

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung mulai Agustus – September 2014.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: limbah tanaman singkong, *Pennisetum purpureum*, aquades, glukosa, tepung gapek,  $H_2SO_4$  0,25 N, NaOH 0,313 N,  $H_2SO_4$  pekat, NaOH 45%, HCl 0,1 N, asam borat, dan *petroleum ether*. Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik, 1 set peralatan analisis proksimat, *chopper*, kantong plastik, *blender*, nampan, 1 set peralatan analisis kadar  $NH_3$  dengan metode *micro diffuse conway*, dan pH *paper universal*.

#### **3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data**

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga terdapat 16 satuan percobaan. Perlakuan terdiri dari:

- P<sub>0</sub>: silase limbah tanaman singkong tanpa suplementasi,
- P<sub>1</sub>: silase limbah tanaman singkong dengan penambahan 30 ml inokulum bakteri asam laktat,
- P<sub>2</sub>: silase limbah tanaman singkong dengan penambahan 5% tepung gapplek,
- P<sub>3</sub>: silase limbah tanaman singkong dengan penambahan kombinasi inokulum bakteri asam laktat dan tepung gapplek.

Data statistik yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menghitung sidik ragam dengan taraf nyata 5 % dan atau 1 %. Apabila diperoleh hasil yang nyata pada taraf nyata 5% maka akan dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT). (Steel dan Torrie, 1995).

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini meliputi persiapan sampel, pembuatan silase limbah tanaman singkong, analisis kandungan NH<sub>3</sub> dengan metode *micro diffuse conway*, pengukuran nilai pH, analisis kandungan nutrisi silase limbah tanaman singkong meliputi kadar bahan kering, kadar abu, kadar protein kasar, kadar lemak kasar, kadar serat kasar, dan kadar BETN dengan metode analisis proksimat.

#### **3.4.1 Persiapan sampel**

- a. Menyiapkan inokulum bakteri asam laktat dari ekstrak rumput terfermentasi umur 40 hari dengan cara memotong *Pennisetum purpureum* setinggi 15 cm dari permukaan tanah, kemudian melakukan perbanyakkan bakteri asam laktat dari ekstrak rumput terfermentasi dengan metode perbanyakkan bakteri asam laktat

berdasarkan metode Bureenok dkk. (2006) yakni sebanyak 220 gram rumput segar ditambahkan dengan 1000 ml aquades kemudian mencampur dengan menggunakan *blender* selama 4 menit. Menyaring campuran tersebut menggunakan kain. Sebanyak 600 ml ekstrak yang dihasilkan, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 18 gram glukosa. Mengaduk ekstrak selama 15 menit, kemudian menginkubasi secara anaerob pada temperatur 30°C. Setelah diinkubasi selama 2 hari, ekstrak digunakan sebagai aditif proses ensilase limbah tanaman singkong. Inokulum bakteri asam laktat dari ekstrak rumput terfermentasi yang digunakan sebanyak 30 ml/kg bahan segar pembuatan silase.



Gambar 1. Inokulasi bakteri asam laktat

- b. Menyiapkan limbah tanaman singkong berupa batang, dan daun singkong dengan varietas singkong UJ-3 (Thailand) sebanyak 16 kg, keunggulan varietas ini yaitu memiliki waktu tanam yang singkat yakni 6 – 8 bulan, tahan terhadap hama, dan lebih banyak mengandung pati. Bagian tanaman yang dimanfaatkan yaitu daun, tangkai, dan batang muda, dengan proporsi penggunaan batang sebanyak 55,34 % dan daun sebanyak 44,66% seperti pada Gambar 2. Mencacah limbah tanaman singkong dengan *chopper* dan melayukannya selama 16 jam.



Gambar 2. Pengambilan sampel limbah tanaman singkong

### **3.4.2 Pembuatan silase**

- Menimbang sampel silase limbah tanaman singkong.
- Mencampur limbah tanaman singkong yang sudah dilayukan dengan inokulum bakteri asam laktat, tepung gapplek, dan kombinasi inokulum bakteri asam laktat dan tepung gapplek. Memasukkan campuran tersebut kedalam masing masing kantung plastik dengan perlakuan berbeda, memadatkan bahan silase serta menutup rapat kantung plastik.
- Melakukan fermentasi selama 23 hari.

- d. Meletakkan silase sesuai tata letak yang telah ditentukan.



Gambar 3. Pembuatan silase limbah tanaman singkong

### **3.4.3 Analisis kandungan NH<sub>3</sub> dan pH silase limbah tanaman singkong**

Kandungan NH<sub>3</sub> diukur dengan menggunakan metode *micro diffuse conway*

(University of Winconsin, 1966) yaitu:

- a. menimbang 20 gram sampel dan menambahkan 100 ml aquades, kemudian memblender sampel,
- b. menyaring cairan sampel yang telah diblender ke dalam erlenmeyer,
- c. mengambil dan meletakkan cairan sampel di sebelah kanan cawan *conway*, kemudian meletakkan 1 ml asam borat 2% di bagian tengah cawan *conway*, menambahkan 2 tetes indikator *methilen blue*,
- d. menyuntikkan 1 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh di sebelah kiri,
- e. menutup cawan *conway* dan membiarkan selama 24 jam pada suhu kamar,

- f. setelah dibiarkan 24 jam pada suhu kamar, ammonium borat dititrasikan dengan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0143 N sampai terjadi perubahan warna menjadi warna asal larutan asam borat yang dipakai,
- g. menghitung kandungan  $\text{NH}_3$  dengan rumus:

$$\text{N-amonia} = (\text{ml titrasi} \times \text{N } \text{H}_2\text{SO}_4 \times 1000) \text{ mM.}$$



Gambar 4. Perubahan warna setelah titrasi

Penilaian pH dilakukan dengan cara:

- a. menimbang 20 gram sampel dan menambahkan 100 ml aquades, kemudian memblender sampel,
- b. menyaring cairan sampel yang telah diblender ke dalam erlenmeyer,
- c. menilai pH silase dengan menggunakan pH *paper universal*.

### 3.4.4 Analisis kandungan nutrisi silase limbah tanaman singkong

Sebelum melakukan analisis proksimat, terlebih dahulu mengeringkan sampel di oven pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 6 jam untuk mendapatkan sampel silase limbah tanaman singkong pada keadaan kering udara. Keadaan kering udara menyebabkan sebagian air hilang selama pengovenan. Kemudian memblendernya sampel hingga halus untuk dianalisis proksimat. Analisis kandungan nutrisi silase limbah tanaman singkong menggunakan metode analisis proksimat menurut Fathul, dkk. (2013).



Gambar 5. Silase limbah tanaman singkong dalam keadaan kering udara

#### **3.4.4.1 Analisis kadar bahan kering**

Analisis kadar bahan kering dilakukan dengan cara:

- a. memanaskan cawan petri kedalam oven dengan suhu  $135^0\text{C}$  selama 15 menit,
- b. mendinginkan cawan petri kedalam desikator selama 15 menit,
- c. menimbang bobot cawan petri (A),
- d. memasukkan sampel analisis dan menimbang bobotnya (B),
- e. memanaskan cawan petri berisi sampel analisis kedalam oven dengan suhu  $135^0\text{C}$  selama 2 jam,
- f. mendinginkan cawan petri berisi sampel analisis kedalam desikator,
- g. menimbang bobotnya (C).

Perhitungan kadar bahan kering dilakukan dengan rumus:

$$\text{Kadar bahan kering (\%)} = 100\% - \% \text{KA}.$$

#### **3.4.4.2 Analisis kadar abu**

Analisis kadar abu dilakukan dengan cara:

- a. memanaskan cawan porselen kedalam oven bersuhu  $135^0\text{C}$  selama 15 menit,
- b. mendinginkan cawan porselen kedalam desikator selama 15 menit,
- c. menimbang bobot cawan porselen (A),
- d. memasukkan sampel analisis dan menimbang bobotnya (B),
- e. memanaskan cawan porselen berisi sampel analisis kedalam tanur dengan suhu  $600^0\text{C}$  selama 2 jam,
- f. mendinginkan cawan porselen berisi sampel analisis kedalam desikator,
- g. menimbang bobotnya (C).

Kadar abu (%) dihitung dengan rumus=  $\frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$



Gambar 6. Proses pengabuan di dalam tanur

#### 3.4.4.3 Analisis kadar protein kasar

Analisis kadar protein dilakukan dengan cara:

- a. menimbang bobot sampel (A),
- b. memasukkan sampel analisis ke dalam labu kjeldhal,
- c. menambahkan  $H_2SO_4$  sebanyak 10 ml ke dalam labu kjeldhal,
- d. mendestruksi sampel analisis di ruang asam, dengan menghidupkan alat destruksi,
- e. mematikan alat destruksi jika larutan berubah menjadi bening kehijauan,
- f. mematikan alat destruksi,
- g. menambahkan 200 ml aquades ke dalam labu kjeldhal berisi sampel analisis yang sudah didestruksi,

- h. melakukan destilasi dengan cara menambahkan 50 ml NaOH 45% ke dalam labu kjeldhal,
- i. menuangkan 25 ml asam borat ke *beaker glass* dan menetesinya dengan *methilen blue* sebanyak 2 tetes,
- j. menyalakan alat destilasi, dengan mencelupkan selang destilasi ke dalam *beaker glass* hingga terendam,
- k. mengamati perubahan warna yang ada di *beaker glass* hingga berubah menjadi hijau,
- l. melakukan titrasi dengan HCl 0,1 N apabila larutan yang ada di *beaker glass* telah mencapai 150 ml,
- m. mengamati perubahan warna hingga berwarna ungu,
- n. menghitung kadar protein kasar, dengan rumus:

$$N = \frac{L(\text{sampel}) - L(\text{blanko}) \times N_{\text{basa}} \times N/1000}{B} \times 100\%$$

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

Keterangan:

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



Gambar 7. Perubahan warna setelah proses titrasi

#### **3.4.4.4 Analisis kadar lemak kasar**

Analisis kadar lemak dilakukan dengan cara:

- a. menimbang bobot kertas saring (A),
- b. memasukkan sampel analisis ke dalam kertas saring dan menimbangnya (B),
- c. melipat kertas saring,
- d. meletakkan kertas saring berisi sampel analisis ke dalam alat soxhlet,
- e. memasangkan labu didih berisi 250 ml *chloroform*,
- f. menyalakan kompor,
- g. menunggu *chloroform* hingga mendidih, dan menunggu hingga 6 jam,
- h. mengoven kertas berisi sampel selama 2 jam bersuhu 135° C,
- i. mendinginkan kertas berisi sampel ke dalam desikator,
- j. menimbang bobotnya (D).

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

Keterangan:

BK : Kadar bahan kering sampel analisis (%).

#### **3.4.4.5 Analisis kadar serat kasar**

Kadar serat kasar dihitung dengan cara:

- a. menimbang bobor kertas *whatman ashless* (A),
- b. menimbang bobot sampel analisis (B),
- c. memasukkan sampel analisis ke dalam erlenmeyer,
- d. menambahkan 200 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25 N ke dalam erlenmeyer,
- e. melakukan reflux selama 30 menit terhitung setelah mendidih,
- f. menyaring sampel analisis dengan kertas *whatman ashless*,

- 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  $135^{\circ}\text{C}$ ,
- j. mendinginkan kertas *whatman ashless* berisi residu ke dalam desikator,
- k. menimbang bobot kertas berisi residu (C),
- l. menimbang cawan porselen yang sudah di oven selama 15 menit pada suhu  $135^{\circ}\text{C}$  (D),
- m. memasukkan kertas berisi residu ke dalam cawan porselen dan menimbang bobot nya (E),
- n. memasukkan cawan porselen berisi kertas dan residu kedalam tanur bersuhu  $600^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam,
- o. mendinginkan cawan berisi abu ke dalam desikator selama 15 menit,
- p. menimbang bobotnya (F).

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

#### **3.4.4.6 Analisis kadar BETN**

Kadar bahan ekstrak tanpa nitrogen dihitung dengan rumus:

$$BETN (\%) = 100\% - \% (KA - Kabu - KPK - KLK - KSK).$$

Keterangan : (KA : kadar air (%); Kabu : kadar abu (%); KPK : kadar protein kasar (%); KLK : kadar lemak kasar (%); KSK : kadar serat kasar (%)).

### **3.5 Peubah yang Diamati**

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar NH<sub>3</sub>, pH, kadar bahan kering, abu, protein kasar, lemak kasar, serat kasar, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN).