

III. MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan silase ampas tebu dan indigofera telah dilaksanakan di Laboratorium Agrostologi, Industri Pakan dan Ilmu Tanah, kemudian dilanjutkan dengan analisis proksimat di Laboratorium Kimia Hasil Perikanan Universitas Riau dan Laboratorium Kimia dan Ilmu Nutrisi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2016.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah ampas tebu (AT), yang terdapat di sekitar Kecamatan Tampan, Panam, Pekanbaru dan biomassa indigofera (*Indigofera zollingeriana*) (IZ) berasal dari kebun percobaan Laboratorium Agrostologi, Industri Pakan dan Ilmu Tanah UIN Suska Riau serta probiotik sebagai aditif. Bahan untuk analisis proksimat adalah *aquadest*, HCl, K₃SO₄, MgSO₄, NaOH, H₃BO₄, *eter*, *benzena*, CCl₄ dan ditambah dengan pelarut.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan untuk proses pembuatan silase ampas tebu adalah mesin pencacah (*chopper*), plastik, tali pengikat, timbangan, baskom dan sendok pengaduk serta alat tulis. Alat untuk analisis proksimat adalah pemanas, *kjeltec*, *soxtec*, *fibertec*, gelas piala 300 ml, pipet gondok, kertas saring, tanur listrik, tang *crusible* dan alat destilasi lengkap dengan *erlenmeyer*.

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

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan

Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 4 ulangan.

Perlakuan terdiri dari :

P ₁	= 100% ampas tebu + 0% biomassa indigofera + 1,95ml probiotik (kontrol 1)
P ₂	= 0% ampas tebu + 100% biomassa indigofera + 1,95 ml probiotik (kontrol 2)
P ₃	= 100% ampas tebu+ 15% biomassa Indigofera + 2,24 ml probiotik
P ₄	= 100% ampas tebu + 30% biomassa Indigofera + 2,54ml probiotik
P ₅	= 100% ampas tebu + 45% biomassa Indigofera + 2,83 ml probiotik

3.4 Parameter yang Diukur

Parameter yang diukur dalam penelitian nilai nutrisi silase ampas tebu

(*Bagasse*) yang ditambah biomassa *Indigofera zollingeriana* meliputi kadar: (1)

Protein kasar (%); (2) Serat kasar (%); (3) Lemak kasar (%); (4) Abu (%) dan (5)

Bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) (%).

3.5 Prosedur penelitian

1. Persiapan bahan penelitian

a) Ampas tebu dan *Indigofera zollingeriana*

Ampas tebu yang digunakan adalah limbah dari tebu yang telah mengalami penggilingan dan biomassa (batang dan daun) *Indigofera zollingeriana* yang berumur 60 hari, dikeringkan selama 1 hari sehingga kadar air diperkirakan berkisar 50-60%, kemudian ampas tebu dan *Indigofera* dicacah dengan mesin chopper dengan ukuran \pm 2-3 cm,

Hak Cipta Dilindungi 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.

b) Jumlah probiotik yang ditambahkan adalah 1.5 ml pada masing-masing perlakuan.

2. Pencampuran bahan

Pencampuran bahan dilakukan dalam baskom plastik dengan mencampurkan ampas tebu dan indigofera sesuai perlakuan, kemudian ditambah probiotik. Bahan diaduk hingga semua bahan tercampur homogen.

3. Pembungkusan

Bahan yang telah tercampur homogen dimasukkan kedalam kantong plastik kedap udara dan dipadatkan sehingga mencapai keadaan anaerob, kemudian diikat dan dilapisi dengan plastik lagi dua lapis dan diikat selanjutnya diberi kode sesuai dengan perlakuan.

4. Tahap fermentasi

Fermentasi dilakukan selama 21 hari

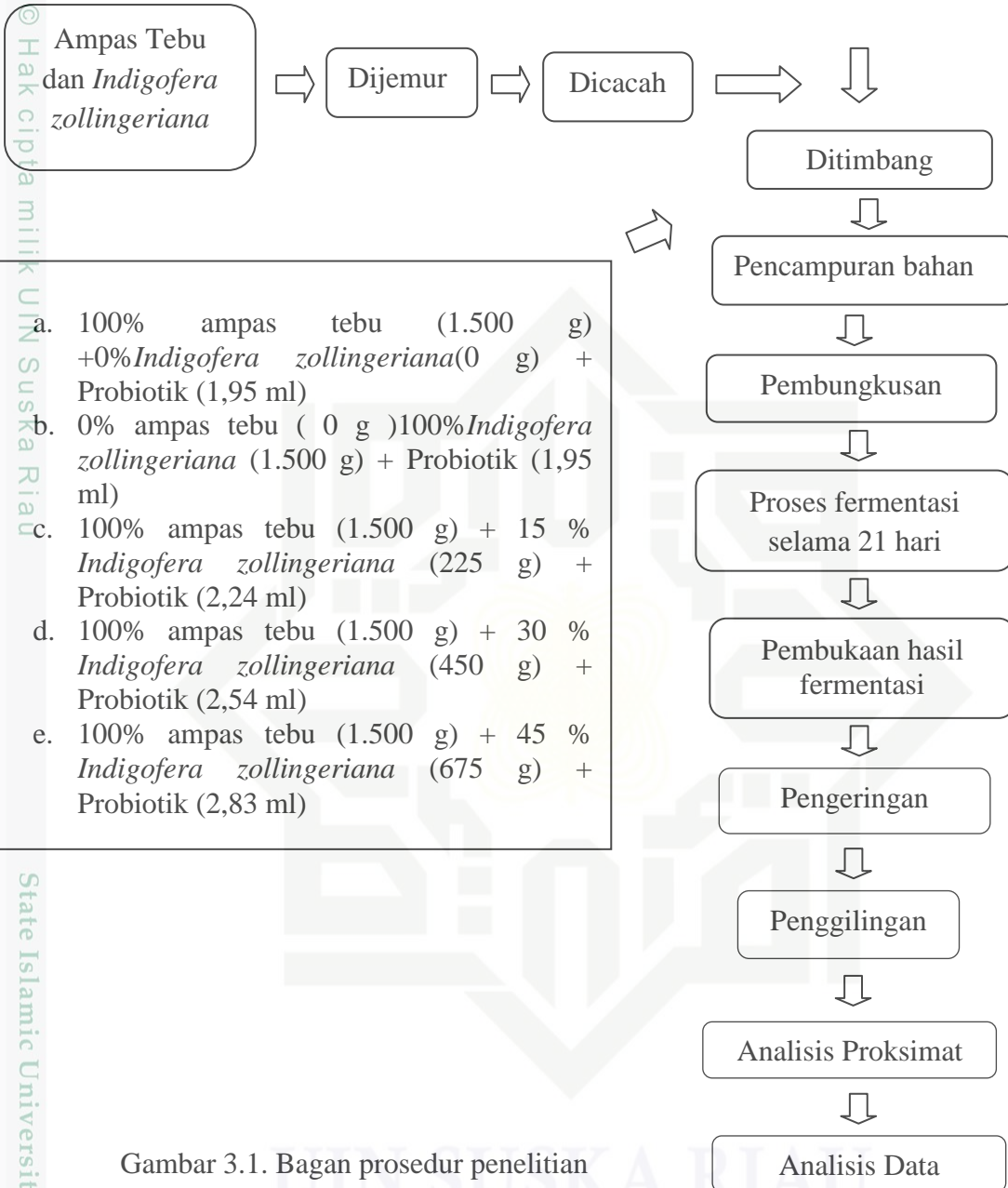
5. Analisis proksimat

21 hari proses fermentasi berlangsung, sampel kemudian dibuka dan dikeringkan dengan sinar matahari. Sampel yang telah kering dianalisis proksimat (PK, SK, LK, abu dan BETN) di laboratorium Kimia dan Ilmu Nutrisi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Bagan prosedur penelitian disajikan pada Gambar 3.1 berikut:

Hak Cipta Dilindungi 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.



Gambar 3.1. Bagan prosedur penelitian

3.6 Prosedur Analisis Proksimat

3.6.1 Penentuan Kandungan Bahan Kering (AOAC, 1993)

Cara kerja:

1. *Crusible* yang bersih dikeringkan di dalam oven listrik pada temperatur 105° - 110° C selama 1 jam.
2. *Crusible* kemudian didinginkan di dalam desikator selama 1 jam.
3. *Crusible* ditimbang dengan timbangan analitik, beratnya (X).

- Hak Cipta Dilindungi 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.

4. Sampel ditimbang lebih kurang 5 g (Y).
5. Sampel bersama *crusible* dikeringkan dalam oven listrik pada temperatur 105°-110°C selama 8 jam.
6. Sampel dan *crusible* didinginkan dalam desikator selama 1 jam lalu timbang dengan timbangan analitik beratnya (Z), selanjutnya cara kerja 4, 5 dan 6 dilakukan sebanyak 3 kali atau hingga beratnya konstan.

Penghitungan kadar air:

$$\% \text{ KA} = \frac{X + Y - Z}{Y} \times 100 \%$$

Keterangan:

X = Berat *crusible*

Y = Berat sampel

Z = Berat *crusible* dan sampel yang telah dikeringkan

Perhitungan penetapan bahan kering:

$$\% \text{ BK} = 100\% - \% \text{ KA}$$

Keterangan:

% KA = Kadar air bahan

3.6.2 Penentuan Kandungan Protein Kasar (Foss Analytical, 2003)

Cara kerja:

1. Sampel ditimbang 1 gr dan dimasukkan ke dalam *digestion tubes straight*.
2. Sampel kemudian ditambahkan dengan katalis (1,5 g K₃SO₄ dan 7,5 mg MgSO₄) sebanyak 2 buah dan larutan H₂SO₄ sebanyak 6 ml ke dalam *digestion tubes straight*.
3. Sampel didestruksi pada lemari asam dengan suhu 425°C selama 4 jam sampai cairan menjadi jernih (kehijauan).

Hak Cipta Dilindungi 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 mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

4. Sampel didinginkan, ditambahkan aquadest 30 ml secara perlahan-lahan.
5. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi.
6. *Erlenmeyer* 125 ml yang berisi 25 ml larutan H_3BO_3 7 ml *metilen red* dan 10 ml *brom kresol green* disiapkan. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H_3BO_3 .
7. Larutan NaOH 30 ml ditambahkan ke dalam *erlenmeyer*, kemudian didestilasi selama 5 menit.
8. Tabung kondensor dibilas dengan air dan bilasannya ditampung dalam *erlenmeyer* yang sama.
9. Sampel dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda dan selanjutnya penetapan blanko dilakukan.

Penghitungan:

$$\% N = \frac{(\text{ml titran} - \text{ml blanko}) \times \text{Normalitas } H_2SO_4 \times 14,007}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100 \%$$

$$\% PK = \% N \times \text{faktor konversi}$$

Keterangan : Faktor konversi untuk pakan ternak adalah 6, 25.

3.6.3. Penentuan Kandungan Serat Kasar (Foss Analytical, 2006)

Cara kerja:

1. NaOH dan H_2SO_4 ditambah aquadest menjadi 1000 ml. NaOH 1,25% (dilarutkan 12,5 g NaOH ke dalam aquadest sehingga volumenya menjadi 1000 ml) dan H_2SO_4 96% (larutkan 13,02 ml H_2SO_4 dalam aquadest sehingga volumenya menjadi 1000 ml).
2. Sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam *crusible* (yang telah ditimbang beratnya (W1)).

Hak Cipta Dilindungi 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. *Crusible* diletakkan pada *cold extration* lalu *acetone* dimasukkan ke dalam *crusible* sebanyak 25 ml atau sampai sampel tenggelam, kemudian diamkan selama 10 menit untuk menghilangkan lemak (lakukan 3 kali berturut-turut), selanjutnya bilas dengan aquadest sebanyak 2 kali.
4. *Crusible* dipindahkan ke *fibertec*
 - H_2SO_4 dimasukkan ke dalam masing-masing *crusible* pada garis ke 2 (150 ml), setelah dihidupkan kran air, *crusible* ditutup dengan *reflektor*.
 - *Fibertec* dipanaskan sampai mendidih. *Fibertec* dalam keadaan tertutup dan air dihidupkan.
 - Aquadest dipanaskan dalam wadah lain.
 - Sampel di *fibertec* mendidih lalu ditambahkan *octanol* (untuk menghilangkan buih) sebanyak 2 tetes lalu panasnya dioptimumkan dan dibiarkan selama 30 menit dan setelah 30 menit *fibertec* dimatikan.
5. Larutan di dalam *fibertec* disedot, posisi *fibertec* dalam keadaan *vacum* dan kran air dibuka.
6. Aquadest yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam semprotan lalu semprotkan ke *crusible*. Posisi *fibertec* tetap dalam keadaan *vacum* dan kran air terbuka (lakukan pembilasan sebanyak 3 kali).
7. *Fibertec* ditutup, NaOH yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam *crusible* pada garis ke 2, kran air pada posisi terbuka, *fibertec* dihidupkan dengan suhu optimum. Sampel yang telah mendidih diteteskan *octanol* sebanyak 2 tetes ke dalam tabung yang berbuih, kemudian dipanaskan

Hak Cipta Dilindungi 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 mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

selama 30 menit, selanjutnya matikan *fibertec* (*off*) kran ditutup suhu dioptimumkan, selanjutnya lakukan pembilasan dengan aquadest panas sebanyak 3 kali (*fibertec* pada posisi *vacum*) setelah selesai membilas, *fibertec* pada posisi tertutup.

8. *Crusible* dipindahkan ke *cold extraction* lalu dibilas dengan *acetone*. *Cold extraction* pada posisi *vacum*, kran air dibuka (lakukan sebanyak 3 kali) untuk pembilasan.
9. *Crusible* dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam dengan suhu 130°C.
10. *Crusible* didinginkan dalam desikator 1 jam selanjutnya ditimbang (W2).
11. *Crusible* dimasukkan ke dalam tanur selama 3 jam dengan suhu 525°C, kemudian dinginkan dalam desikator selama 1 jam dan ditimbang (W3).

$$\% \text{ SK} = \frac{W2 - W3}{W1} \times 100 \%$$

Keterangan:

W1 = Berat sampel (g)

W2 = Berat sampel + *crusible* setelah dioven (g)

W3 = Berat sampel + *crusible* setelah ditanur (g)

3.6.4. Penentuan Kandungan Lemak Kasar (Foss Analytical, 2003)

Cara kerja :

1. Sampel ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan ke dalam timbel dan ditutup dengan kapas (Y).
2. Timbel yang berisi sampel diletakkan pada *soxtec*, alat dihidupkan dan dipanaskan sampai suhu 135°C dan air dialirkan, timbel diletakkan pada *soxtec* pada posisi rinsing.

Hak Cipta Dilindungi 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. Aluminium cup selanjutnya dimasukkan (sudah ditimbang beratnya Z) yang berisi petroleum benzene 70 ml ke *soxtec*, lalu tekan *start* dan jam, *soxtec* pada posisi *boiling*, dilakukan selama 20 menit.
4. *Soxtec* kemudian ditekan pada posisi *rinsing* selama 40 menit, kemudian dilakukan *recovery* 10 menit, posisi kran pada *soxtec* dengan posisi melintang.
5. *Aluminium cup* dan lemak dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam pada suhu 135°C, lalu dimasukkan dalam desikator, setelah dingin dilakukan penimbangan (Y).

Perhitungan:

$$\% \text{ LK} = \frac{Y - Z}{X} \times 100 \%$$

Keterangan:

Z = Berat *aluminium cup* + lemak

X = Berat *aluminium cup*

Y = Berat sampel

3.6.5. Penentuan Kandungan Abu (AOAC, 1993)

Cara kerja:

1. *Crusible* yang bersih dimasukkan ke dalam oven pada suhu 110°C selama 1 jam.
2. *Crusible* kemudian didinginkan ke dalam desikator selama lebih kurang 1 jam, setelah *crusible* dingin ditimbang beratnya (W1).
3. Sampel ditimbang sebanyak 1 g (Y) lalu masukkan ke dalam *crusible*.
4. *Crusible* beserta sampel kemudian dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 525°C selama 3 jam.

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

5. Sampel dan *crusible* dimasukkan ke dalam desikator selama 1 jam.
6. *Crusible* dingin, lalu abunya ditimbang (W3).

Penghitungan:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(W1 + W2) - W3}{W1} \times 100 \%$$

Keterangan:

W3 = Berat *crusible* + Abu

W1 = Berat *crusible*

W2 = Berat sampel

3.6.6. Penentuan Kadar BETN (Hermayati dkk, 2006).

Penentuan kadar bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) dengan cara pengurangan angka 100% dengan persen kadar protein kasar, serat kasar, lemak kasar dan abu. Perhitungan : % BETN = 100% - (% PK + % SK + % LK + % Abu)

3.7 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang menurut rancangan acak lengkap (RAL) (Steel dan Torrie, 1991), model linier rancangan acak lengkap yaitu sebagai berikut:

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

Keterangan:	Y_{ij} :	nilai pengamatan pada perlakuan penambahan biomassa Indigofera ke-i, ulangan ke-j
	μ :	rataan umum
	α_i :	pengaruh perlakuan penambahan biomassa indigofera ke- i
	ε_{ij} :	pengaruh galat dari perlakuan penambahan biomassa Indigofera ke-i ulangan ke-j
	i :	1, 2, 3, 4, 5
	j :	1, 2, 3, 4



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.

Tabel 3.1. Analisis Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas (db)	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	tr-1	JKT	-	-	-	-

Keterangan:

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y^2}{r.t}$$

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

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \frac{\sum (Y_i)^2}{r} - \text{FK}$$

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

$$\text{Kuadrat Total Perlakuan (KTP)} = \frac{\text{JKP}}{t-1}$$

$$\text{Kuadrat Total Galat (KTG)} = \frac{\text{JKG}}{n-t}$$

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

Bila hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)*

Duncan's Multiple Range Test (DMRT)