

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 3 November – 3 Desember 2019 di Kelompok Tani Ternak Bumi Lestari, Kecamatan Ngablak, Kabupaten Magelang. Penelitian dilakukan selama 30 (tiga puluh) hari dengan melakukan *teat dipping* setelah pemerahan selama 10 detik setiap pagi dan sore hari. Analisis kandungan fitokimia ekstrak daun kelor dilakukan pada tanggal 22 November 2019 di Balai Penelitian Mutu dan Keamanan Pangan, Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang. Analisis pengujian reduktase dan alkohol dilakukan pada tanggal 5 Desember 2019 serta pengujian organoleptik pada tanggal 8 Desember 2019 di Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah 16 ekor sapi perah *Friesian Holstein* (FH) dengan periode II – V dan bulan laktasi 3 – 5 bulan. Bahan yang digunakan yaitu larutan antiseptik ekstrak daun kelor (*Moringa oliefera*), *aquades*, alkohol 70%, dan *methylene blue*. Peralatan yang digunakan yaitu timbangan, botol kaca steril, botol plastik, *teat dipper*, *cooling box*, tabung reaksi, inkubator, dan *thermometer*.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini meliputi empat tahap antara lain penentuan rancangan percobaan, tahap pra-penelitian, tahap pengambilan data serta tahap analisis data.

3.2.1 Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu RAL dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu:

T0 = Tanpa perlakuan (kontrol)

T1 = *teat dipping* dengan antiseptik ekstrak daun kelor 0,5% (b/v)

T2 = *teat dipping* dengan antiseptik ekstrak daun kelor 1% (b/v)

T3 = *teat dipping* dengan antiseptik ekstrak daun kelor 1,5% (b/v)

Penelitian dilakukan selama 30 (tiga puluh) hari dengan melakukan *teat dipping* setelah pemerahan selama 10 detik setiap pagi dan sore hari.

3.2.2 Tahap pra penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu tahap pertama pembuatan ekstrak daun kelor. Daun kelor kering didapatkan dari Kabupaten Sragen. Pembuatan ekstrak menggunakan metode ekstraksi maserasi menggunakan etanol 96% yaitu dengan cara daun kelor kering digiling hingga menjadi tepung kemudian sebanyak 300 g tepung daun kelor dimaserasi dengan larutan etanol sebanyak 5 liter, kemudian diaduk selama 1 jam dan didiamkan selama 24 jam. Larutan disaring setelah 24 jam perendaman, kemudian dilakukan maserasi atau perendaman kembali sebanyak 5 kali pengulangan. Hasil maserasi yang telah

disaring berupa filtrat kemudian dilakukan evaporasi atau penguapan etanol menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak daun kelor. Ekstrak tersebut dilarutkan ke dalam pelarut *aquades* dan *glyserin* hingga menghasilkan konsentrasi larutan 0,5%, 1%, dan 1,5%.

Tahap selanjutnya yaitu pengambilan data awal seperti lingkaran dada, pendugaan bobot badan, pengecekan umur, pengambilan sampel susu sebanyak 100 ml dari tiap sapi untuk dilakukan uji reduktase dan uji alkohol serta 600 ml untuk uji organoleptik serta pengujian fitokimia pada ekstrak daun kelor yang hasilnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kelor

Fitokimia	Hasil Kuantitatif
Flavonoid (mg/100g)	707,826
Tanin (g/100g)	5,258
Phenol (%)	3,202
Alkaloid (%)	9,667
Saponin (%)	0,267

3.3. Perlakuan dan Pengambilan Data

Perlakuan yang diterapkan adalah pemberian *teat dipping* dengan ekstrak daun kelor pada perlakuan dengan konsentrasi 0,5% (T1), konsentrasi 1% (T2), konsentrasi 1,5% (T3) serta tanpa perlakuan atau kontrol (T0). Tahap ini membutuhkan waktu selama 30 hari yang setiap harinya pagi dan sore dilakukan pemberian *teat dipping* setelah pemerahan. Pengambilan sampel susu sebanyak 50 ml/ekor untuk uji reduktase dan alkohol serta 600 ml/ekor untuk uji organoleptik dilakukan pada hari-0 (H0) dan hari-30 (H30) setelah perlakuan *dipping* selama

penelitian. Sampel disimpan sementara dalam *cooling box* kemudian dipindahkan ke dalam *freezer* dan dilakukan analisis setelah kegiatan penelitian.

3.3.1 Uji reduktase

Uji reduktase yaitu berasal dari pengambilan sampel hari ke-0 dan hari ke-30. Kualitas mikrobiologi susu dalam memperkirakan jumlah bakteri yang terdapat di dalam susu menggunakan *methylene blue*. Prinsip uji reduktase yaitu tereduksinya *methylene blue* menjadi putih/*methylene white* akibat enzim yang dihasilkan oleh bakteri dari reaksi oksidasi-reduksi (Afrila dan Windari, 2010). Susu segar yang dibekukan di dalam *freezer* di *thawing* dengan suhu air normal. Tabung reaksi diisi dengan susu sebanyak 10 ml kemudian ditambahkan 1 tetes *methylene blue* dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator. Setiap 30 menit sekali dilakukan pemeriksaan perubahan warna dari biru hingga menjadi putih kembali. Perkiraan jumlah cemaran bakteri dapat ditentukan berdasarkan waktu dalam mereduksi *methylene blue* berdasarkan Utami *et al.* (2014) ditentukan sebagai berikut:

>5 jam	: 500.000 Cfu/ml
>2 – 5 jam	: 500.000 – 4.000.000 Cfu/ml
2 jam – 20 menit	: 4.000.000 - 20.000.000 Cfu/ml
<20 menit	: >20.000.000 Cfu/ml

3.3.2 Uji alkohol

Uji alkohol yaitu berasal dari pengambilan sampel hari ke-0 dan hari ke-30. Prinsip uji alkohol yaitu pecahnya susu karena melemahnya ikatan mantel air dengan kasein akibat tingginya aktivitas bakteri dalam susu. Susu segar yang dibekukan di dalam *freezer* di *thawing* dengan suhu air normal. Pengujian dilakukan dengan perbandingan 1:1 yaitu susu sebanyak 5 ml dituangkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml alkohol 70%, kemudian tabung dikocok perlahan-lahan (Arjadi *et al.*, 2017). Uji alkohol positif ditandai dengan adanya butiran susu yang melekat pada dinding tabung reaksi, sedangkan uji alkohol negatif ditandai dengan tidak adanya butiran susu yang melekat pada dinding tabung reaksi. Hasil uji alkohol ditransformasi dalam bentuk angka dengan hasil negatif = 1 dan positif = 0.

3.3.3 Uji organoleptik

Sampel susu yang diambil untuk uji organoleptik yaitu sebanyak 600 ml per sapi pada hari ke-0 (H0) dan hari ke-30 (H30) kemudian diletakkan ke dalam *cooling box* dan dianalisis dengan uji secara organoleptik meliputi warna, aroma, dan rasa. Uji organoleptik dilakukan dengan cara uji skoring dan uji hendonik dengan panelis sebanyak 31 panelis semi terlatih dari mahasiswa Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang menyukai susu. Panelis diminta untuk melakukan penilaian dalam bentuk skor di lembar uji hendonik yang meliputi warna, aroma, rasa, tingkat kesukaan susu, dan pembanding susu.

Pasteurisasi pada susu dilakukan terlebih dahulu dengan suhu 60-70°C selama 30 menit sebelum pelaksanaan pengujian (Miskiyah, 2011).

3.3.3.1. Warna. Uji warna dilakukan dengan sampel susu sebanyak 20 ml dimasukkan ke dalam gelas kecil, kemudian dilihat dengan latar belakang putih. warna susu diamati dan kelainan pada warna susu. Warna pada susu diberi 4 skor yaitu: 1 = Putih kemerahan, 2 = Putih kehijauan, 3 = Putih, dan 4 = Putih kekuningan.

3.3.3.2. Aroma. Uji aroma dilakukan dengan menggunakan indra penciuman, kemudian menilai aroma dan kelainan pada susu. Aroma pada susu diberi 4 skor yaitu: 1 = Beraroma lain, 2 = Asam, 3 = Tidak beraroma, dan 4 = Khas susu.

3.3.3.3. Rasa. Uji rasa dilakukan dengan sampel susu sebanyak 20 ml dimasukkan ke dalam gelas kecil, kemudian dilakukan pencicipan dengan indra perasa. Diamati rasa susu dan kelainan pada susu. Rasa pada susu diberi 5 skor yaitu: 1 = Plain, 2 = Asam, 3 = Asin, 4 = Manis, dan 5 = Gurih.

3.3.3.4. Tingkat kesukaan. Pengujian tingkat kesukaan oleh panelis semi terlatih dengan penilaian penerimaan keseluruhan uji organoleptik (warna, aroma, dan rasa) dari setiap perlakuan. Skor tingkat kesukaan pada uji hendonik yaitu: 1 = Suka dan 2 = Tidak suka.

3.4. Analisis Data

Model statistik menggunakan RAL adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

Y_{ij} : Hasil pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ : Nilai tengah umum (rata-rata populasi) hasil pengamatan

τ_i : Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} : Pengaruh aditif dari galat percobaan yang mendapatkan perlakuan ke-i ulangan ke-j

3.4.1 Hipotesis statistik

$H_0 : \tau_i = 0$; Tidak ada pengaruh perlakuan terhadap angka reduktase, kualitas fisik, dan organoleptik susu

$H_1 : \tau_i \neq 0$; Minimal terdapat 1 perlakuan yang mempengaruhi angka reduktase, kualitas fisik, dan organoleptik susu

Data yang diperoleh diolah menggunakan analisis statistik parametrik untuk angka reduktase yaitu dengan uji Anova pada taraf 5% dan apabila terdapat pengaruh signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan. Uji T digunakan untuk membandingkan pengamatan pada hari pertama dan pengamatan di hari terakhir perlakuan. Perhitungan persentase kenaikan angka reduktase dan uji alkohol dihitung dengan cara menghitung selisih dan dipersentasekan, kemudian hasil tersebut dibahas secara deskriptif.

Data uji alkohol dan organoleptik diolah dengan analisis statistik non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Wilcoxon. Uji beda menggunakan Wilcoxon untuk membandingkan pengamatan pada hari pertama dan pengamatan di hari terakhir perlakuan. Semua proses perhitungan menggunakan paket statistik SPSS 19.

3.4.2 Kriteria pengujian

Statistik Parametrik :

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

Jika $P \leq 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima serta dilanjutkan dengan uji beda Duncan

Satistik Non Parametrik :

Jika $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

Jika $P \leq 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima serta dilanjutkan dengan uji pembandingan Wilcoxon