

III. MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan pembuatan fermentasi dilakukan di Kabupaten Bengkalis, Sedangkan analisis kimia dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September sampai dengan November 2014.

3.2. Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1. Bahan

a. Proses Persiapan

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah ampas sagu (AS) yang didapat pada proses pengolahan sagu. Kulit kopi (KK) yang digunakan adalah kulit kopi yang didapat pada proses pengolahan biji kopi. Ampas sagu dan kulit kopi berasal dari Kabupaten Bengkalis yang merupakan salah satu sentra penghasil sagu dan kopi di wilayah Riau. Dedak digunakan sebagai nutrisi tambahan untuk menunjang pertumbuhan mikroba. Inokulum laru didapat dari tempe yang telah dikeringkan dan digiling halus.

b. Bahan Untuk Analisis Proksimat

Bahan yang digunakan untuk analisis adalah aquadest, Asam Klorida (HCl), Kalium Sulfat (K_2SO_4), Magnesium Sulfat ($MgSO_4$), Natrium Hidroksida (NaOH), Asam Benzoat (H_3BO_3), Eter, Benzena, *metilen red*, *brom kresol green* dan *acetone*.

3.2.2. Alat

Peralatan yang digunakan untuk keperluan fermentasi adalah kantong plastik, timbangan, kukusan, baskom dan sendok pengaduk. Peralatan yang digunakan untuk analisis nutrisi adalah seperangkat alat untuk analisis proksimat, adalah pemanas, gelas piala 300 mL, labu ukur, timbangan analitik, *soctex*, kertas saring, tanur listrik, *crusible* tang, gelas piala, buret, destilator, *digestion tubes straight*, *cruisble*, *aluminium cup* lengkap dengan *erlenmeyer*.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 ulangan untuk setiap perlakuan. Adapun faktor-faktor perlakuan adalah sebagai berikut :

Perlakuan A : 90% AS + 0% KK + 10% Dedak (Kontrol)

Perlakuan B : 85% AS + 5% KK + 10 % Dedak

Perlakuan C : 80% AS + 10% KK + 10% Dedak

Perlakuan D : 75% AS + 15% KK + 10% Dedak

Perlakuan E : 70% AS + 20% KK + 10% Dedak

Dosis inokulum laru yang dipakai adalah 7 gram/kg substrat. Lama fermentasi yang digunakan adalah 30 jam. Dosis dan lama fermentasi tersebut berdasarkan Adelina (2005).

3.4. Peubah yang Diukur

Peubah yang diukur meliputi analisis proksimat yaitu bahan kering (BK), protein kasar (PK), serat kasar (SK), lemak kasar (LK), kadar abu dan Bahan

Ekstrak Tanpa Nitrogen (BETN) berdasarkan *Official Method of Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1993)*.

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Persiapan Bahan

Persiapan ampas sagu dan kulit kopi dicuci hingga bersih ,dilakukan pengukusan sesuai dengan perbandingan jumlah perlakuan, kemudian didinginkan dan dilakukan pencampuran dengan laru dan diaduk hingga homogen atau rata. Substrat yang digunakan merupakan campuran ampas sagu, kulit kopi dan dedak dengan perbandingan yang telah ditentukan.

3.5.2. Proses Fermentasi

a. Pencampuran

Pada tahap ini dilakukan 2 kali pencampuran, yang pertama adalah pencampuran antara ampas sagu, kulit kopi dan dedak (substrat) dan yang kedua adalah antara substrat dengan laru.

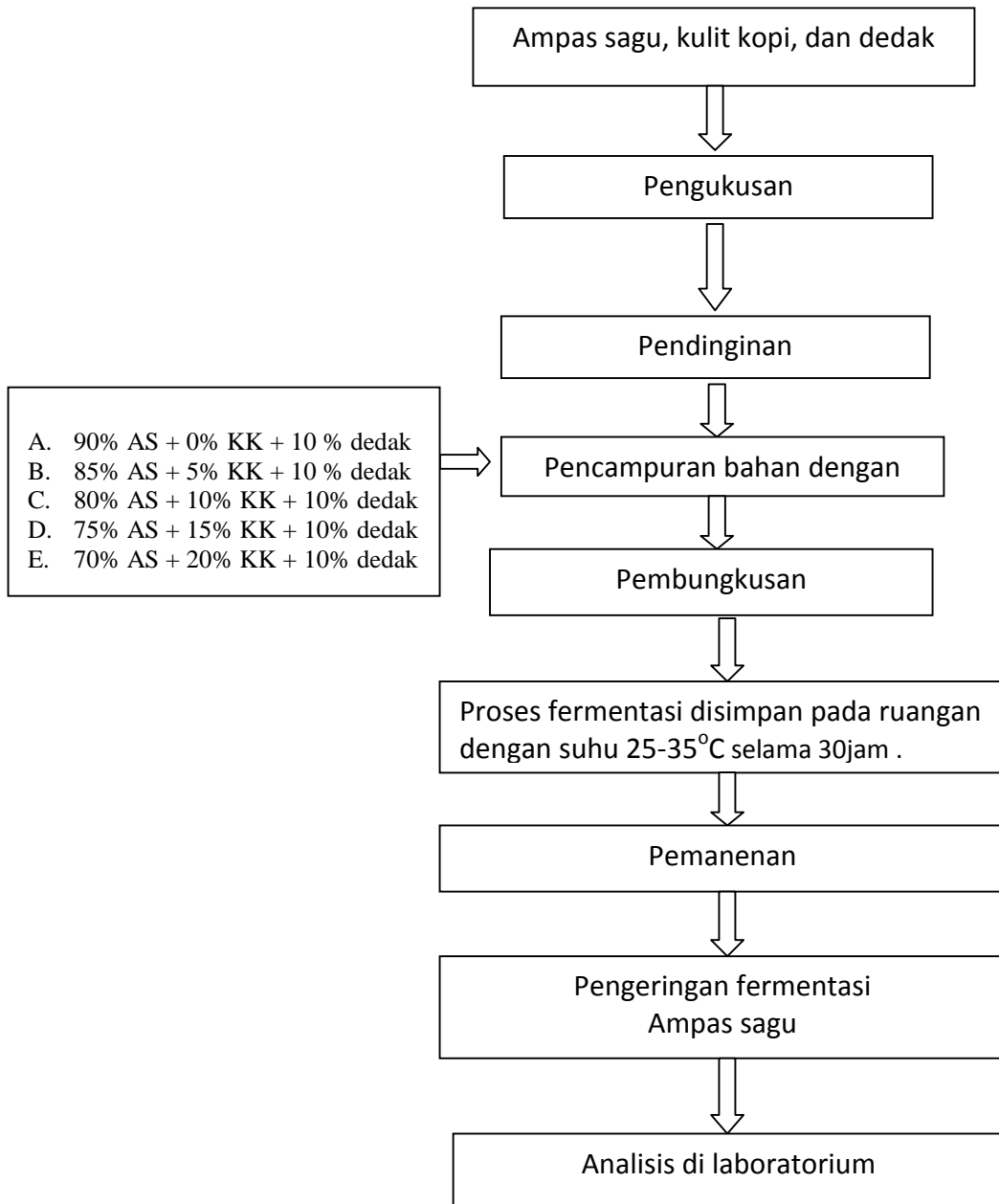
b. Penyimpanan (inokulasi)

Substrat yang telah ditaburi inokulum diaduk rata dan dimasukkan dalam plastik serta ditutup. Plastik dilubangi kemudian disimpan di kotak fermentasi (inkubator).

c. Pengeringan (pemanenan)

Sampel ditimbang, dipotong menjadi ukuran kecil dan diletakkan di aluminium foil dan dikeringkan dengan panas matahari. Sampel yang telah kering dapat dianalisis kandungan nutriennya.

3.6. Bagan Prosedur Penelitian



Gambar 8 :Bagan Prosedur Penelitian

3.7. Analisis Proksimat

Untuk masing-masing ulangan diambil sampel untuk dilakukan analisis proksimat. Analisis proksimat akan dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau.

a. Penentuan 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* didinginkan di dalam desikator selama 1 jam.
3. *Crusible* ditimbang dengan timbangan analitik, beratnya (X).
4. Sampel ditimbang lebih kurang 5 gram (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).
7. Cara kerja 5, 6 dan 7 dilakukan sebanyak 3 kali atau hingga beratnya konstan.

Penghitungankandungan 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 = Kandungan air bahan

b. Penentuan Kandungan Protein Kasar (Foss Analytical, 2003)

Cara kerja:

1. Timbang sampel 1 gram dan masukkan ke dalam *digestion tubes straight*.
2. Tambahkan katalis (1,5 gram K_2SO_4 dan 7,5 mg $MgSO_4$) sebanyak 2 buah dan larutan H_2SO_4 sebanyak 6 mL ke dalam *digestion tubes straight*.
3. Sampel didestruksi di lemari asam dengan suhu $425\text{ }^\circ\text{C}$ selama 4 jam sampai cairan menjadi jernih (kehijauan).
4. Sampel didinginkan, tambahkan aquadest 30 mL secara perlahan - lahan.
5. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi.
6. Siapkan *erlenmeyer* 125 mL yang berisi 25 mL larutan H_3BO_3 7 ml *metilen red* dan 10 mL *brom kresol green*. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H_3BO_3 .
7. Tambahkan larutan NaOH 30 mL 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.
10. Lakukan juga penetapan blanko.

Penghitungan :

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

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

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

c. Penentuan Kandungan Serat Kasar (Foss Analytical, 2003)

Cara kerja:

1. NaOH dan H₂SO₄ ditambah aquadest menjadi 1000 mL. NaOH 1,25 % (dilarutkan 12,5 g NaOH kedalam aquadest sehingga volumenya menjadi 1000 mL) dan H₂SO₄ 96 % (larutkan 13,02 mL H₂SO₄ dalam aquadest sehingga volumenya menjadi 1000 mL).
2. Sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam *crusible* (yang telah ditimbang beratnya (W1)).
3. *Crusible* diletakkan di *cold extration* lalu *acetone* dimasukkan ke dalam *crusible* sebanyak 25 ml atau sampai sampel tenggelam.
4. Diamkan selama 10 menit untuk menghilangkan lemak.
5. Lakukan 3 kali berturut-turut kemudian bilas dengan aquadest sebanyak 2 kali.
6. *Crusible* dipindahkan ke *fiberte* dan lakukan prosedur berikut:
H₂SO₄ dimasukkan kedalam masing-masing *crusible* hingga garis ke 2 (150mL). Hidupkan kran air dan *crusible* ditutup dengan *reflektor*. *Fibertec* dipanaskan sampai mendidih. *Fibertec* dalam keadaan tertutup dan kran air dihidupkan.
7. Panaskan aquadest dalam wadah lain.
8. Tambahkan *octanol* (untuk menghilangkan buih) sebanyak 2 tetes ketika sampel di *fibertec* mendidih lalu dipanaskan kembali dengan suhu optimum, biarkan selama 30 menit. Matikan *fibertec* setelah 30 menit.

9. Larutan di dalam *fibertec* disedot, posisi *fibertec* dalam keadaan *vacum* dan kran air dibuka.
10. Aquadest yang telah dipanaskan dimasukkan kedalam semprotan lalu semprotkan ke *crusible*. Posisi *fibertec* tetap dalam keadaan *vacum* dan kran air terbuka.
11. Lakukan pembilasan dengan aquadest yang telah dipanaskan sebanyak 3 kali.
12. *Fibertec* ditutup, NaOH yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam *crusible* pada garis ke 2, kran air pada posisi terbuka.
13. Hidupkan *fibertec* dengan suhu optimum. Sampel yang telah mendidih diteteskan *octanol* sebanyak 2 tetes ke dalam tabung yang berbuih, selanjutnya dipanaskan selama 30 menit.
14. Setelah 30 menit matikan *fibertec (off)* kran ditutup, Optimumkan suhu pada *fibertec*.
15. Lakukan pembilasan dengan aquadest panas sebanyak 3 kali, *fibertec* pada posisi *vacum*. Setelah selesai membilas buatlah *fibertec* pada posisi tertutup.
16. *Crusible* dipindahkan ke *cold extraction* lalu dibilas dengan *acetone*. *Cold extraction* pada posisi *vacum*, kran air dibuka lalu lakukan sebanyak 3 kali untuk pembilasan.
17. *Crusible* dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam dengan suhu 130°C.
18. *Crusible* didinginkan dalam desikator 1 jam selanjutnya ditimbang (W2).
19. *Crusible* dimasukkan ke dalam tanur selama 3 jam dengan suhu 525°C.
20. Dinginkan *crusible* dalam desikator 1 jam dan ditimbang (W3).

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

Keterangan:

W1 = Berat sampel (gram)

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

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

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

Carakerja :

1. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram, 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*.
3. Suhu 135°C dimasukkan aluminium cup (sudah ditimbang beratnya, Z) yang berisi petroleum benzene 70 mL ke *soxtec*, lalu tekan *start* dan jam, *soxtec* pada posisi *boiling*, diamkan selama 20 menit.
4. Tekan *Soxtec* pada posisi *rinsing* selama 40 menit
5. Lakukan *recovery* 10 menit, posisi kran pada *soxtec* melintang.
6. *Aluminium cup* dan lemak dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam pada suhu 135°C.
7. Dinginkan *aluminium cup* dalam desikator lalu timbang *aluminium cup* setelah didinginkan (Y).

Perhitungan:

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

Keterangan:

Z = Berat *aluminium cup* + lemak

X = Berat *aluminium cup*

Y = Berat sampel

e. Penentuan Kandungan Kadar Abu (AOAC, 1993)

Cara kerja:

1. *Crusible* yang bersih dimasukkan kedalam oven pada suhu 110 °C selama 1 jam.
2. *Crusible* kemudian didinginkan kedalam desikator selama lebih kurang 1 jam, setelah *crusible* dingin ditimbang beratnya (W1).
3. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram (Y) lalu masukkan kedalam *crusible*.
4. *Crusible* beserta sampel kemudian dimasukkan kedalam tanur pengabuan dengan suhu 525 °C selama 3 jam.
5. Sampel dan *crusible* dimasukkan kedalam desikator selama 1 jam.
6. *Crusible* dingin, lalu abunya ditimbang (W3)

Penghitungan:

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

Keterangan:

W3 = Berat *crusible* + Abu

W1 = Berat *crusible*

W2 = Berat sampel

f. Penentuan kandungan BETN (Hartadi *et al.*, 1997)

Penentuan kandungan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) dengan cara pengurangan angka 100% dengan persentase abu, protein kasar ,lemak kasar. Dan serat kasar.

$$\text{Rumus : } \% \text{ BETN} = 100\% - (\% \text{PK} + \% \text{PK} + \% \text{LK} + \% \text{Abu})$$

3.8. Analisis Data

Data hasil percobaan yang diperoleh akan diolah menurut analisis keragaman rancangan acak lengkap (RAL) menurut Steel & Torrie (1993), Perbedaan pengaruh perlakuan diuji menurut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Model linier rancangan acak lengkap adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + ij$$

Keterangan :

Y_{ij} = nilai pengamatan pada perlakuan ke-i, ulangan ke-j

μ = rata-rata umum

t_i = pengaruh perlakuan ke-i

ij = pengaruh galat dari perlakuan ke-i ulangan ke-j

i = 1,2,3,4,5, (Perlakuan)

j = 1,2,3,4, (Ulangan)

Analisis data dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan dengan uji-F pada nilai $\alpha = 5\%$.

Tabel 3.8. Analisis ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (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 :

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

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

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

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

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

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

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