

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai Januari 2015 di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah daun kol, sawi putih, klobot jagung, buncis, tepung gaplek, *petroleum ether*, air suling hangat, kertas lakmus, kertas saring whatman ashless, kertas saring biasa, H₂SO₄ pekat, NaOH 45%, H₃BO₃ 3%, NaOH 0,313N, H₂SO₄ 0,25N, dan HCl 0,1N. Alat yang digunakan yaitu 1 set peralatan analisis proksimat, nampan, *chopper*, kantong plastik 2500g, dan timbangan analitik.

C. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi persiapan sampel, pembuatan silase limbah sayuran, analisis kandungan nutrisi silase limbah sayuran meliputi kadar protein kasar, kadar lemak kasar, kadar serat kasar, dan kadar BETN dengan metode analisis proksimat.

a. Persiapan sampel

Menyediakan sampel berupa limbah sayuran pasar. Limbah sayuran pasar merupakan campuran dari limbah pasar yang dikumpulkan dan diambil langsung dari hasil pembuangan masing-masing pedagang yang ada di pasar tradisional daerah Bandar Lampung. Limbah sayuran pasar yang digunakan seperti daun kol dan sawi putih diambil dari pasar Gintung, sedangkan klobot jagung dan buncis diambil dari pasar Jati Mulyo dengan proporsi sebagai berikut:

Tabel 4. Komposisi limbah sayuran

No.	Limbah sayuran	Persentase (%)
1	Daun kol	25
2	Sawi putih	25
3	Klobot jagung	25
4	Buncis	25
Total		100

Kriteria limbah sayuran yang digunakan yaitu limbah sayuran yang masih segar dan belum membusuk. Limbah sayuran segar dicacah dengan ukuran ± 2 cm. Kemudian melakukan pelayuan pada cacahan sayuran menggunakan oven dengan suhu 60°C hingga kadar air tersisa sekitar 65%. Setiap satuan percobaan menggunakan limbah sayuran yang berkadar air 65% sebanyak 1 kg masing-masing perlakuan. Ada 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan sehingga limbah sayuran kering udara yang dibutuhkan sebanyak 15 kg.

b. Pembuatan silase

Menimbang limbah sayuran yang telah dikeringkan, masing-masing 1 kg setiap satuan percobaan. Limbah sayuran kemudian diletakkan dalam nampan dan

ditambahkan tepung galek sesuai perlakuan (5%, 10%, 15%, 20%). Kemudian limbah sayuran dan tepung galek diaduk hingga homogen. Selanjutnya memasukkan sedikit demi sedikit limbah sayuran yang telah tercampur dengan tepung galek ke dalam kantong plastik sambil dipadatkan (*anaerob*). Bahan silase dibungkus plastik hingga tiga kali lapisan agar fermentasi berlangsung secara anaerob tidak ada sedikitpun udara yang masuk. Kantong plastik yang berisi bahan silase disimpan pada suhu ruang sesuai dengan tata letak yang telah ditentukan dan fermentasi dilakukan selama 21 hari. Setelah 21 hari, silase dibuka dan dilakukan pengujian kualitas nutrisi silase limbah sayuran (kadar lemak kasar, serat kasar, BETN, dan protein kasar).

c. Analisis kandungan nutrisi silase limbah sayuran

Sebelum melakukan analisis proksimat, terlebih dahulu mengeringkan sampel sebanyak 250 g di oven pada suhu 60⁰ C selama 6 jam untuk mendapatkan sampel silase limbah sayuran pada keadaan kering udara. Keadaan kering udara menyebabkan sebagian air hilang selama pengovenan. Sebelum digiling sampel ditimbang terlebih dahulu. Kemudian menggiling sampel hingga halus untuk dianalisis proksimat. Analisis kandungan nutrisi silase limbah sayuran menggunakan metode analisis proksimat.

1. Analisis kadar protein kasar

Analisis kadar protein dilakukan dengan cara:

- a. menimbang bobot kertas saring (A);

- b. memasukkan sampel analisis sebanyak $\pm 0,5$ g yang telah ditimbang (B) ke dalam labu kjeldhal;
- c. menambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 10 ml ke dalam labu kjeldhal;
- d. menambahkan 0,2 g atau secukupnya katalisator;
- e. menyalakan alat detruksi, kemudian memulai proses destruksi sampel analisis;
- f. mematikan alat destruksi jika larutan berubah menjadi larutan berwarna bening kehijauan;
- g. mendinginkan sampai sampel menjadi dingin;
- h. menambahkan 200 ml aquades ke dalam labu kjeldhal berisi sampel analisis yang sudah didestruksi;
- i. menambahkan 50 ml NaOH 45% ke dalam labu kjeldhal secara cepat dan hati-hati (jangan sampai terkocok);
- j. menyiapkan 25 ml H_3BO_3 3% ke *beaker glass* dan meneteskan dengan *methilen blue* sebanyak 2 tetes (larutan berubah menjadi warna ungu);
- k. menyalakan alat destilasi, dengan mencelupkan selang destilasi ke dalam *beaker glass* hingga terendam;
- l. mengamati perubahan warna yang ada di *beaker glass* hingga berubah menjadi hijau;
- m. mengangkat ujung selang destilasi yang terendam, apabila larutan yang berada dalam *beaker glass* menunjukkan angka 150ml setelah itu mematikan alat destilasi;
- n. menyiapkan alat titrasi, mengisi buret dengan larutan HCl 0,1 N serta mengamati dan membaca angka yang tertera pada buret (L_1);

- o. melakukan titrasi, kemudian menghentikan titrasi apabila warna larutan pada *beaker glass* berubah menjadi ungu;
- p. mengamati buret dan membaca angkanya (L_2). Menghitung jumlah HCl (L_1-L_2)
- q. Kadar protein kasar dihitung dengan cara analisis proksimat dengan

$$\text{rumus } N(\%) = \frac{L(\text{sample}) - L(\text{blanko}) \times N_{\text{basas}} \times \frac{N}{1000}}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

$N(\%)$: besarnya kandungan nitrogen (%)

L_{blanko} : volume titran untuk blanko (ml)

L_{sampel} : volume titran untuk sampel (ml)

N_{asam} : normalitas HCl sebesar 0,1

N : berat atom nitrogen sebesar 14

A : bobot kertas saring biasa (gram)

B : bobot kertas saring biasa berisi sample (gram)

$$\text{Kadar Protein Kasar } (\%) = N \times fp$$

Keterangan:

N : kandungan nitrogen (%)

Fp : faktor protein (hewani : 5,56 ; nabati : 6,25).

2. Analisis kadar lemak kasar

Analisis kadar lemak dilakukan dengan cara:

- a. Memanaskan kertas saring biasa ($6 \times 6 \text{ cm}^2$) didalam oven 135°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15

- menit. Setelah itu menimbang bobot kertas saring (A);
- b. memasukkan sampel analisis ke dalam kertas saring dan menimbanginya (B);
 - c. melipat kertas saring;
 - d. meletakkan kertas saring berisi sampel analisis ke dalam alat soxhlet;
 - e. menghubungkan soxhlet dengan labu didih berisi 250 ml *chloroform*;
 - f. menghubungkan soxhlet dengan kondensor, mengalirkan air ke dalam kondensor;
 - g. menghidupkan kompor;
 - h. menunggu *chloroform* hingga mendidih dan dididihkan selama 6 jam (dihitung mulai dari mendidih);
 - i. mematikan alat pemanas, kemudian menghentikan aliran air;
 - j. mengambil lipatan kertas saring berisi residu dan mengoven kertas berisi sampel selama 2 jam bersuhu 135° C;
 - k. mendinginkan kertas berisi sampel ke dalam desikator;
 - l. menimbang bobotnya (D). Menghitung kadar lemak kasar dengan rumus berikut;

$$\text{Kadar lemak kasar (\%)} = \frac{\{(B-A) \times BK(\%)\} - (D-A)}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

KL : kadar lemak (%)

BK : kadar bahan kering (%)

B - A : bobot sampel (gram)

D - A : bobot residu sesudah dipanaskan (gram)

3. Kadar serat kasar

Analisis kadar serat kasar dilakukan dengan cara:

- a. menimbang bobot kertas saring (A),
- b. menimbang bobot kertas saring yang berisi sampel analisis $\pm 0,5$ g (B),
- c. memasukkan sampel analisis ke dalam erlenmeyer,
- d. menambahkan 200 ml H_2SO_4 0,25 N ke dalam erlenmeyer, menghubungkan gelas erlenmeyer dengan kondensor;
- e. melakukan reflux selama 30 menit terhitung setelah mendidih,
- f. menyaring sampel analisis dengan kertas *whatman ashless* yang telah diketahui bobotnya terlebih dahulu (C);
- g. menambahkan 200 ml NaOH 0,313 N dan melakukan reflux kembali;
- h. menyaring sampel dengan menyiramkan aquades panas hingga bebas basa;
- i. melipat kertas *whatman ashless* dan mengoven selama 2 jam bersuhu 135°C ;
- j. mendinginkan kertas *whatman ashless* berisi residu ke dalam desikator;
- k. menimbang bobot kertas berisi residu (D);
- l. menimbang cawan porselen yang sudah di oven selama 15 menit pada suhu 135°C dan telah didinginkan dalam desikator (E);
- m. memasukkan kertas berisi residu ke dalam cawan porselen;
- n. memasukkan cawan porselen berisi kertas dan residu kedalam tanur bersuhu 600°C selama 2 jam,
- o. mendinginkan cawan berisi abu ke dalam desikator selama 15 menit,

- p. menimbang bobotnya (F).

$$\text{Kadar serat kasar (\%)} = \frac{(D-C)-(F-E)}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan :

KS : kadar serat kasar (%)

B – A : bobot sampel (gram)

D – C : bobot bobot residu (gram)

F – E : bobot abu (gram)

4. Kadar bahan ekstrak tanpa nitrogen

Bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) dihitung dengan cara menghitung menggunakan rumus:

$$\text{BETN} = 100\% - (\text{KA} + \text{Kab} + \text{KP} + \text{KL} + \text{KS})$$

Keterangan : BETN : kadar bahan ekstrak tanpa nitrogen (%)

KA : kadar air (%)

Kab : kadar abu (%)

KP : kadar protein (%)

KL : kadar lemak (%)

KS : kadar serat kasar(%)

D. Metode Penelitian

1. Rancangan percobaan

Penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang dilakukan adalah

R0 = limbah sayuran tanpa suplementasi;

R1 = limbah sayuran + tepung gaplek (5% dari bahan kering udara);

R2 = limbah sayuran + tepung gaplek (10% dari bahan kering udara);

R3 = limbah sayuran + tepung gaplek (15% dari bahan kering udara); dan

R4 = limbah sayuran + tepung gaplek (20% dari bahan kering udara).

Tabel 5. Tata letak percobaan

R1U2	R3U3	R1U1	R4U3	R0U1
R3U1	R4U2	R0U2	R2U1	R0U3
R4U1	R2U2	R1U3	R2U3	R3U2

2. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar protein kasar, lemak kasar, serat kasar, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN).

3. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf nyata 5%. Apabila hasil analisis didapat peubah yang nyata maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% untuk membandingkan dengan perlakuan kontrol (Steel dan Torrie, 1991)