

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang. Kegiatan penelitian ini berlangsung pada bulan November 2014 sampai bulan Februari 2015. Penelitian untuk mengkaji upaya pemanfaatan limbah sawit sebagai pakan lengkap yang dilaksanakan dalam dua tahap kegiatan.

3. 1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan lengkap yang berbasis limbah perkebunan sawit berupa pelepah sawit, daun sawit, serat perasan sawit, tandan sawit, bungkil inti sawit, dan lumpur sawit. Reagensia yang digunakan untuk analisis RUDP dan pencernaan protein adalah akuades, larutan McDougall, cairan rumen sapi, kertas saring, gas CO₂, H₂SO₄ pekat, akuades, asam borat, NaOH 45%, pepsin HCl 0,1 N, HCl 0,1 N, indikator campuran MR + MB, dan selenium. Peralatan yang digunakan dalam penelitian seperangkat alat untuk analisis proksimat bahan pakan.

3. 2. Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan dan lima ulangan. Metode penelitian RUDP dan pencernaan protein pakan lengkap berbasis limbah perkebunan sawit secara *in vitro* menggunakan ransum yang mengandung PK

sebesar 12% dengan TDN bertingkat yaitu 60%, 63% dan 66%. Perlakuan yang diberikan adalah :

T1 : Pakan lengkap dengan TDN 60%

T2 : Pakan lengkap dengan TDN 63%

T3 : Pakan lengkap dengan TDN 66%

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap yaitu tahap persiapan dan tahap analisis. Tahap persiapan meliputi inventarisasi limbah perkebunan kelapa sawit, limbah yang sudah digiling selanjutnya dilakukan analisis proksimat bahan pakan, selanjutnya dilakukan formulasi pakan lengkap sesuai perlakuan yang sudah ditentukan, selanjutnya hasil formulasi akan lengkap dilakukan analisis proksimat untuk mengetahui kandungannya. Hasil analisis proksimat terhadap limbah perkebunan sawit disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Nutrien Bahan Pakan (100% BK)

Komponen	Pelepah Sawit	Daun sawit	Serat Perasan sawit	Tandan Kosong Sawit	Bungkil Inti Sawit	Lumpur Sawit
	------(%)-----					
BK	21,01	31,72	29,55	39,05	94,44	29,70
PK	7,70	8,58	6,11	5,07	12,59	18,83
SK	53,95	44,79	59,25	46,43	48,07	11,45
LK	2,46	4,59	5,00	1,54	10,33	22,47
Abu	13,97	7,68	5,36	14,51	4,22	9,41
BETN	21,93	34,36	24,27	32,35	24,79	37,83
TDN	31,32	63,38	30,40	39,16	76,88	77,12

Sumber : Hasil Analisis Penelitian

Analisis proksimat terhadap pakan perlakuan dilakukan. Persentase penggunaan masing-masing bahan pakan dalam formulasi bahan pakan lengkap disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase Penggunaan Bahan Pakan (100% BK)

Bahan Pakan	Penggunaan Bahan Pakan dalam Formulasi Pakan Lengkap		
	T1	T2	T3
	------(%)-----		
Pelepah Sawit	26,89	22,41	17,93
Daun Sawit	31,93	26,61	21,29
Serat Perasan Sawit	0,45	0,37	0,30
Tandan Kosong Sawit	0,73	0,61	0,48
Bungkil Inti Sawit	7,85	23,35	33,65
Lumpur Sawit	32,15	26,65	26,35
Total	100,00	100,00	100,00
Kandungan nutrient			
Abu	9,68	8,78	8,13
SK	36,87	38,79	38,80
LK	10,20	10,20	10,84
PK	12,00	12,00	12,00
BETN	31,32	30,22	29,79
TDN	60,00	63,00	66,00

Sumber : Hasil Analisis Penelitian

Tahap kedua diawali dengan pengambilan cairan rumen sapi dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) yang ada di Penggaron. Cairan rumen diambil dari sapi yang baru dipotong untuk mendapatkan kualitas cairan rumen yang baik. Termos diisi dengan air hangat dengan suhu 39°C, saat akan diisi cairan rumen, air yang ada di dalam termos dibuang dan dipastikan bahwa suhu di dalam termos tidak kurang dari 39°C. Cairan rumen dari sapi yang baru disembelih disaring dengan kain kasa dan dimasukkan ke dalam termos lalu ditutup rapat. Cairan

rumen tersebut kemudian dibawa ke laboratorium untuk digunakan dalam analisis pencernaan secara *in vitro*.

Prosedur pengukuran *Rumen Undegraded Protein* (RUDP)

Prosedur pengukuran RUDP dilakukan dengan penimbangan sampel sebanyak 0,55-0,56 g untuk setiap masing-masing tabung kemudian ditambahkan 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen ke dalam tabung fermentor, serta dialiri dengan gas CO₂ dan kemudian tabung fermentor ditutup dengan rapat. Tabung fermentor diinkubasi ke dalam rak *waterbath* yang sudah berisi air bersuhu konstan 39⁰C selama 48 jam. Setiap 6 jam sekali dilakukan penggojokan. Inkubasi selesai (48 jam), selanjutnya tabung diangkat dari *waterbath* dan dimasukkan ke dalam air dingin agar fermentasi berhenti. Residu disaring dengan kertas saring Whatman 40 dengan bantuan pompa vakum. Kemudian dicuci dengan menggunakan aquades untuk membersihkan residu pada tabung. Residu yang diperoleh selanjutnya dianalisis jumlah proteinnya untuk mengetahui besarnya RUDP dengan menggunakan metode Kjeldahl. Besarnya protein yang tidak didegradasi (RUDP) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{RUDP} = \frac{\text{PK Residu (g)}}{\text{PK Sampel (g)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{PK Residu} &= \text{Protein setelah inkubasi fermentatif} \\ &= (\text{Titran sampel} - \text{Titran blanko}) \times N \text{ HCl} \times 0,014 \times 6,25 \text{ (g)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{PK Sampel} &= \text{protein sebelum inkubasi} \\ &= \text{sampel} \times \% \text{PK ransum (g)} \end{aligned}$$

Kecernaan Protein

Pengukuran kecernaan protein dilakukan dengan penimbangan sampel sebanyak 0,55-0,56 g untuk setiap masing-masing tabung, kemudian ditambahkan 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen ke dalam tabung fermentor, serta dialiri gas CO₂ agar suasana menjadi anaerob, lalu tabung ditutup rapat dan inkubasi dalam waterbath yang sudah berisi air dengan suhu 39⁰C selama 48 jam. Penggojokan dilakukan setiap 6 jam sekali. Inkubasi selama 48 jam selesai selanjutnya, fermentasi dihentikan dengan cara tabung fermentor dipindahkan dari inkubator ke wadah lain yang berisi air dingin. Sempel kemudian disentrifius dengan kecepatan 3000 rpm selama 8-10 menit untuk memisahkan cairan dengan residu. Larutan pepsin HCl sebanyak 50 ml ditambahkan pada residu yang kemudian diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 39⁰C dengan setiap 6 jam sekali dilakukan penggojokan. Setelah 48 jam maka endapan yang telah diinkubasi selama 48 jam tersebut kemudian disaring dengan kertas saring untuk memperoleh residunya. Residu yang telah didapat kemudian dianalisis proteinnya dengan menggunakan metode Kjeldahl. Perhitungan nilai kecernaan protein:

Kecernaan Protein =

$$\frac{\text{PK Sampel} - (\text{PK Residu} - \text{PK Blanko})}{\text{PK Sampel}} \times 100\%$$

PK Residu = Protein setelah inkubasi enzimatis

$$= (\text{Titran sampel} - \text{Titran blanko}) \times N \text{ HCl} \times 0,014 \times 6,25 \text{ (g)}$$

PK Sampel = Protein sebelum inkubasi

$$= \text{sampel} \times \% \text{PK ransum (g)}$$

$$\text{PK Blanko} = (\text{Titran blanko}) \times N \text{ HCl} \times 0,014 \times 6,25 \text{ (g)}$$

3.3. Analisis Data

Model linier untuk seluruh nilai pengamatan dengan rancangan acak lengkap adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j$$

Keterangan :

α_i	=	perlakuan rasio energi protein (1, 2 dan 3)
β_j	=	ulangan ke (1,2,3,4 dan 5)
Y_{ij}	=	hasil pengamatan pencernaan protein dan <i>undegraded</i> protein pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
μ	=	Nilai tengah umum (rata-rata populasi)
α_i	=	Pengaruh perlakuan rasio energi protein ke-i
β_j	=	Pengaruh galat perlakuan rasio energi protein ke-i dan ulangan ke-j

Variabel yang diamati yaitu RUDP dan pencernaan protein secara *in vitro*. Data hasil pengamatan diolah secara statistik dengan analisis ragam (ANOVA), jika hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) akibat perlakuan maka untuk mengetahui perbedaan antar nilai tengah perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (Sudjana, 1981).

Hipotesis statistika dari penelitian ini adalah :

H_0 : $\alpha_1 = \alpha_2 = \dots = \alpha_5 = 0$ (yang berarti tidak ada pengaruh rasio energi-protein pada pakan lengkap terhadap *rumen undegrade protein* (RUDP) dan pencernaan protein).

H_1 : minimal ada satu $\alpha_i \neq 0$ ($i = 1, 2, \dots, 5$), (yang artinya minimal ada satu pengaruh rasio energi-protein pada pakan lengkap yang mempengaruhi *rumen undegrade protein* (RUDP) dan pencernaan protein).

Kriteria pengujian adalah sebagai berikut :

- Jika $F_{hit} < F_{tabel}$, maka H_0 diterima.
- Jika $F_{hit} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak