

### III. MATERI DAN METODE

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia serta Laboratorium Patologi, Entomologi dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau, penelitian berlangsung selama 3 bulan, mulai bulan September sampai Desember 2014.

#### 3.2. Materi Penelitian

##### 3.2.1. Alat penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan untuk proses fermentasi pelepah sawit seperti *chopper* untuk mencacah pelepah sawit, erlenmeyer, timbangan analitik, batang pengaduk, *aluminium foil*, dan lain-lain. Untuk analisis fraksi seratnya menggunakan cawan crusibel, timbangan analitik, *fibertec* yang dengan *hot extraction* dan *cold extraction*, pemanas listrik, oven listrik, tanur, dan desikator.

##### 3.2.2. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelepah sawit yang telah di *chopper*, *Phanerochaete chrysosporium* dan mineral  $\text{CaCl}_2$  sebagai sumber mineral Ca dan  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  sebagai sumber mineral Mn. Untuk analisis fraksi serat yaitu aceton/alkohol 96%, air panas, octanol,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  72%, larutan *Neutral Detergent Solution* (NDS) dan larutan *Acid Detergent Solution* (ADS). Bahan-bahan yang di gunakan untuk membuat larutan NDS adalah :

1. Aquadest : 1 liter
2. Natrium-Lauryl sulfat : 30 g

3. Disodium ethylene diaminetetraacetate (EDTA)/Titriplex III : 18,61 g
4. Sodium borate decahydrate ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )/Natrium borat  $10 \text{ H}_2$  : 6,81 g
5. Disodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) : 4,58 g

Untuk membuat larutan ADS adalah :

1.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N : 27,76 mL
2. Cetyl Trimethyl Amonium Bromide (CTAB) : 20 g
3. Aquadest : 1000 mL

### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan masing-masing dengan 5 ulangan. Lama fermentasi dan level Ca serta Mn merujuk Rahayu (2014) dan Mariani (2014). Adapun perlakuan penelitian ini meliputi :

- A : pelepah sawit + *P. chrysosporium* tanpa penambahan mineral (kontrol)
- B : pelepah sawit + *P. chrysosporium* + Ca 2000 ppm
- C : pelepah sawit + *P. chrysosporium* + Mn 100 ppm
- D : pelepah sawit + *P. chrysosporium* + Ca 2000 ppm + Mn 100 ppm

### 3.4. Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Tahapan persiapan pelepah sawit

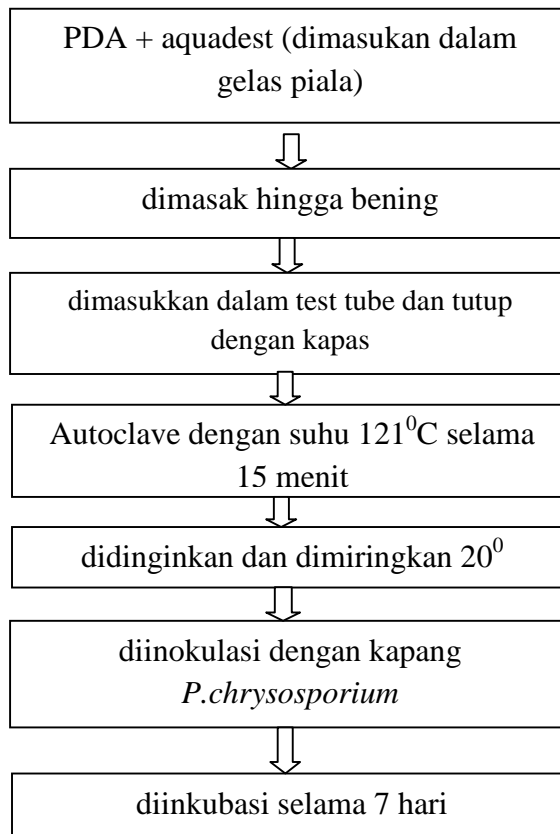
Pelepah sawit diambil dari pohonnya, kemudian pelepah sawit dicacah 1/3 dari bagian depan ( $\pm 2$  meter) untuk memperkecil partikel hingga berukuran 2-3 cm menggunakan mesin *chopper*, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Pelepah Sawit digiling menjadi serbuk halus menggunakan mesin penggiling. Gambar 3.1 memperlihatkan persiapan bahan pelepah sawit.



Gambar 3.1. Persiapan Bahan Pelepah Sawit

### 3.4.2. Tahapan pembiakan kapang

Kapang *P. chrysosporium* ditumbuhkan pada media Potato Dextrose Agar (PDA) pada suhu 30<sup>0</sup>C selama 7 hari sebelum digunakan.

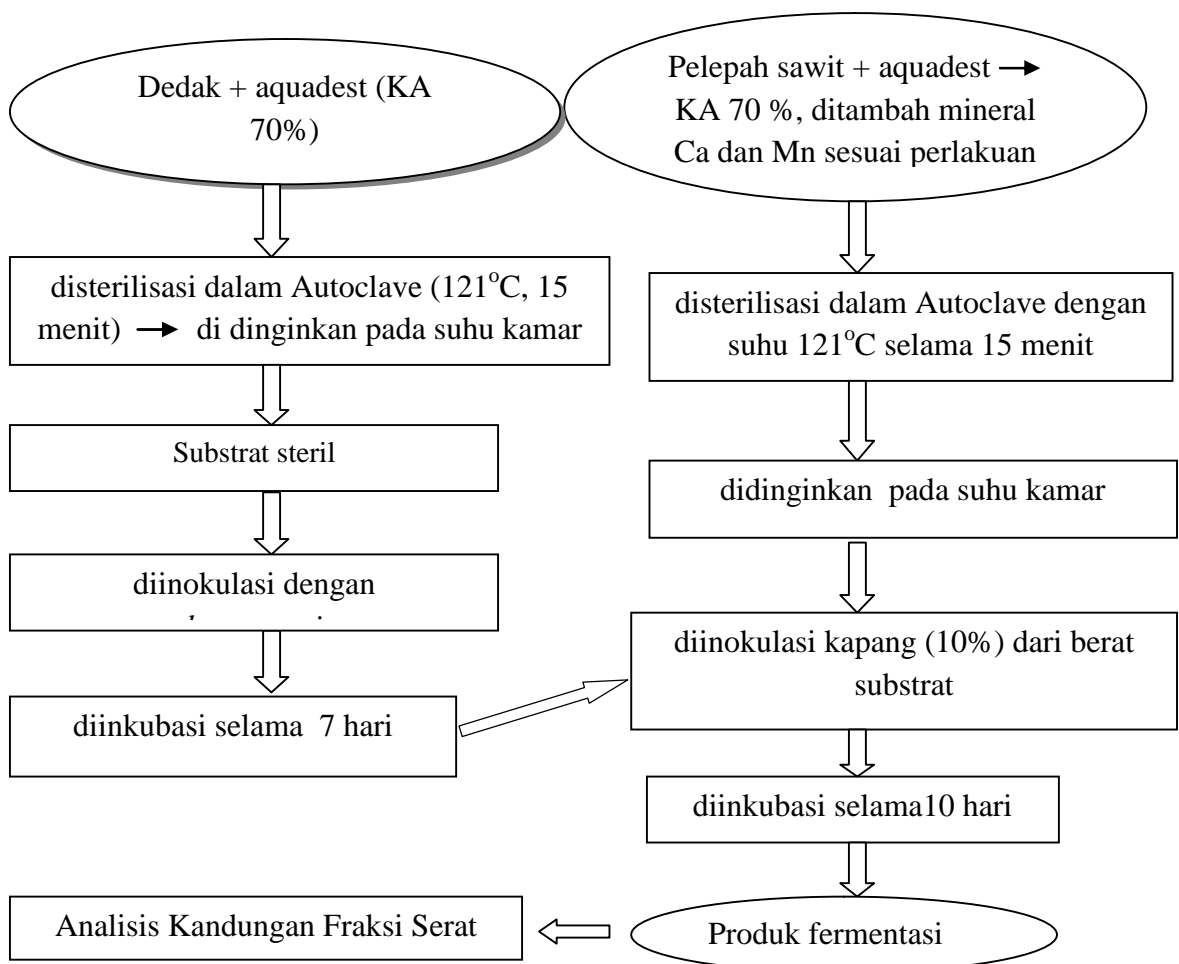


Gambar 3.2. Proses Pembiakan Kapang

### 3.4.3. Tahapan proses fermentasi

Teknik fermentasi yang dilakukan menurut cara Kerem *et al.* (1992). Sebanyak 50 g pelepah sawit yang telah digiling halus dimasukan dalam

erlenmeyer ditambah aquadest sehingga mencapai kadar air 70% dan ditambahkan mineral  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{MnSO}_4$  sesuai dengan perlakuan yang digunakan dan disterilisasi dalam *Autoclave* dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit, didinginkan pada suhu kamar. Substrat diinokulasi dengan inokulum *P.chrysosporium* yang telah dipersiapkan dan inkubasi dilakukan sesuai perlakuan. Fermentasi dilakukan 10 hari. Setelah fermentasi selesai biomasa yang diperoleh dikeringkan dan disiapkan untuk analisis fraksi serat. Prosedur fermentasi pelepah sawit menggunakan kapang *P.chrysosporium* dengan penambahan mineral Ca dan Mn dapat dilihat pada Gambar 3.3 di bawah ini.



Gambar 3.3. Prosedur Fermentasi Pelepah Sawit Menggunakan Kapang *P.chrysosporium* dengan Penambahan Mineral Ca dan Mn

### **3.5. Peubah yang diukur**

Peubah yang diukur meliputi analisis fraksi serat (*Van Soest*) yaitu kandungan NDF, ADF, hemiselulosa, selulosa, dan lignin sesuai dengan Foss Analytical (2006), yaitu :

#### **3.5.1. Kadar Neutral Detergent Fiber (NDF) (Foss Analytical, 2006)**

Untuk menentukan kandungan NDF yang pertama kali dilakukan adalah membuat larutan NDS.

Cara membuat larutan NDS :

1. Disiapkan aquadest lebih kurang 800 mL dalam gelas piala 1.000 mL
2. Ditimbang masing-masing bahan kimia untuk pembuatan larutan NDS kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala yang telah diisi dengan aquades
3. Bahan tersebut dipanaskan sampai larut dan ditambahkan aquadest sampai 1.000 mL.

Prosedur Kerja Analisis NDF :

1. Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram (a) dimasukkan ke cawan crusibel yang sudah ditimbang beratnya (b).
2. Cawan crusibel diletakan pada *Fibertec Hot Extraction*, tambahkan 50 mL larutan NDS dan dipanaskan sampai mendidih, setelah mendidih diteteskan octanol pada sampel yang berbuih, lalu panas dioptimumkan dan dilakukan ekstraksi selama 1 jam.
3. Selesai diekstraksi selama 1 jam dilakukan penyaringan dengan pemvakuman pada *Fibertec Hot Extraction* kemudian dibilas dengan air panas.

4. Cawan crusibel dipindahkan pada *Fibertec Cold Extraction* kemudian dibilas dengan aceton/alkohol 96%.
5. Cawan crusibel dan sampel diovenkan pada suhu 135<sup>0</sup>C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang (c)

$$\text{Rumus: } \% \text{NDF} = \frac{c - b}{a} \times 100 \%$$

### 3.5.1. Kadungan Acid Detergent Fiber (ADF) (Foss Analytical, 2006)

Untuk menentukan kadungan ADF yang pertama kali dilakukan adalah membuat larutan ADS.

Cara membuat larutan ADS :

1. Dibuat dengan melarutkan 20 gram CTAB dalam asam sulfat 1 N.

Cara membuat asam sulfat 1N:

$$N \cdot \text{grek} = x \text{ ml} \cdot BJ \cdot \%$$

$$1 \cdot (98,08/2) = x \text{ ml} \cdot 1,84 \cdot 0,96$$

$$49,04 = 1,7664 x$$

$$x = 49,04/1,7664 = 27,76 \text{ mL}$$

Prosedur Kerja Analisis ADF :

1. Ditimbang sampel sebanyak 0,5 gram (a) dimasukkan ke dalam cawan crusibel yang sudah ditimbang beratnya (b).
2. Cawan crusibel diletakan pada *Fibertec Hot Extraction*, tambahkan 50 mL larutan ADS dan dipanaskan sampai mendidih, setelah mendidih ditetaskan octanol pada sampel yang berbuih, lalu panas dioptimumkan dan dilakukan ekstraksi selama 1 jam.

3. Selesai diekstraksi selama 1 jam dilakukan penyaringan dengan pemvakuman pada *Fibertec Hot Extraction* kemudian dibilas dengan air panas.
4. Cawan crusibel dipindahkan pada *Fibertec Cold Extraction* kemudian dibilas dengan acetone/alcohol 96%.
5. Cawan crusibel dan sampel diovenkan pada suhu 135<sup>0</sup>C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang (c)

$$\text{Rumus : } \% \text{ ADF} = \frac{c - b}{a} \times 100 \%$$

### 3.5.3. Kandungan Hemiselulosa

$$\text{Rumus: Kadar Hemiselulosa} = \% \text{ NDF} - \% \text{ ADF}$$

### 3.5.4. Kandungan Selulosa (Foss Analytical, 2006)

Penetapan kandungan selulosa merupakan lanjutan dari analisis ADF, dimana residu ADF (c g) direndam dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% selama 3 jam. Kemudian dibilas dengan air panas dan terakhir dengan aseton. Residu tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 135<sup>0</sup>C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam

desikator dan ditimbang (d g). Rumus :  $\% \text{ selulosa} = \frac{c - d}{a} \times 100 \%$

### 3.5.5. Kadar Lignin (Foss Analytical, 2006)

Penentuan kadar lignin merupakan lanjutan dari analisis selulosa, dimana residu selulosa (d) dibakar dalam tanur pada suhu 525<sup>0</sup>C selama 3 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang (e). sisa dari pembakaran tersebut (abu) adalah silika dan bagian yang hilang adalah lignin.

$$\text{Rumus : } \% \text{ lignin} = \frac{- e}{a} \times 100 \%$$

### 3.6. Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan analisis ragam menurut rancangan acak lengkap (Steel dan Torrie, 1992). Analisis keragaman untuk rancangan acak lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Analisis Keragaman Rancangan Acak Lengkap

Sumber	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	tr-1	JKT	-	-	-	-

Model matematis Rancangan Acak Lengkap menurut Steel dan Torrie (1992), adalah sebagai berikut :

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

Dimana:

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

$\mu$  = nilai tengah umum

$\alpha_i$  = tambahan akibat perlakuan ke-i

$\epsilon_{ij}$  = tambahan akibat acak galat percobaan perlakuan ke-i pada ulangan ke-j

$i = 1,2,3$

$j = 1,2,3$

Faktor korelasi (FK) :  $\frac{(Y_{...})^2}{rt}$

Jumlah kuadrat perlakuan (JKP) :  $\frac{(Y_i)^2}{r} - FK$

Jumlah kuadrat total (JKT) :  $(Y_{ij})^2 - FK$

Jumlah kuadrat galak (JKG) :  $JKT - JKP$



Kuadrat tengah perlakuan (KTP) :  $\frac{JKP}{dbP}$

Kuadrat tengah galat (KTG) :  $\frac{JKG}{dbG}$

F hitung :  $\frac{JKP}{JKG}$

Perbedaan pengaruh perlakuan diuji menurut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).