

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian ini dilaksanakan bulan Maret sampai April 2015 di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

#### **3.1. Materi**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami jagung, jerami jagung amoniasi, onggok, polar, bungkil kelapa, molases, garam, calcit, starvit, *go pro*, *soyxml*, dan tepung kedelai. Bahan yang digunakan antara lain cairan rumen domba, larutan McDougall, larutan pepsin HCl, CO<sub>2</sub>, akuades, supernatan, indikator metil merah, H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> 4%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0055 N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh, indikator PP 1%, NaOH 0,5 N, HCl 0,5 N dan vaselin. Alat yang digunakan antara lain tabung fermentor, inkubator, oven, tanur, pompa vakum, eksikator, kertas saring, timbangan analitik, centrifuge, cawan conway, peralatan titrasi, erlenmeyer, pipet ukur, cawan porselen, pendingin leibig, beker glass, tabung suling khusus, stirer dan kompor.

#### **3.2. Metode**

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap, yang meliputi tahap persiapan dan tahap pelaksanaan.

### 3.2.1. Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi penyediaan materi dan peralatan yang digunakan dalam penelitian, penggilingan jerami jagung, amoniasi jerami jagung yang telah digiling, dan analisis proksimat pada bahan pakan penyusun TMR. Kandungan nutrisi bahan pakan penyusun TMR dapat dilihat pada Tabel 1. Penyusunan TMR berdasarkan hasil analisis proksimat pada bahan pakan. Komposisi TMR dan kandungan nutrisinya disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Bahan Pakan

Bahan Pakan	Kandungan Nutrien							
	BK	PK	TDN	LK	SK	BETN	ABU	BO
-----(%BK)-----								
Onggok	88,04	1,54	79,32	0,39	9,15	81,04	7,88	92,12
Polar	88,88	16,64	71,37	4,04	16,92	56,44	5,96	94,04
Bungkil Kelapa	92,52	20,97	63,32	12,21	36,09	24,06	6,66	93,34
Molases	75,16	1,91	89,41	1,18	0,01	96,84	10	90
Garam	95	1,01	0	0	0	0	0	100
Calcit	99,73	0,53	0	0	0	0	98,73	1,27
Starvit <sup>®</sup>	98,01	0,08	0	0	0	0	86,09	13,91
Gopro <sup>®</sup>	94,93	81,02	90,41	3,38	6,04	56	15,85	84,15
Protein <i>by-pass</i> (Soyxyl <sup>®</sup> )	94,19	38,28	92,8	10,71	31,11	14,69	5,81	94,19
Tepung Kedelai	91,62	28,57	96,45	19,97	7,34	39,08	5,04	94,96
Jerami Jagung	91,62	5,53	54,98	2,01	31,55	49,41	11,51	88,49
Jerami Jagung Amoniasi	88,66	10,31	56,19	1,72	30,92	47,33	9,73	90,27

Keterangan : <sup>®</sup> produk komersial yang diproduksi oleh CV. Berkah Intan Sentosa

Tabel 2. Komposisi TMR.

Bahan Pakan	A0			A1		
	S0	S5	S10	S0	S5	S10
	-----(%BK)-----					
Onggok	7,50	8,50	11,50	10,50	13,00	16,50
Polar	23,30	25,30	23,30	22,00	21,50	17,80
Bungkil kelapa	14,00	11,00	10,00	13,00	11,00	11,20
Molases	1	1	1	1	1	1
Garam	1	1	1	1	1	1
Calcit	1	1	1	1	1	1
Starvit <sup>®</sup>	1	1	1	1	1	1
Gopro <sup>®</sup>	1,2	1,2	1,2	0,5	0,5	0,5
Protein <i>by-pass</i> (Soyxyl <sup>®</sup> )	-	5	10	-	5	10
Tepung Kedelai	10	5	-	10	5	-
Jerami jagung	40	40	40	-	-	-
Jerami jagung Amoniasi	-	-	-	40	40	40
Jumlah	100	100	100	100	100	100

Tabel 3. Kandungan nutrisi TMR.

Nutrien	A0			A1		
	S0	S5	S10	S0	S5	S10
	-----(%BK)-----					
PK	13,00	13,20	13,19	13,97	13,99	13,95
TDN	65,05	65,20	65,33	65,72	65,91	65,98
ABU	10,15	10,20	10,28	9,42	9,5	9,61
BO	89,84	89,80	89,72	90,58	90,50	90,39
BK	91,10	91,11	91,17	89,75	89,64	89,75
SK	23,11	23,64	24,41	22,73	23,11	24,07
LK	5,53	4,78	4,13	5,27	4,51	3,94
BETN	47,90	47,90	47,74	47,65	48,18	47,76

### 3.2.2. Tahap Pelaksanaan

**3.2.2.1. Pengukuran KcBK dan KcBO.** Pengukuran pencernaan dilaksanakan berdasarkan metode Tilley dan Terry (1966). Tabung fermentor yang telah dicuci dan dikeringkan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 110°C disiapkan. Sampel ditimbang seberat 0,55-0,56 g dan dimasukkan ke dalam tabung fermentor

kemudian ditambahkan 10 ml cairan rumen dan 40 ml larutan McDougall. Tabung digojok dan dialiri CO<sub>2</sub> selama 30 detik untuk menciptakan kondisi *anaerob* kemudian ditutup dengan karet berventilasi, dan diinkubasi selama 48 jam dalam *water bath* dengan suhu 39°C. Tabung fermentor digojok setiap 6 jam. Setelah 48 jam, tabung fermentor dimasukkan ke dalam ember berisi air dingin. Tabung fermentor dicentrifuge dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Substrat akan terpisah menjadi endapan dibagian bawah dan supernatan yang bening berada dibagian atas.

Residu hasil sentrifugasi ditambahkan 50 ml larutan pepsin-HCl 0,2% kemudian ditutup dan diinkubasikan selama 48 jam dan dilakukan penggojokkan setiap 6 jam. Setelah 48 jam inkubasi dihentikan dengan cara menyaring residu dengan kertas saring dan bantuan pompa vakum. Residu hasil penyaringan dimasukkan ke dalam cawan porselen yang sudah diketahui bobotnya dan dikeringkan dalam oven hingga bobotnya konstan dan ditimbang untuk mengetahui BK residu. Selanjutnya bahan kering yang didapat dipijarkan atau diabukan dalam tanur listrik selama 6 jam pada suhu 450-600°C untuk mengetahui bahan organiknya. Sebagai blanko dipakai residu asal fermentasi tanpa sampel bahan pakan. Kecernaan bahan kering dan bahan organik dihitung dengan rumus :

$$\% KcBK = \frac{BK \text{ sampel (g)} - (BK \text{ residu (g)} - BK \text{ Blanko (g)})}{BK \text{ Sampel}} \times 100\% \dots(1)$$

$$\% KcBO = \frac{BO \text{ sampel (g)} - (BO \text{ residu (g)} - BO \text{ Blanko (g)})}{BO \text{ Sampel}} \times 100\% \dots(2)$$

**3.2.2.2. Pengukuran produksi VFA.** Sampel ditimbang seberat 0,55-0,56 g dan dimasukkan ke dalam tabung fermentor kemudian ditambahkan 10 ml cairan rumen dan 40 ml larutan McDougall. Tabung digojok dan dialiri CO<sub>2</sub> selama 30 detik untuk menciptakan kondisi *anaerob* kemudian ditutup dengan karet berventilasi, dan diinkubasi selama 3 jam dalam *water bath* dengan suhu 39°C. Setelah 3 jam inkubasi dihentikan, tabung fermentor dicentrifuge dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Substrat akan terpisah menjadi endapan dibagian bawah dan supernatan dibagian atas yang selanjutnya digunakan untuk analisis produksi VFA dan NH<sub>3</sub>.

Pengukuran produksi VFA dilaksanakan berdasarkan Metode *Steam Distillation* (Widodo *et al.*, 2012), supernatan diambil sebanyak 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung suling khusus dan ditambahkan 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%. Selanjutnya tabung suling khusus dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang telah dihubungkan dengan pendingin *leibeg* dan berisi air kemudian dipanaskan untuk didestilasi. Hasil destilasi ditangkap dengan 5 ml yang berada dalam labu erlenmeyer. Setelah volume NaOH 0,5 N mencapai 100 ml destilasi dihentikan kemudian ditambahkan 2 tetes Indikator PP (Phenolphthalin) yang selanjutnya dilakukan titrasi dengan HCl 0,5 N sampai warnanya berubah dari merah jambu menjadi jernih. Sebagai blanko dilakukan destilasi dengan tabung suling khusus yang berisi 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% tanpa supernatan. Konsentrasi VFA dihitung dengan rumus :

$$\text{VFA (mM)} = (\text{ml titran blanko} - \text{ml titran sampel}) \times \text{N HCl} \times 1000/5 \text{ mM}.....(3)$$

**3.2.2.3. Pengukuran produksi NH<sub>3</sub>.** Pengukuran produksi NH<sub>3</sub> dilaksanakan berdasarkan metode mikrodifusi conway (Widodo *et al.*, 2012) Cawan conway yang sudah dicuci dan dikeringkan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 110°C dimasukkan 1 ml larutan asam borat berindikator metil merah di bagian tengah dan 1 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh ditempatkan pada salah satu ujung cawan conway. Supernatan yang berasal dari proses fermentasi selama 3 jam diambil 1 ml ditempatkan pada salah satu ujung alur cawan conway yang bersebelahan dengan larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Cawan Conway yang sudah diolesi vaselin pada bagian tepinya ditutup rapat hingga kedap udara, kemudian cawan digoyang-goyangkan agar larutan supernatan dan . larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bercampur. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dalam suhu kamar hingga larutan asam borat berindikator berubah warna dari merah menjadi keunguan. Kemudian dititrasi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005 N sampai terjadi perubahan warna dari keunguan menjadi merah kembali. Konsentrasi NH<sub>3</sub> dihitung dengan rumus :

$$\text{NH}_3 \text{ (mM)} = \text{ml H}_2\text{SO}_4 \times \text{N H}_2\text{SO}_4 \times 1000 \dots\dots\dots(4)$$

### **3.3. Rancangan Percobaan dan Analisis Data**

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan rancangan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 3 dengan ulangan sebanyak 3 kali. Faktor pertama yaitu penambahan jerami jagung pada TMR (A0) dan penambahan jerami jagung amoniasi pada TMR (A1). Faktor kedua adalah suplementasi protein *by pass* dengan taraf 0% (S0), 5% (S5) dan 10 % (S10) pada TMR. Data yang diperoleh diolah menggunakan Analisis variansi (Anova) dengan uji F pada taraf

signifikan 5% dan dilakukan uji lanjut Uji Wilayah Ganda Duncan pada data yang signifikan.

Kombinasi perlakuan:

A0S0 = TMR berbasis jerami jagung + suplementasi protein *by pass* 0%

A0S5 = TMR berbasis jerami jagung + suplementasi protein *by pass* 5%

A0S10 = TMR berbasis jerami jagung + suplementasi protein *by pass* 10%

A1S0 = TMR berbasis jerami jagung amoniasi + suplementasi protein *by pass* 0%

A1S5 = TMR berbasis jerami jagung amoniasi + suplementasi protein *by pass* 5%

A1S10 = TMR berbasis jerami jagung amoniasi + suplementasi protein *by pass* 10%

Model matematis rancangan percobaan:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk} \dots\dots\dots (5)$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = nilai pengamatan perlakuan ke-i, perlakuan ke-j, ulangan ke-k

$\mu$  = Nilai rata-rata

$\alpha_i$  = pengaruh perlakuan ke- i

$\beta_j$  = pengaruh perlakuan ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$  = pengaruh interaksi perlakuan ke-i dan perlakuan ke-j

$\epsilon_{ij}$  = Pengaruh galat percobaan ke-i, perlakuan ke-j, ulangan ke-k

Hipotesis :

a. H0 = Tidak ada interaksi antara amoniasi jerami jagung dan suplementasi protein *by-pass* terhadap pencernaan dan degradabilitas TMR secara *in vitro*.

H1 = Ada interaksi antara amoniasi jerami jagung dan suplementasi protein *by-pass* terhadap pencernaan dan degradabilitas TMR secara *in vitro*.

b. H0 = Tidak ada pengaruh amoniasi jerami jagung terhadap pencernaan dan degradabilitas TMR secara *in vitro*.

H1 = Ada pengaruh amoniasi jerami jagung terhadap pencernaan dan degradabilitas TMR secara *in vitro*.

c. H0 = Tidak ada pengaruh suplementasi protein *by-pass* terhadap pencernaan dan degradabilitas TMR secara *in vitro*.

H1 = ada pengaruh suplementasi protein *by-pass* terhadap pencernaan dan degradabilitas TMR secara *in vitro*.