

III. METODE KERJA

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada Maret-Juni 2013, bertempat di Laboratorium Makanan Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Pembuatan Inokulum Murni

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,6 gram $MgSO_4$, 0,5 gram KCL, 5 gram NH_4NO_3 , 0,01 gram $FeSO_4$, 1 gram glukosa, 5 gram peptone, 1 gram yeast ekstrak, jamur *Trametes* sp yang diperoleh dari Laboratorium Pathologi Hutan Fakultas Kehutanan IPB. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah kompor listrik, panci, spatula, tabung reaksi, dan botol tempat tumbuhnya media *Trametes* sp.

2. Analisis Proksimat Limbah Daun Nenas Terfermentasi

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun limbah daun nenas yang berasal dari PT Great Giant Pineapple merupakan varietas nenas *Smooth cayene* atau yang dikenal dengan nama nenas Bogor. Daun nenas yang telah dipotong-potong \pm 2-3 cm sebanyak 16 kg ditimbang menggunakan timbangan analitik merk Oxone OX 315 dengan ketelitian 0,1

gram. Bahan penelitian lainnya adalah H_2SO_4 , HCl, indikator metal *blue*, dan chloroform. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kantong plastik, pisau, timbangan digital 2.000 gram, penggiling/penepung (*Disk mill*), dandang, nampan, ember, botol plastik, kain lap, ayakan (*Shifter*), alat-alat analisis proksimat, seperti oven, tanur, alat kjeldahl apparatus, buret, gelas ukur, labu kjeldahl, alat soxhlet apparatus, desikator, kertas saring, cawan porselein, tang penjepit, botol semprot, gelas, botol semprot, erlenmeyer, dan corong kaca.

C. Metode Penelitian

Sampel daun nenas segar varietas *Smooth cayene* memiliki kandungan nutrisi seperti disajikan pada Tabel 4.

Tabel 1. Kandungan nutrisi daun nenas segar *Smooth cayene* (% BK)

Komponen	Air (% BS)	BK (% BS)	Abu	LK	SK	PK	BETN
Daun Segar	85,00	15,00	5,64	5,08	29,12	9,05	39,60

Keterangan:

BK : Bahan Kering BS : Bahan Segar
 LK : Lemak kasar SK : Serat kasar
 SK : Serat kasar BETN : Bahan ekstrak tanpa nitrogen

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan yang dilakukan adalah :

R0 : Penyimpanan 0 hari

R1 : Penyimpanan 2 hari

R2 : Penyimpanan 4 hari

R3 : Penyimpanan 6 hari

Setiap perlakuan dicobakan sebanyak empat kali. Tata letak percobaan secara acak terdapat pada Gambar 3.

R_2U_4	R_3U_2	R_3U_4	R_0U_3
R_2U_2	R_0U_2	R_0U_1	R_1U_2
R_1U_1	R_3U_3	R_2U_3	R_3U_1
R_0U_4	R_1U_3	R_2U_1	R_1U_4

Gambar 3. Skema tata letak

D. Analisis Data

Data yang dihasilkan dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan atau 1%. Apabila dari analisis ragam menunjukkan hasil yang nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal. Untuk uji organoleptik menggunakan uji lanjut BNT.

E. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan Inokulum Murni

Membuat larutan mineral atau tumbuh dengan cara mencampur 0,6 g Mg SO₄, 0,5 g KCl, 5 g NH₄ NO₃, 0,001 g CuSO₄, 0,01 g Fe SO₄ dan air sehingga menjadi 1000 ml. Dilanjutkan dengan membuat larutan inokulum dengan cara mencampur 1 g glukosa, 5 g peptone, 1 g yeast ekstrak. Campurkan larutan mineral dan inokulum lalu dipanaskan hingga mendidih. Larutan mineral yang telah mendidih tersebut didiamkan hingga dingin, kemudian dituang ke dalam botol. Ambil beberapa ose (dilakukan dekat dengan api bunsen) jamur *Trametes sp.* kemudian dicelupkan jamur tersebut ke dalam masing-masing botol yang berisi larutan inokulum. Botol ditutup, kemudian disimpan pada suhu ruang (28°C) selama 7 hari. Biakan murni *Trametes sp.* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Biakan murni *Trametes sp.*

2. Persiapan Daun Nenas

Daun nenas dipotong-potong sepanjang ± 2 cm. Kemudian disterilisasi selama 1 jam. Selanjutnya, didiamkan sampai dingin.



Gambar 5. Daun nenas yang digunakan sebagai sample

Bagian tanaman nenas yang disisihkan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Bagian tanaman nenas yang disisihkan

3. Pelaksanaan Percobaan

- a. Menimbang kantong plastik, tali rafia, dan label;

- b. Menimbang sebanyak ± 1 kg daun nenas yang sudah dikukus;
- c. Menuangkan kedalam ember/wadah;
- d. Menambahkan inokulum murni sebanyak 50 ml;
- e. Memasukkan sample kedalam kantung plastik;
- f. Menutup dan mengikat kantung plastik, lalu dilubangi, kemudian ditimbang;
- g. Menyimpan sample disuatu ruangan sesuai dengan tata letak (diinkubasi);
- h. Memanen sesuai dengan perlakuan;

4. Panen Fermentasi Daun Nenas

- a. Menimbang setiap sample dalam kantung plastik yang telah diinkubasi dan yang sesuai dengan lama inkubasi;
- b. Membuka tali rafia, kemudian hasil fermentasi dituang kedalam nampan dan dijemur dibawah sinar matahari ± 4 hari;
- c. Setelah kering, kemudan digiling menjadi tepung;
- d. Pengambilan sampel dan disimpan kedalam botol plastik serta diberi label;
- e. Selanjutnya dianalisis kadar air, lemak, protein, dan serat kasar.

F. Analisis Proksimat

1. Kadar Air

Cara kerja analisis kadar air (Fathul, 1999) yaitu:

- a. Memanaskan cawan porselin yang telah dibersihkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama ± 1 jam;

- b. Mendinginkan cawan porselin di dalam desikator selama 15 menit;
- c. Menimbang cawan porselin dan mencatat bobotnya (A);
- d. Memasukkan *sample* analisis ke dalam cawan porselin sekitar 1 gram dan kemudian mencatat bobotnya (B);
- e. Memasukkan cawan porselin berisi *sample* di dalam oven dengan suhu 105°C selama ≥ 6 jam;
- f. Mendinginkan di dalam desikator selama 15 menit;
- g. Menimbang cawan porselin berisi *sample* analisis tersebut (C);
- h. Menghitung kadar air dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{KA} = \frac{(\text{B} - \text{A}) - (\text{C} - \text{A})}{(\text{B} - \text{A})} \times 100\%$$

Keterangan:

KA : kadar air (%)

A : bobot cawan porselin (gr)

B : bobot cawan porselin berisi *sample* sebelum di oven (gr)

C : bobot cawan porselin berisi *sample* setelah di oven (gr)

2. Kadar Lemak

Cara kerja analisis kadar lemak (Fathul, 1999) yaitu:

- a. Memanaskan kertas saring dalam oven 105°C selama 1 jam, lalu mendinginkannya dalam desikator. Kemudian mencatat bobotnya (A);
- b. Menambahkan sampel dalam kertas saring lalu mencatat bobotnya (B);
- c. Melipat kertas saring tersebut dan menggunakannya untuk membungkus sampel dan memanaskan dalam oven 105°C selama 1 jam, lalu mendinginkan ke dalam desikator dan mencatat bobotnya (C);

- d. Memasukkan kertas saring yang berisi sampel ke dalam alat *sochlet* dan menambahkan *chloroform*, kemudian menghubungkan dengan labu didih dan *sochlet* dengan kondensor;
- e. Mengalirkan air ke dalamnya, lalu memanaskan selama 6 jam;
- f. Mematikan alat pemanas dan kran air lalu mengambil kertas saring berisi residu;
- g. Memanaskan kertas saring berisi residu di oven 105⁰C selama 6 jam dan mendinginkan di dalam desikator selama 15 menit lalu mencatat bobotnya (D);
- h. Menghitung kadar lemak dengan rumus sebagai berikut:

$$\mathbf{KL} = \frac{(C-A) - (D-A)}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

KL : kadar lemak (%)

A : bobot kertas saring (g)

B : bobot kertas saring berisi sampel sebelum dipanaskan (g)

C : bobot kertas saring berisi sampel sesudah dipanaskan (g)

D : bobot kertas saring berisi *residus* etelah dipanaskan (g)

Melakukan analisis dua kali (*duplo*), kemudian menghitung rata-rata kadar lemak dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\mathbf{Kadar\ lemak\ (\%)} = \frac{KL_1 + KL_2}{2}$$

Keterangan:

KL₁ :kadar lemak kasar ulangan satu (%)

KL₂ :kadar lemak kasar ulangan dua (%)

3. Kadar Protein

Cara kerja analisis kadar protein kasar (Fathul, 1999) yaitu:

- a. Menimbang kertas saring biasa (6 x 6 cm) dan mencatat bobotnya (A);
- b. Memasukkan sampel sebanyak ± 1 gram dan mencatat bobotnya (B);
- c. Melipat kertas saring tersebut dan digunakan untuk membungkus sampel;
- d. Memasukkan kertas saring yang berisi sampel ke dalam labu *Kjeldahl* dan menambahkan 15 mL H_2SO_4 pekat (melakukan di ruang asam);
- e. Menambahkan katalis ke dalam labu *Kjeldahl* 0,2 gram atau secukupnya;
- f. Menyalakan alat destruksi dan mengerjakan proses destruksi;
- g. Mematikan larutan destruksi apabila sampel berubah menjadi larutan jernih;
- h. Mendinginkan sampel sampai dingin (tetap di ruang asam);
- i. Menambahkan 200 ml air suling kedalam labu *Kjeldahl*;
- j. Menyiapkan 25 ml larutan H_3BO_3 2% di gelas *erlenmeyer*, kemudian ditetesi 2 tetes indikator *metilblue red* (2 ; 1). Ujung alat kondensor dimasukkan ke dalam gelas tersebut dan harus dalam keadaan terendam;
- k. Mengalirkan air ke alat destilasi lalu menyalakan alat destilasi dan mengerjakan proses destilasi;
- l. Menambahkan 50 ml NaOH 45% ke dalam labu *Kjeldahl* tersebut secara cepat (sekaligus) dan hati-hati, jangan digoyang atau dikocok;
- m. Mengamati larutan yang terdapat di dalam gelas *erlenmeyer*;
- n. Mengangkat ujung alat kondensor yang terendam apabila larutan telah menjadi sebanyak $\frac{2}{3}$ bagian dari gelas tersebut;
- o. Mematikan alat destilasi lalu mematikan kran air;

- p. Membilas ujung alat kondensor dengan air suling;
- q. Menyiapkan peralatan untuk titrasi;
- r. Mengisi *buret* dengan larutan HCl 0,1 N. Mengamati angka pada *buret* dan mencatatnya (L_1);
- s. Melakukan titrasi dengan perlahan-lahan. Mengamati larutan yang terdapat pada gelas *erlenmeyer*;
- t. Menghentikan titrasi bila larutan berubah dari hijau menjadi warna keunguan;
- u. Mengamati angka pada *buret* dan mencatatnya (L_2);
- v. Melakukan hal yang sama pada *blanko* (tanpa sampel analisis);
- w. Menghitung presentase nitrogen dengan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{(L_{\text{sampel}} - L_{\text{blanko}}) \times N_{\text{asam}} \times N / 1.000}{(B - A)} \times 100\%$$

Keterangan:

N : besarnya kandungan nitrogen (%)

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

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

N asam : normalitas HCl sebesar 0,1

N : berat atom nitrogen sebesar 14

A : bobot kertas saring biasa (gr)

B : bobot kertas saring biasa berisi sampel (gr)

Menghitung kadar protein kasar dengan rumus sebagai berikut:

$$KP = N \times fp$$

Keterangan:

KP : kadar protein kasar (%)

N : kandungan nitrogen (%)

Fp : angka faktor protein untuk pakan nabati sebesar 6,25

Melakukan analisis dua kali (*duplo*), kemudian melakukan perhitungan rata-rata kadar protein kasar menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rata-rata kadar protein kasar (\%)} = \frac{KP_1 + KP_2}{2}$$

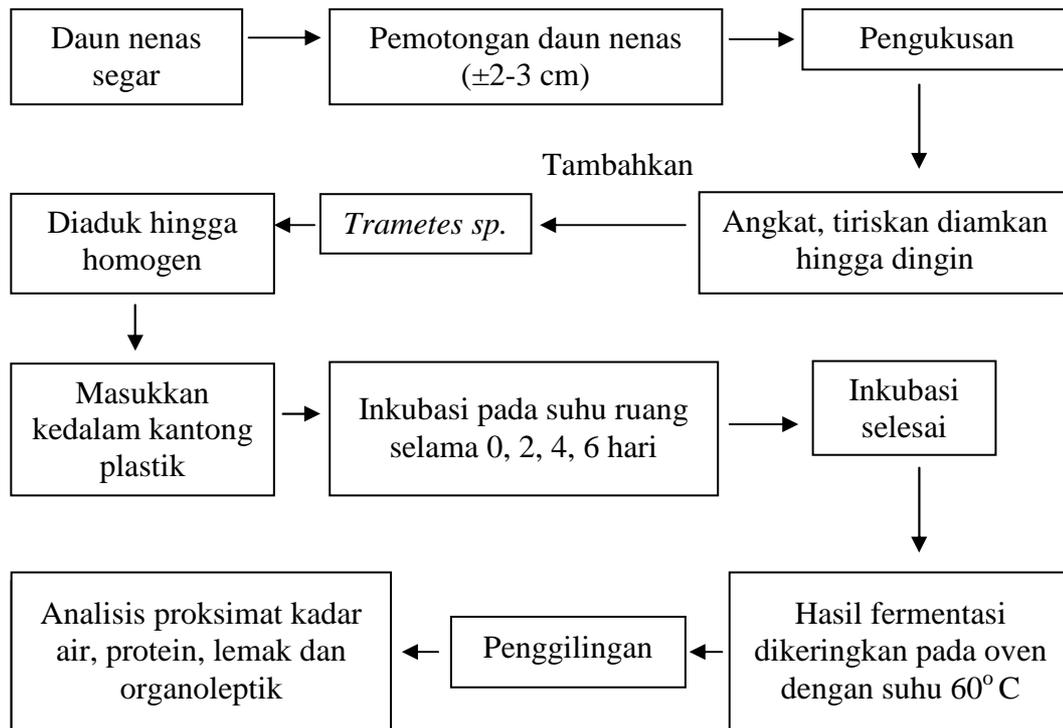
Keterangan:

KP₁ : kadar protein kasarulangan 1 (%)

KP₂ : kadar protein kasarulangan 2 (%)

G. Peubah yang Diamati

Peubah yang akan diamati dalam penelitian ini terdiri dari uji organoleptik, kadar air, kadar protein, dan kadar lemak. Tata alur pada penelitian ini disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Tata alur percobaan