

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang kehilangan BK, ADF dan N-ADF secara *in vitro* dilaksanakan pada bulan Agustus sampai November 2016. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Departemen Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor, daun lamtoro dan cairan rumen dari kambing Jawarandu Betina berfistula berumur 12-18 bulan dengan bobot badan 31,25 kg. Kambing dikandangkan di kandang individu. Pakan basal untuk kambing berfistula berupa rumput gajah dan konsentrat dengan PK 12% dan TDN 60%. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Formulasi ransum untuk kambing berfistula tersaji pada Tabel 1.

Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu McDougall, CO₂, larutan *acid detergent solution*, akuades, asam H₂SO₄ 98%, katalis selenium, NaOH 45%, H₃BO₃ 4%, indikator MR+MB dan HCl 0,1 N. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung fermentor, timbangan, beaker glass, waterbath, gelas ukur, sentrifuse, kertas saring *Whatman* 41, pompa vakum, oven, kompor listrik, labu kjeldahl, tabung erlenmeyer, alat destruksi, alat destilasi dan alat titrasi.

Tabel 1. Formulasi Ransum Kambing Fistula.

Bahan Pakan	Formula	PK bahan	PK ransum	TDN bahan	TDN ransum
			-----%-----		
Gaplek	1,1	5,33	0,06	74,58	0,82
Tetes	1,0	0,66	0,01	75,01	0,75
Bungkil kedelai	17,0	35,97	6,11	81,10	13,79
Bekatul	10,7	9,70	1,04	67,48	7,22
Mineral	0,2	0,00	0,00	0,00	0,00
Rmput gajah	70,0	7,02	4,91	54,85	38,39
Jumlah	100		12,13		60,97

3.2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap meliputi tahap persiapan alat penelitian, uji *in vitro*, dan pengukuran variabel penelitian yang meliputi kehilangan BK, kehilangan ADF dan kehilangan N-ADF.

3.2.1. Persiapan

Persiapan yang dilakukan yaitu meliputi persiapan sampel, persiapan alat dan bahan untuk analisis dan persiapan pengambilan cairan rumen untuk inkubasi.

3.2.2. Uji *in vitro*

Uji *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Tilley dan Terry (1963) satu tahap yang sudah dimodifikasi menurut Cortez dkk (2009). Sampel yang sudah ditimbang dengan kisaran 0,55 - 0,56 g dimasukkan ke dalam tabung fermentor, larutan McDougall sebanyak 40 ml dan cairan rumen sebanyak 10 ml ditambahkan ke dalam tabung fermentor yang sudah berisi sampel, kemudian

tabung fermentor dialiri gas CO₂ untuk menciptakan kondisi *anaerob* dan ditutup, tabung fermentor diinkubasi dalam *waterbath* yang berisi air dengan suhu 38-39°C selama 48 jam yang dilakukan penggojogan setiap 6 jam sekali. Proses fermentasi dihentikan pada tahap I setelah inkubasi 48 jam untuk analisis lanjut.

3.2.3. Metode pengujian kehilangan bahan kering

Uji kehilangan bahan kering secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan residu di dalam tabung fermentor hasil dari uji *in vitro* tahap I kemudian disaring menggunakan kertas saring *Whatman* 41 yang dibantu dengan pompa vacum, residu kemudian ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven bersuhu 105°C sampai bobot konstan.

$$\text{Kehilangan BK} = \left[\frac{\text{Bobot BK awal} - (\text{BK Residu} - \text{BK Blanko})}{\text{Bobot BK}} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

Bobot BK awal = bobot sampel masuk x % BK

BK Residu = bobot residu setelah dioven 105° C

BK blanko = bobot residu cairan rumen setelah dioven 105° C

3.2.4. Metode pengujian kehilangan *acid detergent fiber* (ADF)

Uji kehilangan *acid detergent fiber* (ADF) secara *in vitro* dilakukan dengan melakukan sentrifugasi hasil uji *in vitro* tahap I dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 – 15 menit, residu setelah sentrifuse dipisahkan dengan supernatan kemudian supernatan dibuang, residu dipindahkan ke dalam beaker

glass dan dibilas dengan larutan ADS sebanyak 50 ml dan dimasak selama 60 menit. Hasil pemasakan merupakan hasil analisis ADF menggunakan metode Van Soest (1984). Hasil analisis ADF disaring menggunakan kertas saring dan beaker glass dibilas menggunakan aquades, hasil saringan kemudian di oven selama 6 jam untuk menghilangkan air pada residu, kertas saring berisi residu kemudian ditimbang. Kehilangan ADF dihitung dengan rumus:

$$\text{Kehilangan ADF} = \left[\frac{\text{Bobot ADF} - \text{Bobot residu ADF}}{\text{Bobot ADF}} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

Bobot ADF = bobot sampel masuk x % ADF

Bobot residu ADF = bobot residu ADF setelah dioven 105° C

3.2.5. Metode pengujian kehilangan *n-acid detergent fiber* (N-ADF)

Uji kehilangan *N-acid detergent fiber* (N-ADF) secara *in vitro* dilakukan dengan melakukan analisis N residu hasil analisis ADF. dengan metode Kjeldahl (1883) menurut AOAC (2005). Analisis N dilakukan dengan cara ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu destruksi, selanjutnya ditambahkan 10 ml asam sulfat pekat dan katalis selenium 1 g, destruksi dilakukan sampai warna larutan menjadi hijau jernih, hasil destruksi didinginkan, kemudian dilakukan destilasi dengan ditambahkan 70 ml akuades dan 60 ml NaOH 45%, hasil destilasi ditangkap dengan 20 ml H₃BO₃ 4% yang ditambahkan 2 tetes indikator MR+MB, destilasi dihentikan setelah terjadi perubahan warna penangkap ungu menjadi hijau, hasil destilasi kemudian dititrasi menggunakan HCl 0,1 N sampai terbentuk warna ungu kembali, blanko dibuat dengan mendestilasi 50 ml akuades dan 40 ml NaOH

45 % dengan penangkap 20 ml H_3BO_3 4% yang sudah ditambahkan 2 tetes indikator MR+MB 1% kemudian titrasi.

Perhitungan Nitrogen menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N \text{ ADF residu} = (Y - Z) \times N.HCl \times 14$$

Keterangan :

Y = ml HCl yang dibutuhkan untuk titrasi hasil destilasi

Z = ml HCl yang dibutuhkan untuk titrasi blanko

N HCl = normalitas HCl yang digunakan untuk titrasi

14 = 1 ml larutan alkali ekuivalen dengan 1 ml larutan yang mengandung 14 mg N

Kehilangan N-ADF:

$$= \left[\frac{\text{Bobot N-ADF} - \text{Bobot Residu N-ADF}}{\text{Bobot ADF}} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

Bobot N-ADF sampel = bobot ADF masuk x % N-ADF

Bobot residu N-ADF = Bobot residu ADF x % N-ADF

3.3. Analisis Statistik

Teknik pengolahan dan analisis data menggunakan uji statistik *paired T-Test* dengan menggunakan program komputer SPSS versi 16.0, dengan syarat data berdistribusi normal. Normalitas data diuji menggunakan uji *one sample Kolmogorov-Smirnov test*. Uji kehilangan BK, ADF dan N-ADF dilakukan masing- masing menggunakan 4 ulangan. Nilai signifikasi (*Asymp.sig.*) apabila nilai signifikasi $\geq 0,05$ ($p \geq 0,05$) dan data berdistribusi normal.