

III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei – Agustus 2012 di Instalasi Penelitian dan Pengembangan Budidaya Cijeruk Bogor. Analisis proksimat dan analisis pencernaan dilakukan di Laboratorium Kimia Nutrisi Ikan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT) Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: 21 buah akuarium ukuran 60 x 40 x 40 cm³, botol film, aerator, instalasi aerasi, mesin penggiling pakan, tabung reaksi, oven, thermometer, DO meter, pH meter, timbangan digital, serokan, plastik kedap udara, selang sipon, elemeyer, plastik kiloan, rak fermentasi, alat kukus, pompa air, baskom plastik, dan alat tulis.

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: ikan Nila BEST bobot $25 \pm 1,57$ gram / ekor, 10 kg bungkil inti sawit, 17,5 gram Cr₂O₃, 2560 gram pakan acuan, 0,8 gram enzim mananase, 52,5 gram tepung tapioka, aquades, dan 4 jenis kapang yaitu *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei* dan *Rhizopus oryzae*.

3.3 Desain Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas tujuh perlakuan dengan tiga kali ulangan. Pakan yang akan digunakan adalah pakan buatan yang terdiri atas pakan acuan, BIS, BIS yang telah dicampur dengan crude enzim mananase dan BIS yang telah difermentasi. Perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

- Perlakuan A: Pakan acuan (kontrol)
- Perlakuan B: Pakan acuan + BIS
- Perlakuan C: Pakan acuan + BIS+ enzim mananase
- Perlakuan D: Pakan acuan+ BIS+ enzim mananase + *Trichoderma reesei*
- Perlakuan E:Pakan acuan + BIS+ enzim mananase + *Rhizopus oligosporus*
- Perlakuan F: Pakan acuan + BIS + enzim mananase + *Aspergillus niger*
- Perlakuan G: Pakan acuan + BIS + enzim mananase + *Rhizopus oryzae*

Komposisi bahan-bahan baku yang akan dijadikan formulasi pakan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi bahan baku pakan

Komposisi	Perlakuan						
	A	B	C	D	E	F	G
PA	98 %	69 %	69 %	69 %	69 %	69%	69%
BIS	-	29 %	-	-	-	-	-
BIS+ EM	-	-	29 %	-	-	-	-
BIS+ EM+ TR	-	-	-	29 %	-	-	-
BIS+ EM+ RO	-	-	-	-	29 %	-	-
BIS+ EM+ AN	-	-	-	-	-	29%	-
BIS+ EM+ ROry	-	-	-	-	-	-	29%
Cr ₂ O ₃	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,5%	0,5%
Binder	1,5 %	1,5 %	1,5 %	1,5 %	1,5 %	1,5%	1,5%
Jumlah	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100%	100%
Keterangan :	PA=Pakan Acuan		TR= <i>Trichoderma reesei</i>				
	BIS=Bungkil Inti Sawit		RO= <i>Rhizopus oligosporus</i>				
	EM=Enzim Mananase		ROry= <i>Rhizopus oryzae</i>				
	AN= <i>Aspergillus niger</i>						

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam ANOVA dan di uji lanjut dengan uji Duncan pada selang kepercayaan 95% menggunakan *software* SPSS 17.00.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Persiapan

Persiapan yang dilakukan adalah persiapan wadah dan media, pembuatan pakan, serta persiapan ikan uji. Persiapan tempat pemeliharaan meliputi pembersihan dan pengeringan akuarium, pengaturan tata letak wadah, serta penyiapan aerasi dan pengisian air. Setiap akuarium diisi air sebanyak 84 liter dan diberi aerasi. Sebelum digunakan air tersebut ditampung terlebih dahulu dalam bak fiber dan diberi aerasi selama 24 jam. Persiapan ikan uji meliputi pengambilan ikan nila BEST dengan bobot sekitar $25 \pm 1,57$ gram dengan pada tebar 15 ekor/akuarium. Selanjutnya dilakukan aklimatisasi untuk mengadaptasikan lingkungan barunya selama selama 7 hari.

3.4.2 Hidrolisis Enzim Mananase

Enzim mananase yang digunakan untuk merombak manan yang terdapat dalam bungkil inti sawit diperoleh dari pabrikan dalam bentuk *powder* atau serbuk. Serbuk tersebut langsung dijadikan sebagai *crude enzyme mananase*. *Crude enzyme mananase* dicampurkan dengan bungkil inti sawit dengan dosis 0,1 gram per 1 kg BIS yang digunakan. Selanjutnya BIS diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.

3.4.3 Fermentasi Bungkil Inti Sawit

Bungkil inti sawit yang telah dicampur dengan enzim mananase terlebih dahulu dikukus selama 30 menit yang kemudian difermentasi menggunakan 4 jenis kapang antara lain : *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, dan *Rhizopus oryzae*. Dalam satu kilogram BIS yang telah ditambahkan enzim dicampur dengan 100 ml larutan kapang dengan kepadatan 10^9 spora/ml. Proses fermentasi dilakukan secara aerob selama 5 hari dan kemudian dilakukan analisis proksimat.

3.4.4 Pembuatan Pakan

Proses pembuatan pakan terlebih dahulu dengan menghaluskan pakan acuan. Kemudian bahan uji sebanyak 29% (145 gram) dicampurkan dengan pakan acuan yang telah dihaluskan sebanyak 69% (345 gram). Kedua bahan tersebut diaduk sampai rata dan homogen. Setelah itu, ditambahkan Cr_2O_3 sebanyak 0,5% (2,5 gram). Bahan perekat pakan yang digunakan adalah tepung tapioka. Semua bahan diaduk hingga rata dan di beri air hangat sebanyak 10% dari jumlah keseluruhan bahan pakan. Pakan dicetak sesuai ukuran yang diinginkan lalu dikeringkan di bawah sinar matahari selama 4-5 jam. Pakan yang telah kering siap digunakan sebagai pakan uji.

3.4.5 Uji Kecernaan

Uji kecernaan dilakukan dengan menambahkan indikator penanda (*marker*) berupa Cr_2O_3 (*Chromium oxide*) pada bahan pakan yang telah disiapkan. Dosis Cr_2O_3 yang dicampurkan sebanyak 2,5 gram atau sebanyak 0,5% (Watanabe, 1988). Pakan yang telah diberi indikator penanda diadaptasikan pada

ikan nila BEST selama 2 hari. Selanjutnya feses ikan nila mulai dikumpulkan pada hari ke-3 dan pengumpulan feses tersebut dilakukan selama 15 hari.

Pemeliharaan ikan nila BEST dilakukan selama 15 hari dengan frekuensi pemberian pakan setiap 3 kali sehari pada pukul 08.00, 13.00 dan 17.00 WIB. Pemberian pakan dilakukan dengan cara *adlibitum* untuk menghindari adanya sisa pakan. Sebelum diberi pakan, media pemeliharaan disipon terlebih dahulu dan dilakukan pergantian air sebagian (80% volume wadah) setiap hari. Pengumpulan feses dengan cara penyiponan, dilakukan segera setelah ikan mengeluarkan feses untuk menghindari pencucian feses. Kemudian feses dimasukkan ke dalam botol film dan disimpan dalam lemari pendingin. Feses yang telah terkumpul dikeringkan di dalam oven bersuhu 110°C selama 4-6 jam. Selanjutnya dilakukan analisis pencernaan terhadap feses.

3.4.6 Pengamatan

Parameter yang diamati selama penelitian antara lain: pencernaan karbohidrat (selulosa, hemiselulosa, lignin), pencernaan protein, pencernaan total, pencernaan energi, dan kualitas air pada media pemeliharaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *software* SPSS versi 17.00 meliputi data pencernaan karbohidrat, pencernaan protein, pencernaan total, dan pencernaan energi.

3.4.6.1 Kecernaan Protein (Nutrien)

Nilai kecernaan protein dihitung berdasarkan persamaan Takeuchi, (1988):

$$\text{Kecernaan Nutrien (protein)} = 100 - \left(100x \frac{a}{a'} x \frac{b'}{b}\right)$$

Dimana:

a = %Cr₂O₃ dalam pakan (%)

a' = %Cr₂O₃ dalam feses (%)

b = % nutrien (protein) dalam feses (%)

b' = % nutrien (protein) dalam pakan (%)

3.4.6.2 Kecernaan Total

Nilai kecernaan total dihitung berdasarkan persamaan Takeuchi, (1988):

$$\text{Kecernaan total} = 100 - \left(100x \frac{a}{a'}\right)$$

Dimana :

a = Cr₂O₃ dalam pakan (%)

a' = Cr₂O₃ dalam feses (%)

3.4.6.3 Kecernaan Energi

Energi yang disediakan oleh makanan adalah salah satu pertimbangan yang penting di dalam menentukan nilai gizinya (Gusrina, 2008)

$$\text{Kecernaan energi} = \frac{\text{Energi tercerna}}{\text{Energi pakan}} \times 100$$

3.4.6.4 Kecernaan Karbohidrat

Kecernaan karbohidrat dapat dihitung dengan persamaan :

$$\text{Kecernaan Karbohidrat} = 100 - \left(100 \times \frac{a}{a'} \times \frac{b}{b'}\right)$$

dimana :

a = Cr₂O₃ dalam pakan (%)

a* = Cr₂O₃ dalam feses (%)

b = karbohidrat dalam pakan (%)

b* = karbohidrat dalam feses (%)

3.4.6.5 Kualitas Air

Parameter kualitas air yang ukur selama penelitian adalah : pH, Suhu, DO (oksigen terlarut), Amoniak (NH₃). Parameter tersebut diukur pada awal, tengah, dan akhir pemeliharaan.