

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2010 sampai dengan Februari 2011 bertempat di Laboratorium Ilmu Ternak Perah Sapi Perah, Laboratorium Ilmu Makanan Ternak, Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang serta Laboratorium Ilmu Tanah, Universitas Sebelas Maret, Solo.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah feses sapi potong sebagai bahan utama dan serbuk gergaji sebagai bahan tambahan pada bahan isian digester biogas, serta air sebagai pengencer. Serbuk gergaji yang digunakan berasal kayu kelapa atau glugu. Kadar bahan kering (BK) dan C/N rasio feses sapi dan serbuk gergaji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar BK dan C/N Rasio Feses Sapi dan Serbuk Gergaji

Bahan	BK	C/N
	----- (%) -----	
Feses sapi	21,67	22,41
Serbuk gergaji	82,50	57,06

Alat yang digunakan adalah 8 buah rangkaian digester yang terbuat dari toples plastik kapasitas 750 ml, selang plastik bening berdiameter 1 cm panjang \pm 70 cm, lem pipa, malam, tutup suntikan, nampan, ember plastik, termometer. Botol kapasitas 250–300 ml sebagai tempat untuk menampung *slurry* agar dapat dilakukan analisis total bakteri dan keasaman (pH), serta pH indikator untuk

analisis keasaman. Inkubator, otoklaf, *quebec colony counter*, *vaccum jar*, *food server*, timbangan analitik, cawan petri, pipet ukur, tabung reaksi, aluminium foil, pembakar bunsen, *magnetic stirrer*, dan gelas ukur untuk perlengkapan analisis total bakteri.

3.2. Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian variabel dan analisis data. Tahap produser penelitian meliputi penyiapan materi dan pelaksanaan penelitian. Tahap pengujian variabel meliputi pengujian total bakteri anaerob, pengamatan produksi gas dan kecepatan produksi gas.

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan tersebut adalah T_0 (kontrol) berupa feses sapi dan T_1 (perlakuan) berupa feses sapi dan serbuk gergaji.

3.2.2. Prosedur penelitian

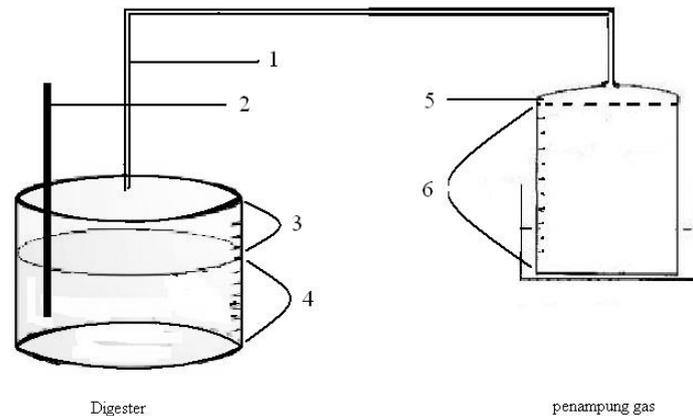
3.2.2.1. Persiapan penelitian. Penyiapan materi penelitian berupa feses sapi dan serbuk gergaji dilakukan untuk mengetahui data-data yang diperlukan untuk menunjang kegiatan penelitian. Data yang perlu diketahui adalah kadar bahan kering (BK) dan rasio C:N dari feses sapi potong sebagai bahan baku serta serbuk

gergaji sebagai bahan tambahan. Selanjutnya, pembuatan unit biogas model digester *bacth feeding* dengan penangkap gas sistem tetap (*fixed*). Bahan utama dalam pembuatan dua unit digester biogas ini yaitu toples kapasitas 750 ml sebagai tabung pencerna dan gelas ukur kapasitas 1 liter sebagai tabung penangkap gas.

3.2.2.2. Pelaksanaan penelitian. Pada tahap awal pelaksanaan penelitian terlebih dahulu harus menghitung komposisi feses dan serbuk gergaji serta air sebagai bahan pengencer. Pada uji rasio C:N bahan baku diperoleh hasil 57,06 : 1 (serbuk gergaji) dan 22,41 : 1 (feses sapi potong) sehingga untuk menghasilkan rasio C:N optimum 27:1 pada T₁ dibutuhkan 144 g feses sapi potong dan 6 g serbuk gergaji serta 300 g air sebagai pengencer. Perhitungan komposisi bahan dapat dilihat pada Lampiran 7.

Pengisian bahan digester dilakukan dilakukan 1 kali saja tanpa adanya pengisian ulang ataupun pengisian kontiyu (berulang – ulang). Digester yang digunakan pada penelitian ini berupa digester *bacth feeding* dengan penampung gas model tetap (*fixed*) menggunakan dua unit digester biogas (Ilustrasi 2). Satu unit digester pertama sebagai tabung pencerna dan satu unit digester kedua sebagai tabung penangkap gas. Setelah proses pengisian selesai dilakukan, dilanjutkan dengan melakukan pengamatan terhadap hasil pengukuran produksi gas dan kecepatan produksi gas pada tabung penangkap gas selama \pm 28 hari pada waktu yang telah ditentukan hingga proses pembentukan biogas berhenti. Selama proses pengamatan terhadap produksi gas dan kecepatan produksi gas dilakukan juga pengamatan terhadap perubahan

suhu yang terjadi dengan cara mencatat perubahan skala alat termometer pada tabung pencerna.



Keterangan :

1. Selang penghubung digester dengan penampung gas
2. Termometer
3. Sisa ruang digester
4. Slury
5. Produksi gas yang dihasilkan
6. Air

Ilustrasi 2. Model Digester *Batch Feeding* dengan Penangkap Gas Sistem Tetap (*Fixed*)

Selain itu, dalam pelaksanaan penelitian ini dilakukan juga analisis proksimat dan uji total bakteri anaerob. Analisis proksimat dilakukan terhadap bahan isian sebelum terjadi proses pembentukan biogas dan setelah proses pembentukan biogas terhenti. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kandungan nutrien yang dimanfaatkan oleh bakteri metanogenik selama proses pembentukan biogas. Sementara itu, uji total bakteri anaerob dilakukan setiap seminggu sekali terhadap bahan isian yang disimpan pada botol bekas kapasitas 250 – 300 ml, sehingga ada 4 kali pengujian total bakteri anaerob dalam pengujian ini (setiap

tabung pencerna tersedia 4 buah botol). Selanjutnya dilakukan analisis di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui total bakteri anaerob yang sangat berpengaruh terhadap produksi gas ataupun kecepatan produksi gas selama proses pembentukan biogas sedang berlangsung hingga terhenti.

3.2.3. Variabel penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah total bakteri anaerob, produksi gas dan kecepatan produksi gas. Selain variabel utama yang diamati juga terdapat data pendukung dalam penelitian ini. Data pendukung yang digunakan dalam penelitian ini yaitu nilai pH sebelum dilakukan uji total bakteri anaerob, kandungan nutrisi bahan isian pada awal pengisian digester, temperatur pada digester pencerna, dan kandungan nutrisi pada bahan isian setelah proses pembentukan biogas selama 28 hari. Nilai pH diukur dengan menggunakan pH indikator. Kandungan nutrisi bahan isian sebelum dan setelah proses pembentukan biogas berhenti diketahui melalui analisis proksimat. Temperatur pada digester pencerna diukur dengan menggunakan termometer.

Total bakteri anaerob ditetapkan dengan menghitung total bakteri anaerob pada *slurry*. Jumlah bakteri anaerob diukur dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) modifikasi (Fardiaz, 1989). Pengamatan dilakukan dengan menghitung total bakteri anaerob (mencerminkan total bakteri methanogenik). Pengujian jumlah bakteri anaerob dilakukan dengan menggunakan metode TPC, yaitu terlebih dahulu melakukan pengenceran dengan perbandingan 1:10 (5 g

dalam 45 ml), kemudian dilakukan pengenceran sebanyak 3 kali dengan perbandingan 1:9, masing-masing pengenceran dimasukkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung yang telah berisi aquades. Selanjutnya dari masing-masing pengenceran diambil dengan pipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Kemudian ke dalam cawan tersebut dimasukkan agar cair steril yang telah didinginkan hingga suhu $47 - 50^{\circ}\text{C}$ sebanyak 15 - 20 ml. Selama penuangan medium tutup cawan tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk menghindari kontaminasi dari luar. Segera setelah penuangan cawan petri digerakkan dengan hati-hati untuk menyebarkan sel-sel mikroorganisme secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan. Setelah itu dimasukkan ke dalam tabung vacuum (*vaccum jar*) dan dilanjutkan dengan inkubasi di incubator pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Setelah akhir masa inkubasi koloni yang terbentuk dihitung. Setiap koloni yang dianggap berasal dari satu sel yang membelah menjadi banyak sel, meskipun mungkin juga berasal dari lebih dari satu sel yang letaknya berdekatan.

Perhitungan jumlah bakteri anaerob dilakukan dengan metode *Standard Plate Count* (SPC) yang menjelaskan mengenai cara menghitung koloni pada cawan serta cara memilih data yang ada untuk menghitung jumlah koloni di dalam suatu contoh. Caranya sebagai berikut: cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah bakteri antara 30 dan 300; beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan; dapat dihitung sebagai satu koloni; suatu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dapat dihitung sebagai satu

koloni. Menurut Fardiaz (1989) jumlah koloni per ml dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah koloni per ml} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \dots\dots\dots(1)$$

Produksi gas diukur selama \pm 28 hari (hingga proses pembentukan biogas berhenti) dengan mengamati dan mengukur skala penurunan volume air yang terdapat pada gelas ukur sebagai tabung penangkap gas. Penurunan volume air ini akibat adanya tekanan gas yang dihasilkan dari proses fermentasi secara anaerob pada tabung pencerna. Pengukuran dilakukan dengan melakukan perhitungan antara kondisi atau penurunan volume air skala awal dengan penurunan volume air skala setelahnya pada waktu yang telah ditentukan. Penurunan air pada tabung penangkap gas diukur menggunakan skala yang terdapat pada gelas ukur. Dari skala tersebut nantinya dapat diketahui produksi gas yang dihasilkan.

Kecepatan produksi gas dihitung mulai dari memasukan bahan isian kedalam tabung pencerna hingga akhir proses pembentukan biogas berhenti. Pengukuran kecepatan produksi gas dilakukan melalui pengamatan terhadap skala awal penurunan volume air dari tabung penangkap gas akibat adanya tekanan gas tabung pencerna hingga pada skala akhir tidak mengalami perubahan skala (konstan).

3.2.4. Analisis data

Penelitian ini menggunakan uji analisis t test (Sudjana 2005). Hasil rerata variabel dari masing-masing perlakuan diamati dan dibandingkan secara kuantitatif untuk kemudian hasil yang diperoleh dibahas dengan data atau

informasi pustaka. Uji parsial (uji t) dilakukan untuk mengetahui pengaruh *variable independent* secara individu (parsial) terhadap *variable dependent*.

Adapun langkah-langkah dalam melakukan uji t adalah:

1. Merumuskan hipotesis. Hipotesis yang diajukan adalah :

H_0 = Dalam waktu 28 hari, penambahan serbuk gergaji tidak berpengaruh terhadap variabel penelitian (produksi gas, jumlah bakteri anaerob, laju produksi gas) yang dilakukan.

H_1 = Dalam waktu 28 hari, penambahan serbuk gergaji berpengaruh terhadap variabel penelitian (produksi gas, jumlah bakteri anaerob, laju produksi gas) yang dilakukan.

2. Mengambil keputusan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

Jika $t_{hitung} \leq t_{tabel}$ maka :

- H_0 = (Dalam waktu 28 hari, penambahan serbuk gergaji tidak berpengaruh terhadap variabel penelitian) diterima.
- H_1 = (Dalam waktu 28 hari, penambahan serbuk gergaji berpengaruh terhadap variabel penelitian) ditolak.

Jika $t_{hitung} > t_{tabel}$ maka :

- H_0 = (Dalam waktu 28 hari, penambahan serbuk gergaji tidak berpengaruh terhadap variabel penelitian) ditolak.
- H_1 = (Dalam waktu 28 hari, penambahan serbuk gergaji berpengaruh terhadap variabel penelitian) diterima.