

III. MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan pengambilan sampel dilakukan di Desa Air Tiris Kabupaten Kampar yang merupakan salah satu daerah tumbuhnya tanaman sagu di Provinsi Riau. Analisis kandungan gizi dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Kimia Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2014 sampai dengan Februari 2015.

3.2. Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sagu (DS) yang diperoleh pada proses pemanenan sagu. Jagung digunakan sebagai nutrisi tambahan untuk menunjang pertumbuhan mikroba. Bahan yang digunakan untuk analisis proksimat 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, 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, *crucible* 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) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan 3 ulangan untuk setiap perlakuan. Adapun faktor-faktor perlakuan adalah sebagai berikut :

Lama fermentasi (A) :

A1 : 0 hari

A2 : 14 hari

A3 : 28 hari

Komposisi substrat (B) :

B1 : 100% Daun Sagu (DS) + 0% Jagung Halus (JH)

B2 : 95% DS + 5% JH

B3 : 90% DS + 10% JH

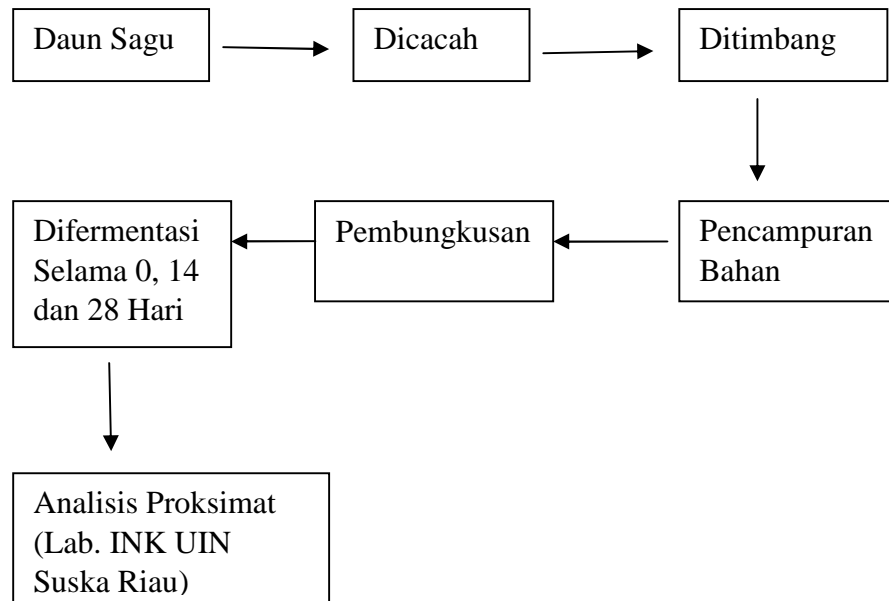
Persentase molases yang digunakan adalah sebanyak 5%, yang merujuk pada hasil penelitian yang telah dilakukan Asmandani *dkk.* (2013).

3.4. Peubah yang Diukur

Peubah yang diukur meliputi analisis proksimat yaitu kadar air (KA), 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. Pembuatan silase



Gambar 3.1 Prosedur Penelitian

3.6. Analisis Proksimat

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

a. Penentuan Kadar Air (AOAC, 1993)

$$(\%) \text{ Bahan Kering} = 100\% - \text{Kadar Air } (\%)$$

Analisis kadar air

Cara kerja :

1. Cawan porselen yang bersih dikeringkan dalam alat pengering atau oven listrik pada temperatur 105-110°C selama 1 jam.
2. Kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit.

3. Lalu ditimbang dengan neraca analitik, maka didapat beratnya (x gram).
4. Bahan ditimbang sebanyak 1 gram didapat berat (y gram), lalu dipanaskan dalam oven 105-110°C selama 8 jam.
5. Dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang beratnya (z gram), berat pengurangan merupakan banyaknya air dalam bahan.

$$(\%) \text{ Kadar Air} = \frac{(x+y)-z}{y} \times 100\%$$

Keterangan :

X = Cawan porselen kosong

Y = Cawan porselen + sampel

Z = Berat cawan + sampel yang telah dikeringkan

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

Cara kerja :

1. Sampel ditimbang 1 g, dimasukkan ke dalam labu kjedhal.
2. Tambahkan 1 g katalisator selenium dan larutan H₂SO₄ sebanyak 6 ml ke dalam sampel.
3. Sampel didestruksi di lemari asam selama 1 jam sampai cairan menjadi jernih (kehijauan).
4. Sampel didinginkan, ditambahkan aquades 30 ml secara perlahan-lahan.

5. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi.
6. Disiapkan erlenmeyer 125 ml yang berisi 25 ml larutan H_3BO_3 7ml metilen red dan 10 ml brom kresol green. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H_3BO_3
7. Larutan NaOH 30 ml ditambahkan ke dalam erlenmeyer, kemudian didestilasi (3-5 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 :

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

% protein = % N x faktor konversi

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

c. Penentuan kandungan Serat Kasar (Foss Analytical, 2006)

Cara kerja:

1. NaOH dilarutkan, ditambah aquadest menjadi 1000 ml.
(dilarutkan 13,02 ml H_2SO_4 dalam aquadest sampai menjadi 1000 ml)
2. Sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam *crucible* (yang telah ditimbang beratnya (W1).

3. *Crucible* diletakkan di *cold extration*, lalu aceton dimasukkan ke dalam *crucibel* sebanyak 25 ml atau sampai sampel tenggelam. Diamkan selama 10 menit, tujuannya untuk menghilangkan lemak
4. Dilakukan 3 kali berturut - turut kemudian dibilas dengan aquades (sebanyak 2 kali).
5. *Crusible* dipindahkan ke *fibertex*
 - H₂SO₄ dimasukkan kedalam masing-masing *crucible* pada garis ke 2 (150 ml). setelah selesai dihidupkan kran air, tutup *crucible* dengan reflektor.
 - *Fibertec* dipanaskan sampai mendidih. *Fibertec* dalam keadaan tertutup dan air dihidupkan.
 - Aquadest dipanaskan dalam wadah lain.
 - Tunggu hingga sampel di *fibertec* mendidih ditambahkan octanol (untuk menghilangkan buih) sebanyak 2 tetes lalu panasnya dioptimumkan, dibiarkan selama 30 menit, lalu *fibertec* dimatikan.
6. Larutan di dalam *fibertec* disedot, posisi *fibertec* dalam keadaan vacum dan kran air dibuka.
7. Aquades yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam semprotan, lalu semprotkan ke *crusible*. Posisi *fibertec* tetap dalam keadaan vacum dan kran air terbuka. Dilakukan pembilasan sebanyak 3 kali.
8. *Fibertec* ditutup, NaOH yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam *crucible* pada garis ke 2, kran air pada posisi terbuka, *fibertec* dihidupkan dengan suhu optimum. Setelah sampel mendidih ditetaskan

octanol sebanyak 2 tetes ke dalam tabung yang berbuih, selanjutnya dipanaskan selama 30 menit.

9. Matikan *fibertac* kran ditutup, optimumkan suhu lakukan pembilasan dengan aquades panas sebanyak 3 kali, *fibertec* pada posisi vacum. Setelah selesai membilas *fibertec* pada posisi tertutup.
10. *Crusible* dipindahkan ke *cold extraction* lalu dibilas dengan aseton. *Cold extraction* pada posisi vacum, kran air dibuka (lakukan sebanyak 3 kali), dengan tujuan untuk pembilasan.
11. *Crusible* dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam dengan suhu 130°C.
12. *Crusible* didinginkan dalam desikator 1 jam selanjutnya ditimbang (W2).
13. *Crusible* dimasukkan ke dalam tanur selama 3 jam dengan suhu 525°C.
14. Dinginkan *crusible* dengan desikator 1 jam selanjutnya ditimbang (W3)

Perhitungan:

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

Keterangan: W1 = Berat sampel (g)

W2 = Berat sampel + cawan *crucible* setelah dioven (g)

W3 = Berat sampel + cawan *crucible* setelah ditanur (g)

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

Cara kerja :

1. Aluminium cup dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, didinginkan dalam desikator lalu timbang (a).

2. Ditimbang sampel sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam timbel kemudian ditutup dengan kapas.
3. Timbel yang berisi sampel dimasukkan/diletakkan pada *Soxtec*, alat dihidupkan dan dipanaskan sampai suhu 135°C dan air dialirkan, timbel diletakkan pada *Soxtec* pada posisi *rinsing*.
4. Setelah suhu sampai 135°C/normal, dimasukkan aluminium cup yang berisi petroleum benzene 70 ml ke dalam *Soxtec*, lalu ditekan *start* dan jam dengan posisi *boiling* dilakukan selama 20 menit.
5. Kemudian pada posisi *rinsing* 40 menit, lalu *recovery* 10 menit dengan posisi kran *Soxtec* di melintang/dibuka.
6. Aluminium cup kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 135°C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang (b).

Perhitungan :

$$\% \text{ Lemak} = \frac{c - a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

a : Berat Aluminium Cup (gram)

b : Berat Sampel (gram)

c : Berat Akhir setelah dioven (gram)

e. Penentuan Kandungan Kadar Abu (AOAC, 1993)

Prosedur kerja:

- a. Cawan porselen yang bersih dimasukkan kedalam oven pada suhu 105-110°C selama 1 jam.

- b. Cawan porselen kemudian didinginkan ke dalam desikator selama lebih kurang 1 jam, setelah cawan porselen dingin ditimbang beratnya (X).
- c. Sampel ditimbang di dalam cawan porselen sebanyak 1 g (Y).
- d. Cawan porselen beserta sampel kemudian dimasukkan kedalam tanur pengabuan dengan suhu 600⁰C selama 4 jam.
- e. Sampel dan cawan porselen dimasukkan kedalam desikator selama 1 jam.
Setelah cawan porselen dingin, lalu abunya ditimbang (Z)

Penghitungan:

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

Keterangan:

Z = Berat cawan porselen + Abu

X = Berat cawan porselen

Y = Berat sampel

f. Penentuan kandungan BETN (Hartadi dkk, 1997)

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

Rumus : % BETN = 100% - (% PK+% PK+% LK+% Abu)

3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini diolah dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola Faktorial kombinasi 2 faktor dengan 3 ulangan (Steel & Torrie, 1992). Model matematik analisis ragam adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} : Nilai pengamatan pada faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j dan ulangan ke-k

μ : rata-rata umum

α_i : pengaruh utama faktor A taraf ke-i

β_j : pengaruh utama faktor B taraf ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$: pengaruh interaksi dari faktor A taraf ke-i dan faktor B taraf ke-j

ϵ_{ijk} : pengaruh galat dari faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j dan ulangan ke-k

i : 1, 2

j : 1, 2

k : 1, 2, 3

Tabel 3. Analisis Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
A	$a - 1$	JKA	KTA	KTA/KTG	-	-
B	$b - 1$	JKB	KTB	KTB/KTG	-	-
AB	$(a - 1)(b - 1)$	JKAB	KTAB	KTAB/KTG	-	-
Galat	$ab(r - 1)$	JKG	KTG	-	-	-
Total	$abr - 1$	JKT	-	-	-	-

Keterangan:

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(\sum Y_{ij..})^2}{abr}$$

$$\text{Jumlah kuadrat total (JKT)} = \frac{\sum Y_{ij.}^2}{n} - FK$$

$$\text{Jumlah kuadrat faktor A (JKA)} = \frac{\sum Y_i^2}{n} - FK$$

$$\text{Jumlah kuadrat faktor B (JKB)} = \frac{\sum Y_j^2}{n} - FK$$

$$\text{Jumlah kuadrat faktor AB (JKAB)} = \frac{\sum Y_{ij}^2}{n} - FK$$

$$\text{Jumlah kuadrat perlakuan (JKP)} = \text{JKT} - \text{JKA} - \text{JKB} - \text{JKAB}$$

$$\text{Kuadrat tengah faktor A (KTA)} = \frac{\text{JKA}}{a - 1}$$

$$\text{Kuadrat tengah faktor B (KTB)} = \frac{\text{JKB}}{b - 1}$$

$$\text{Kuadrat tengah interaksi faktor A dan B (KTAB)} = \frac{\text{JKAB}}{(a - 1)(b - 1)}$$

$$\text{Kuadrat tengah galat (KTG)} = \frac{\text{JKG}}{ab(r - 1)}$$

Bila hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata dilakukan uji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) (Steel & Torrie, 1992).