatan	Bulan												
	Desember				Januari				Februari				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Penyusunan Proposal			X	X	X								
Seminar Proposal						X							
Persiapan Alat dan Bahan				X	X								
Pelaksanaan Penelitian							X	X					
Pengumpulan Data										X			
Analisa Data										X	X	X	