

III. MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kebun percobaan Laboratorium Agrostologi, Industri Pakan dan Ilmu Tanah, dan Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim (UIN SUSKA) Riau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai dengan April 2015.

3.2. Bahandan Alat Penelitian

3.2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah leguminosapohon *Indigofera zollingeriana* yang berumur ± 2 tahun yang tumbuh di kebun percobaan Laboratorium Agrostologi, Industri Pakan dan Ilmu Tanah UIN Suska Riau. Bahan untuk analisis proksimat adalah *aque dest*, HCl, K₃SO₄, MgSO₄, NaOH, H₃BO₄, Eter, Benzene, CCl₄, dan ditambah dengan pelarut.

3.2.2. Alat

Peralatan yang digunakan untuk pembersihan dan perawatan plot penelitian adalah parang, sabit dan cangkul. Alat yang digunakan untuk penimbangan sampel dan pengukuran parameter adalah timbangan digital merek CAMRY Model EK 3131, pita ukur (150 cm). Untuk mengukur pH tanah maka digunakan *soil tester*. 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*.

3.3. Metode Penelitian

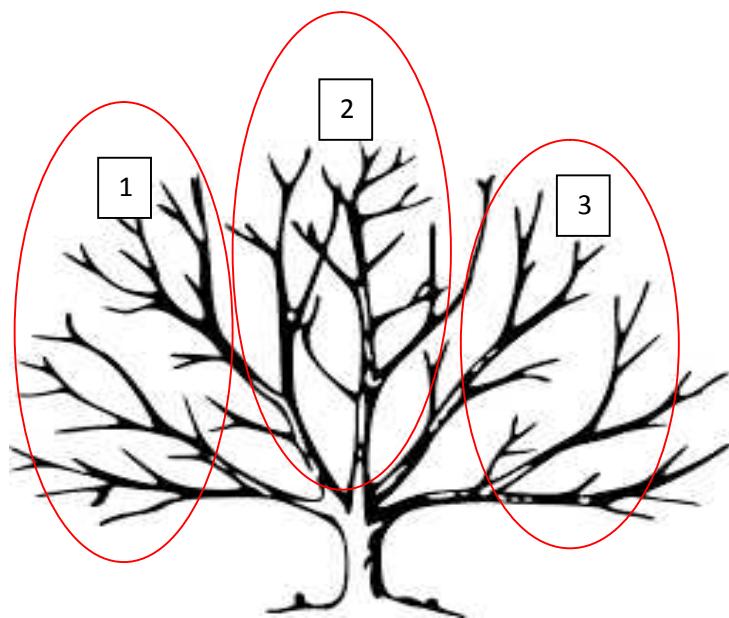
Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 3 perlakuan dengan 4 kelompok.

Perlakuan terdiri dari:

- (1) Indigofera regrowth umur 2 bulan (2B),
- (2) Indigofera regrowth umur 3 bulan (3B)
- (3) Indigofera regrowth umur 4 bulan (4B)

Perlakuan umur panen dilakukan pada setiap individu tanaman. Tanaman dalam satu kelompok dipanen sebanyak tiga kali yaitu pada umur 2 bulan, 3 bulan, dan 4 bulan. Bagian tanaman yang dipanen adalah bagian ranting dandaun. Sebelum dilakukan pemenan pertama, jumlah ranting dalam tiap tanaman dihitung untuk menentukan banyaknya jumlah ranting yang dipanen.

Jumlah ranting yang dipanen pada setiap umur panen adalah $\frac{1}{3}$ dari jumlah total ranting pada setiap tanaman. Bilangan total ranting tanaman adalah 15, maka jumlah ranting yang akan dipanen pada umur 2 bulan adalah 5, pada umur 3 bulan adalah 5 dan pada umur 4 bulan adalah 5 ranting. Ranting pada setiap pemenan dan dipilih secara acak. Pada pemenan dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut ini.



Gambar 3.1. : Polapemanenan

Keterangan :

1,2, dan 3 adalah kelompok ranting yang di panen,pada setiap kelompok ranting terdapat ranting yang di panen pada umur 2 bulan, 3 bulan dan 4 bulan.

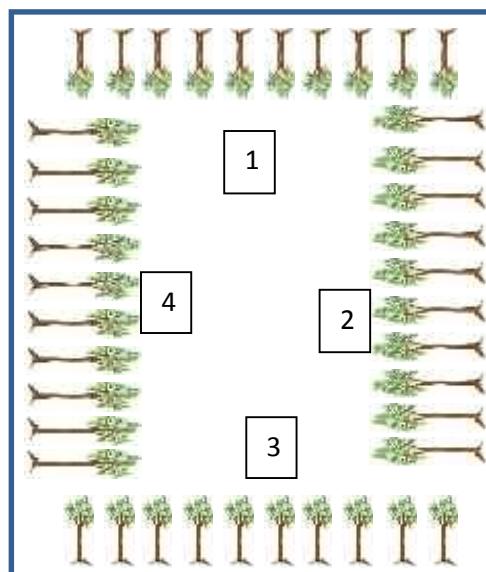
3.4. Parameter yang diukur

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah:
kandungan nutrisi *Indigofera zollingeriana* yang ditanam di lahan gambut meliputi kadar: (1) Bahankering(%); (2) Protein kasar (%); (3) Serat kasar (%); (4) Lemak kasar (%); (5) Abu (%) dan (6) Bahan ekstraktan tanpa nitrogen (BETN) (%).

3.5. Prosedur Penelitian

a. Plot dan jarak tanam

Penelitian ini dilaksanakan di tanah gambut terdegradasi. Kandungan mineral tanah berdasarkan analisis tanah yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Pangan (BPTP) Padang Marpo tahun 2011 adalah pH 5.54, N 0.14%; C 7.20%; C/N 51.43; K 2.48 ml/100g dan P tersedia 0.030%. Ukuran lahan yang digunakan adalah 9x13 m dan dibagi atas 4 kelompok (ukuran masing-masing kelompok 1.5x13 m). Masing-masing kelompok disekat 3 m. Jumlah tanaman pada masing-masing kelompok adalah 10 batang. Gambar plot tanaman *Indigofera* di sajikan pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Plot tanaman *Indigofera zollingeriana*

Keterangan :

- 1 = Kelompok pertama
- 2 = Kelompok kedua
- 3 = Kelompok ketiga
- 4 = Kelompok keempat

c. Pemangkasan

Pemangkasan dilakukan 2 bulan sebelum penelitian. Tanam dan dipotong kira-kira 2-5 cm dari titik tumbuh cabang dengan menggunakan gunting tanaman. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan pertumbuhan kembali (*re-growth*) yang seragam.

d. Penyiangan dan Pemupukan

Penyiangan dilakukan dengan menggunakan cangkul dan sabit. Sekitar tanaman dibersihkan dari gulma, agar tidak mengganggu *Indigofera* sp. Penyiangan dilakukan dua minggu sekali selama penelitian berlangsung. Penyiangan ini juga bertujuan untuk membantu mempermudah pemupukan.

Pupuk merupakan sumber kebutuhan tanaman untuk membantu menyerap unsur hara yang dibutuhkan dalam proses pertumbuhan. Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pupuk kandang, dengan dosis 10 ton/ha (2 kg/tanaman). Pemupukan dilakukan hanya sekali yaitu pada awal penelitian di bulan Desember.

e. Pemanenan

Pemanenan dilakukan dengan menggunakan gunting tanaman. Cabang atau ranting dipanen berdasarkan umur panen, yaitu umur dua bulan, tiga bulan dan empat bulan. Ranting dipanen dipilih secara acak dan dipotong sekitar 2-5 cm dari titik tumbuh cabang ranting tersebut.

f. Analisis proksimat

Setelah pemanenan dilakukan analisis proksimat secara bertahap, umur 2 bulan, 3 bulan dan 4 bulan. Sampel dikeringkan dan gansinarmatahari,

kemudiandianalisisproksimat (BK, PK, SK, LK, Abu dan BETN) di laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau.

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 $105^{\circ} - 110^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam.
2. Kemudian *crusible* didinginkan di dalam desikator selama 1 jam.
3. *Crusible* ditimbang dengan timbangan analitik, beratnya (X).
4. Sampel ditimbang lebih kurang 5 g (Y).
5. Sampel bersama *crusible* dikeringkan dalam oven listrik pada temperatur $105^{\circ} - 110^{\circ}\text{C}$ 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 yakonstan.

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 airbahan

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

Cara kerja:

1. Sampel ditimbang 1 g dan dimasukkan ke dalam *digestion tubes straight*.
2. Sampel kemudianditambahkan 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 di lemari asam dengan suhu 425 °C selama 4 jam sampai cairan menjadi jernih (kehijauan).
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 H₃BO₃ 7 mL metilen red dan 10 ml brom kresol green. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H₃BO₃.
7. Larutan NaOH 30 mL ke dalam erlenmeyer, lalu 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 :

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

% PK = % N x 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 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 pada *cold extraction* lalu *aceton* 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*
 - H₂SO₄ 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 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 *aceton*. *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 = Beratsampel (g)

W2 = Beratsampel + *crusible* setelah dioven (g)

W3 = Beratsampel + *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.
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*, 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 = Berataluminium cup

Y = Beratsampel

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 di dinginkan 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.
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 (Tillman *et al.*, 1998)

Penentuan kadar bahan eksstraktanpa nitrogen (BETN) dengan cara pengurangan angka 100 % dengan persen kadar air, abu, protein, lemak dan serat kasar.

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

3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan analisis sidik ragam menurut rancanganacak kelompok (RAK) (Mattyk & Sumertajaya, 2006), model linier rancanganacak kelompok adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + i + j + ij$$

Keterangan:

Y_{ij} : Nilai pengamatan satuan percobaan yang memperoleh perlakuan ke-i dan pada kelompok ke-j

μ : Nilai tengah umum

i : Pengaruh perlakuan ke-i

j : Pengaruh kelompok ke-j

ij : Pengaruh galat percobaan pada perlakuan ke-i dan kelompok ke-j

Tabel 3.1 Analisis Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0.05	0.01
Kelompok	r-1	JKK	KTK	KTK/KTG	-	-
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	(r-1)(t-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	rt-1	JKT	-	-	-	-

Keterangan :

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

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

Jumlah Kuadrat Kelompok (JKK) = $\frac{Y^2}{t} - FK$

$$\text{JumlahKuadratPerlakuan (JKP) } = \frac{\sum Y^2}{r} - FK$$

JumlahKuadratGalat = JKT – JKK – JKP

Pengujian lanjut dilakukan dengan uji raka

Duncan

(DMRT). Menurut Supadi (2000), rumus Uji Jarak Duncan adalah sebagai berikut:

$$UJD = R_{(; \text{dbgat})} X \sqrt{\frac{KTG}{Ulangan}}$$

Keterangan :

: TarafUjiNyata

: Banyaknya Perlakuan

R : Nilai dari Tabel Uji Jarak Duncan