

BAB I

PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu aspek terpenting dalam pemeliharaan ternak, sehingga kualitas dari pakan yang akan diberikan pada ternak harus diperhatikan agar pertumbuhan dan produksi ternak optimal. Fakta lapangan sering kali ditemukan bahwa pemberian pakan pada ternak belum sesuai dengan kebutuhan nutrisi dari ternak tersebut, sehingga perlu diberikan pemenuhan nutrisi pada ternak, misalnya dengan memberikan pakan suplemen. Salah satu pakan suplemen yang ditambahkan adalah dalam bentuk multinutrien blok (MNB) yang mengandung protein, energi dan mineral.

Multinutrien blok merupakan pakan pelengkap yang diberikan kepada ruminansia dalam bentuk blok padat yang mengandung energi, protein dan mineral didalamnya (Wulandari *et al.*, 2020). Multinutrien blok berasal dari molases yang memiliki komponen terbesar yaitu sebanyak 50%, jerami padi fermentasi 30%, bentonit 7%, tepung cangkang kerang 6% sebagai sumber mineral, urea 4% sebagai sumber N dan garam 3%. Multinutrien blok dapat diklasifikasikan sebagai produk *Intermediate Moisture Food* (IMF) karena memiliki kadar air berkisar 24,46%. Produk yang termasuk ke dalam IMF yaitu produk yang memiliki kandungan kadar air sebesar 10 – 40%, kadar air yang cukup tinggi menyebabkan mudah tumbuhnya mikroorganisme pada MNB (Pujaningsih *et al.*, 2021). Multinutrien blok yang terkontaminasi jamur dapat menghasilkan mikotoksin yaitu dapat menyebabkan keracunan apabila dikonsumsi oleh ternak (Martindah dan Bahri, 2016). Hal ini

menyebabkan MNB bisa mengalami kerusakan akibat mikroba yang disebabkan adanya cemaran mikroorganisme, oleh karena itu perlu diberikan bahan pengawet baik kimia maupun alamiah seperti daun sirih hijau.

Daun sirih hijau merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif antara lain minyak atsiri, senyawa fenil propanoid, saponin dan flavonoid serta alkaloid. Fenil propanoid memiliki sifat antijamur dan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri (Rivai *et al.*, 2014). Flavonoid termasuk senyawa fenolik yang memiliki sifat antijamur, antibakteri dan anti protozoa (Das *et al.*, 2016). Kandungan saponin pada daun sirih hijau dapat mengurangi jumlah protozoa dalam rumen, sehingga dapat meningkatkan pencernaan dan fermentabilitas, serta dapat meningkatkan VFA total dan NH_3 dalam rumen (Ahmad *et al.*, 2020).

Volatile fatty acids termasuk ke dalam salah satu hasil fermentasi nutrisi karbohidrat dan protein kasar pada rumen yang paling penting, sehingga kandungan VFA di dalam cairan rumen dapat digunakan sebagai tolak ukur efisiensi proses fermentasi pakan didalam rumen. Produksi VFA total merupakan petunjuk besarnya senyawa ketogenik maupun glukogenik, disamping menunjukkan besarnya laju fermentasi (Muchlas *et al.*, 2014). Amonia merupakan hasil degradasi protein dalam rumen dimana sangat penting dalam kehidupan dan pertumbuhan mikroba dalam rumen (Dhia *et al.*, 2019).

Kecernaan nutrisi merupakan kemampuan saluran pencernaan ternak dalam mencerna nutrisi pakan, pencernaan nutrisi terdiri atas pencernaan bahan kering dan bahan organik (Suwignyo *et al.*, 2016). Kecernaan bahan kering (KcBK)

menjadi salah satu tolak ukur menentukan kualitas pakan, semakin tinggi nilai KcBK maka semakin tinggi juga nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh ternak, apabila nilai KcBK rendah maka pakan tidak dapat memenuhi kebutuhan hidup pokok (Jena *et al.*, 2020). Berdasarkan sifat MNB yang mudah rusak dan daun sirih yang memiliki kandungan senyawa fenil propanoid, saponin, flavonoid dan lain-lain, maka penambahan jus daun sirih dalam MNB berpotensi untuk dibuat produk MNB baru. Produk baru sebelum diberikan pada ternak sebaiknya dilakukan uji kualitas baik secara fisik, kimia dan biologi secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas penambahan jus daun sirih hijau pada MNB secara *in vitro*. Manfaat dari penelitian ini yaitu memberikan informasi mengenai efektivitas penambahan jus daun sirih hijau pada MNB dalam ransum domba terhadap produksi VFA total, NH_3 dan pencernaan nutrisi pakan dengan metode *in vitro*. Hipotesis dari penelitian ini yaitu pemberian jus daun sirih pada level 3% dan 6% tidak mengubah nilai produksi KcBK, KcBO, VFA Total dan NH_3 .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Multinutrien Blok

Multinutrien blok merupakan pakan pelengkap yang diberikan kepada ruminansia dalam bentuk blok padat yang mengandung energi, protein, mineral dan vitamin (Wulandari *et al.*, 2020). Multinutrien blok berasal dari molases yang memiliki komponen terbesar MNB yaitu sebanyak 50%, jerami padi fermentasi 30%, bentonit 7%, tepung cangkang kerang 6%, urea 4% dan garam 3% (Pujaningsih *et al.*, 2021). Batas pemberian MNB pada ternak kambing dan domba sebesar 70 – 150 g per hari dan batas pemberian MNB pada sapi dan kerbau sebesar 350 – 500 g per hari (Garcia dan Restrepo, 1995).

Pemberian MNB pada ternak diharapkan dapat meningkatkan nafsu makan dan konsumsi ternak sehingga daya cerna ternak dan produktivitas ternak juga dapat meningkat (Wulandari *et al.*, 2020). Pemberian MNB pada ternak bertujuan untuk pemanfaatan sebagai bahan pelengkap yang lebih efisien dari pakan ternak yang memiliki kualitas kurang baik dan MNB dapat diberikan bersamaan dengan pemberian konsentrat sebelum pemberian hijauan (Fardana *et al.*, 2019).

Jerami padi fermentasi memiliki keterkaitan dengan peningkatan VFA karena proses fermentasi dapat meningkatkan degradasi pakan, selain itu fermentasi jerami pada dapat meningkatkan kandungan protein kasar dalam pakan ternak (Yanuartono *et al.*, 2019). Molases merupakan hasil sampingan dari proses pengolahan tebu menjadi gula yang memiliki komponen gula pereduksi dan

sukrosa. Molases biasanya digunakan sebagai bahan pakan sumber energi dan memiliki kandungan air 23%, lemak kasar 3%, protein kasar 5,4%, serat kasar 10%, abu 10,4% dan BETN 74% (Rahayu *et al.*, 2018). Molases berfungsi untuk meningkatkan palatabilitas, sintesis protein mikroba, dan aktivitas mikroba rumen (Ramdani *et al.*, 2020).

Urea dalam pakan pelengkap memiliki fungsi sebagai sumber *non protein nitrogen* (NPN) yang kemudian akan diubah menjadi protein oleh mikroba dalam rumen (Kaunang dan Sane, 2018). Multinutrien blok yang baik merupakan MNB yang semua bahan pakan tercampur dengan rata tidak ada penggumpalan, bertekstur keras, tidak mudah pecah dan lengket.

2.2. Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Klasifikasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) menurut Tjitrosoepomo (1994) yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Species	: <i>Piper betle</i> L.

Daun sirih hijau merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif, antara lain senyawa fenil propanoid, saponin, tanin dan flavonoid serta alkaloid. Fenil propanoid memiliki sifat antijamur dan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri (Rivai *et al.*, 2014). Sedangkan flavonoid termasuk senyawa fenolik yang memiliki sifat antijamur, antibakteri dan antipprotozoa (Das *et al.*, 2016).

Penambahan jus daun sirih dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada MNB, sehingga MNB dapat menjadi suplemen yang dapat dikonsumsi ternak serta dapat mencegah timbulnya penyakit akibat dari tumbuhnya mikroorganisme pada MNB (Alexander *et al.*, 2020). Konsentrasi penambahan 3% dan 6% jus daun sirih di dalam MNB aman untuk ternak karena terbukti dengan total bakteri yang semula $8,3 \times 10^4$ CFU / g menjadi $6,46 \times 10^4$ CFU. / g, hal tersebut dinilai aman karena tidak melebihi batas aman yaitu 1×10^6 CFU / g (Pujaningsih *et al.*, 2021). Penurunan bakteri tersebut menandakan MNB aman dikonsumsi, sehingga dapat meningkatkan pencernaan. Menurut pendapat Adi *et al.* (2020) meningkatnya pencernaan terjadi karena optimalnya penyerapan nutrisi dalam rumen, sehingga berdampak juga pada peningkatan mikroba rumen. Selain senyawa antimikroba diatas, daun sirih memiliki antimikroba lain yaitu sterol. Menurut pendapat Chakraborty dan Shah (2011) sirih memiliki antimikroba yaitu sterol yang dapat berinteraksi dengan membran sel dan dinding sel, sehingga dapat mengakibatkan perubahan struktur primer dinding sel. Perubahan struktur ini menyebabkan terjadinya degradasi komponen bakteri.

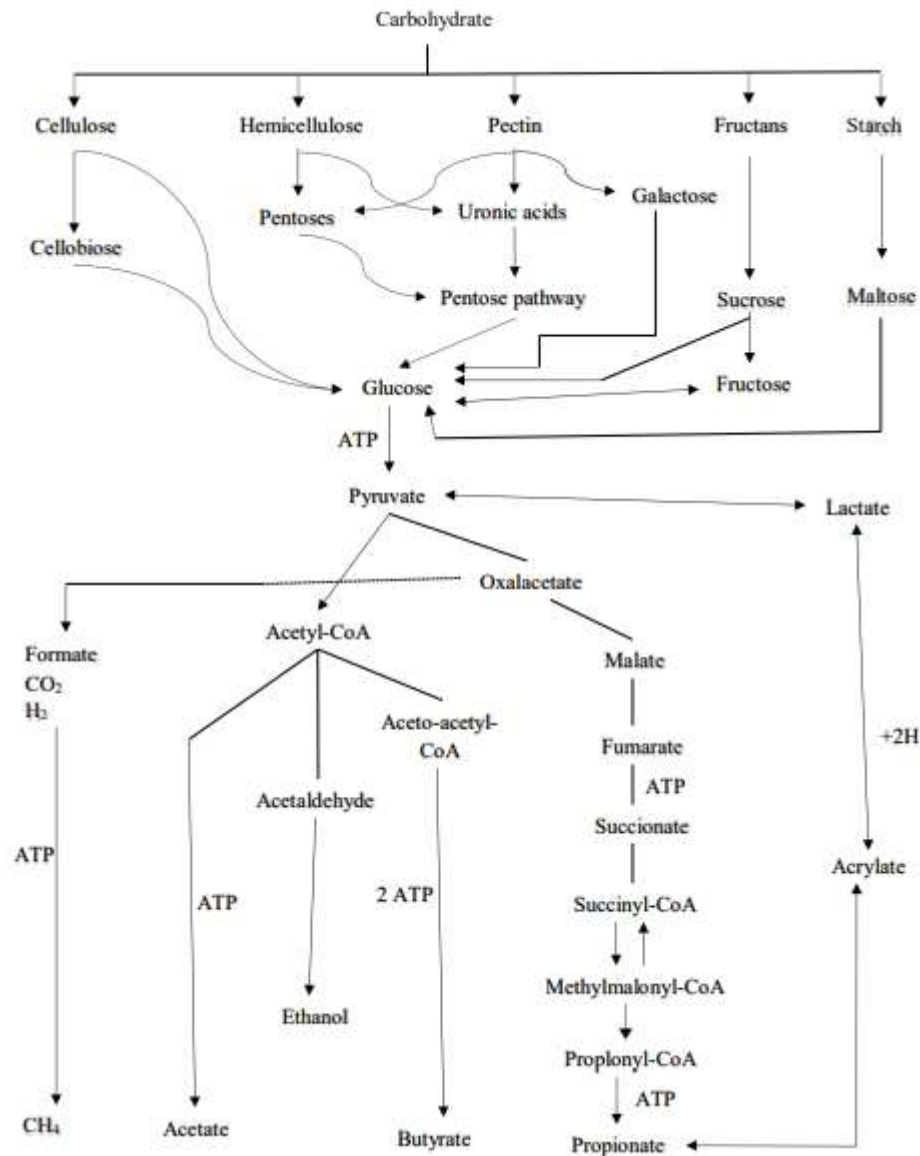
2.3. Kecernaan Pakan secara *In Vitro*

Cairan rumen merupakan faktor penting yang mempengaruhi hasil dari pencernaan *in vitro*, selain itu kandungan serat kasar pada pakan juga dapat mempengaruhi pencernaan *in vitro* (Elihasridas dan Herawati, 2014). Kecernaan bahan kering (KcBK) dapat menjadi salah satu tolak ukur menentukan kualitas pakan. Semakin tinggi nilai pencernaan bahan kering maka semakin tinggi juga nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh ternak, sehingga apabila nilai pencernaan bahan kering rendah maka pakan tersebut tidak dapat memenuhi kebutuhan hidup pokok suatu ternak (Jena *et al.*, 2020). Faktor-faktor yang mempengaruhi pencernaan bahan kering yaitu populasi mikroba dan aktivitas mikroba di dalam rumen (Pratama *et al.*, 2015). Kecernaan pakan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adanya kandungan senyawa antimikroba seperti saponin tanin, flavonoid, fenil propanoid dan alkaloid (Daning *et al.*, 2020).

Kecernaan bahan organik dapat dijadikan tolak ukur dalam menilai pakan, dimana diperoleh dari selisih kandungan bahan organik (BO) sebelum inkubasi dan BO sesudah inkubasi (Siswoyo, 2020). Faktor-faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya pencernaan bahan organik sama dengan faktor yang mempengaruhi pencernaan bahan kering karena bahan organik termasuk dalam komponen pencernaan bahan kering, yang termasuk dalam pencernaan bahan organik yaitu pencernaan karbohidrat, lemak, protein, dan vitamin (Suardin *et al.*, 2014).

2.4. Produksi *Volatile Fatty Acids* Total

Volatile fatty acids termasuk kedalam salah satu hasil fermentasi pada rumen yang paling penting, sehingga kandungan VFA di dalam cairan rumen dapat digunakan sebagai tolak ukur efisiensi proses fermentasi pakan. Besar kecilnya produksi VFA total merupakan petunjuk besarnya senyawa ketogenik maupun glukogenik disamping menunjukkan besarnya laju fermentasi didalam rumen (Muchlas *et al.*, 2014). Produksi VFA pada rumen tergantung pada karbohidrat pakan yang terdegradasi oleh mikroba rumen (Safitri *et al.*, 2021). Degradasi fraksi karbohidrat seperti selulosa, hemiselulosa, pektin, fruktan dan pati oleh mikroba rumen menjadi VFA (asetat, propionat dan butirat) dan metan digambarkan oleh Van Soest (1994) pada Ilustrasi 1, Aktivitas mikroba rumen mendegradasi karbohidrat tersebut merupakan upaya memperoleh energi berupa ATP. Selain karbohidrat, protein kasar juga menjadi faktor yang mempengaruhi produksi VFA karena protein pakan akan didegradasi menjadi asam amino yang kemudian di deaminasi menjadi asam α keto, selanjutnya asam α keto diubah menjadi VFA (Widodo *et al.*, 2012). Proses fermentasi pada rumen dapat berjalan dengan baik apabila kadar VFA total sebesar 70 – 160 mM, hal tersebut menggambarkan ketersediaan ATP dalam rumen tercukupi karena sintesis dan pertumbuhan mikroba rumen tergantung dengan cukup tidaknya ATP (Bain *et al.*, 2018).

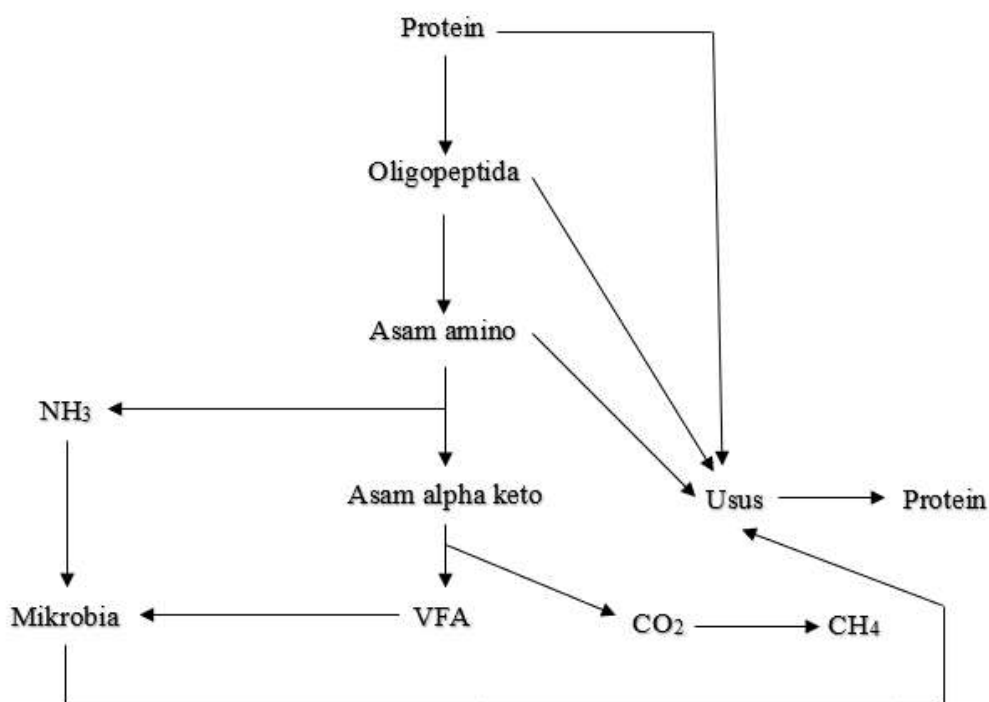


Ilustrasi 1. Degradasi Karbohidrat menjadi VFA di Rumen (Van Soest, 1994)

2.5. Produksi Amonia (NH₃)

Amonia merupakan hasil dari degradasi protein dalam rumen dimana NH₃ sangat berperan penting dalam kehidupan dan pertumbuhan mikroba dalam rumen (Dhia *et al.*, 2019). Degradasi protein pakan yang dilakukan oleh mikroba rumen adalah upaya untuk memperoleh N berupa NH₃ yang akan digunakan untuk sintesis

protein mikroba rumen pada Ilustrasi 2. Tinggi rendahnya produksi NH_3 dapat disebabkan oleh banyaknya protein pada pakan yang dicerna mikroba rumen, sehingga dapat meningkatkan aktivitas mikroba rumen (Oktafiani *et al.*, 2015). Konsentrasi NH_3 dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain sumber pakan ternak, degradabilitas protein, kadar protein pada pakan dan kelarutan protein (Mayangsari *et al.*, 2013). Konsentrasi NH_3 yang optimal untuk pertumbuhan mikroba rumen dan sintesis proteinnya yaitu 6 – 21 mM (Sairullah *et al.*, 2016).



Ilustrasi 2. Produksi NH_3 Rumen (Rahmadi *et al.*, 2010)

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang Evaluasi Kecernaan Ransum Domba yang Mengandung Multinutrien Blok dengan Penambahan Jus Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) secara *In Vitro* dilaksanakan pada bulan Agustus – Oktober 2021 di Laboratorium Teknologi Pakan dan Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

1.1. Materi

Materi yang digunakan pada penelitian ini yaitu MNB yang terdiri atas molases, jerami padi fermentasi, cangkang kerang, bentonit, urea dan garam serta daun sirih hijau. Bahan pakan yang diberikan terdiri atas MNB, rumput gajah dan konsentrat komersil. Materi yang digunakan pada uji *in vitro* antara lain cairan rumen domba, larutan McDougall, gas CO₂, larutan HCl 0,5 N, H₂SO₄ 15%, NaOH 0,5 N, asam borat, Na₂CO₃, H₂SO₄ 0,0055 N, indikator PP, vaselin, aquades, larutan pepsin HCl 0,2%, kertas saring Whatman no 41, HCl 0,2%.

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan digital dengan ketelitian 1gram untuk menimbang bahan penyusun MNB, pakan, timbangan analitik, cetakan paralon, ember, blender, nampan, grinder, *waterbath*, tabung fermentator, sentrifuse, seperangkat alat destilasi, seperangkat alat titrasi, cawan Conway, pipet, pompa vakum, cawan porselin, oven, eksikator dan tanur.

1.2. Metode Penelitian

Penelitian tentang Evaluasi Kecernaan Ransum Domba yang Mengandung Multinutrien Blok dengan Penambahan Jus Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) secara *In Vitro* dilakukan 2 tahap yaitu tahap pembuatan MNB dan tahap analisis.

1.2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan yang dicobakan pada penelitian sebagai berikut:

T0 : Pakan basal (Rumput gajah 25% + konsentrat komersial 65%) + MNB 10% dengan 0% daun sirih hijau.

T1 : Pakan basal (Rumput gajah 25% + konsentrat komersial 65%) + MNB 10% dengan 3% daun sirih hijau.

T2 : Pakan basal (Rumput gajah 25% + konsentrat komersial 65%) + MNB 10% dengan 6% daun sirih hijau.

1.2.2. Tahap Pembuatan Multinutrien Blok

Tahap pembuatan MNB dimulai dengan persiapan dan pengadaan alat dan bahan penyusun MNB yang terdiri jerami padi fermentasi, molases, bentonit, tepung cangkang kerang dan urea. Jerami padi terlebih dahulu di fermentasi menggunakan campuran EM4, dedak dan air selama 14 hari. Setelah proses fermentasi selesai, jerami dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan *grinder* 80 *mesh*. Pembuatan MNB dilakukan dengan menggunakan metode panas yaitu

dengan cara molases terlebih dahulu dipanaskan selama 10 menit pada suhu 40 - 50°C. Bahan-bahan penyusun MNB dicampur di dalam ember dengan memasukkan bahan dengan komposisi terbesar kemudian terkecil. Molases ditambahkan setelah bahan-bahan tersebut tercampur dengan rata lalu diaduk hingga homogen. Daun sirih hijau ditimbang sesuai perlakuan (T₀ : 0%, T₁ : 3% dan T₂ : 6%) atau dalam 100 gram MNB ditambahkan daun sirih hijau sebanyak 0, 3 dan 6 %. Daun sirih hijau ditambahkan dalam bentuk jus dengan penambahan air dengan perbandingan b/b, kemudian MNB dicetak menjadi blok (Alexander *et al.*, 2020). Komposisi MNB perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Bahan Pakan Penyusun Multinutrien Blok.

Bahan Pakan	Komposisi		
	T ₀	T ₁	T ₂
	------(%)-----		
Molases	50	50	50
Jerami padi fermentasi	30	30	30
Tepung cangkang kerrang	6	6	6
Garam	3	3	3
Urea	4	4	4
Bentonit	7	7	7
Jus daun sirih hijau	0	3	6

Sumber : Pujaningsih *et al.* (2018)

Adapun konsentrat yang digunakan merupakan konsentrat komersial dengan kandungan protein sebesar 11,94% dan TDN sebesar 63,61% dan hijauan yang digunakan adalah rumput gajah. Kandungan nutrisi dalam ransum yang diberikan dapat dilihat pada Tabel 2.

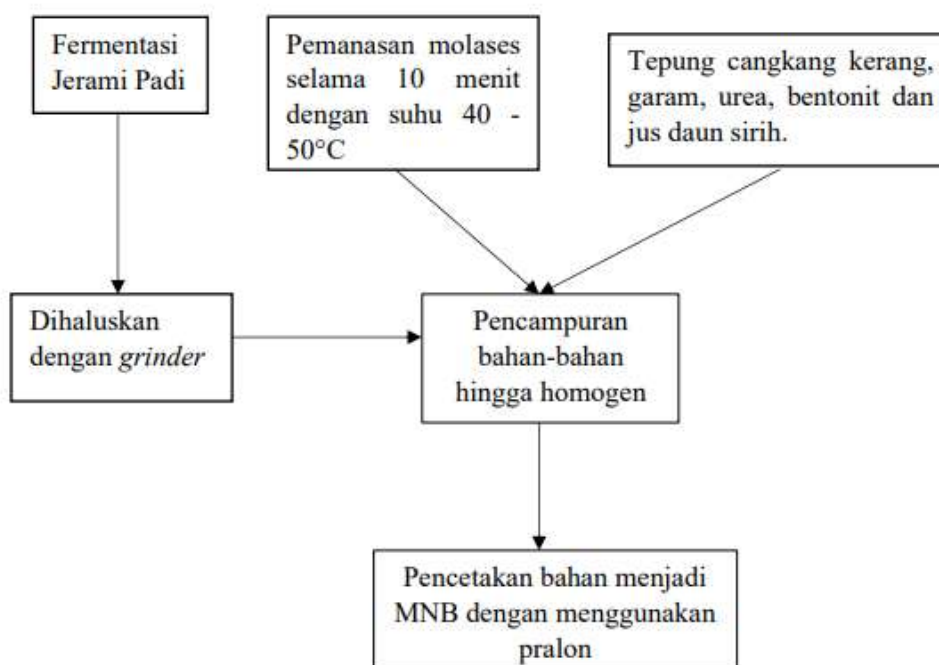
Tabel 2. Kandungan Nutrien Pakan

Kandungan Nutrien	MNB			Rumput Gajah	Konsentrat
	T ₀	T ₁	T ₂		
	-----%BK-----				
Bahan Kering	68,39	69,59	69,47	22,66	89,11
Serat Kasar	16,99	18,57	18,16	33,43	24,22
Protein Kasar	18,97	16,56	18,89	6,55	11,94
Abu	30,05	28,5	30,07	7,08	10,91
Lemak Kasar	0,44	0,49	0,99	2,99	3,38
Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen	33,56	35,89	31,9	49,95	49,55
Total Digestible Nutrien	47,91	64,54	65,59	54,86	63,61

Keterangan :

T₀, 0% jus daun sirih; T₁, 3% jus daun sirih; T₂, 6% jus daun sirih. Perbandingan pemberian MNB : Rumput Gajah : Konsentrat ; 15% : 25% : 65%.

Perhitungan TDN (SK>18% dan PK<20%) = $70,6 + (0,259 \times PK) + (1,01 \times LK) - (0,76 \times SK) + (0,0991 \times BETN)$, Perhitungan TDN (SK<18% dan PK<20%) = $2,79 + (1,17 \times PK) + (1,74 \times LK) - (0,295 \times SK) + (0,810 \times BETN)$ (Sutardi, 2001). T₀ menggunakan rumus TDN (SK<18% dan PK<20%); T₁, T₂, Rumput Gajah dan Konsentrat menggunakan rumus TDN (SK>18% dan PK<20%).



Ilustrasi 3. Proses Pembuatan MNB

1.2.3. Tahap Analisis

Tahap analisis dilakukan dengan cara melakukan uji *in vitro* dengan metode (Harris, 1970) diawali dengan menyiapkan alat dan bahan. Pakan yang terdiri atas rumput gajah, konsentrat komersial dan MNB dilakukan uji *in vitro*, sehingga harus dihaluskan terlebih dahulu kemudian ketiganya dihomogenkan. Sampel yang digunakan selanjutnya ditimbang sebanyak 0,56 gram dan dimasukkan kedalam tabung fermentor. Larutan McDougall kemudian ditambahkan sebanyak 40 ml dengan suhu 39°C. Tahap selanjutnya yaitu memasukkan cairan rumen sebanyak 10 ml dan gas CO₂ kedalam tabung fermentor yang setelahnya di tutup rapat dan mulai diinkubasi selama 3 jam untuk di uji kandungan VFA total dan NH₃.

1.2.3.1. Prosedur Analisis *Voletile Fatty Acids Total*

Analisis VFA dilakukan dengan metode *steam* destilasi. Sampel yang telah diinkubasi selama 3 jam disentrifugasi, sehingga supernatan dapat diambil sebanyak 5 ml untuk dilakukan destilasi. Supernatan sebanyak 5 ml masukkan ke dalam tabung destilasi, lalu ditambahkan 1 ml H₂SO₄ 15% dan ditutup sehingga dapat dihubungkan dengan labu pendingin. Tabung destilasi diletakkan di dalam labu penyulingan yang berisi air mendidih. Campuran supernatan dan H₂SO₄ akan terkondensasi dalam labu pendingin karena uap panas. Labu erlenmeyer diisi 5 ml NaOH 0,5 N untuk menampung hasil destilasi hingga sampel menjadi 250 ml. Selanjutnya indikator PP ditambahkan 2-3 tetes dan dititrasi dengan HCl 0,5N sampai berubah warna dari merah jambu menjadi tidak berwarna.

VFA total dianalisis menggunakan metode destilasi uap dan titrasi.

Perhitungan produksi VFA total menggunakan rumus :

$$\text{VFA total} = (b - s) \times N \text{ HCl} \times \frac{1000}{5}$$

Keterangan :

b : Volume titrasi blanko (ml)
s : volume titrasi sampel (ml)
N : Normalitas larutan HCl

1.2.3.2. Prosedur Analisis Amonia (NH₃)

Pengukuran produksi amonia dilakukan dengan metode Conway. Kandungan NH₃ didapatkan dengan cara memasukkan asam borat 1 ml, supernatan 1 ml, Na₂CO₃ 1 ml dan indikator campuran brom kresol hijau dan merah kedalam cawan Conway. Cawan conway tersebut ditutup dan dibiarkan selama 24 jam, kemudian sampel tersebut dititrasi menggunakan H₂SO₄ 0,0055 N sampai berubah warna menjadi pink.

NH₃ dianalisis menggunakan metode inkubasi dengan cawan conway.

Perhitungan produksi NH₃ menggunakan rumus :

$$\text{NH}_3 = \text{Volume Titran} \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1000$$

Keterangan :

Titran : volume titrasi sampel (ml)
N : Normalitas larutan H₂SO₄

1.2.3.3. Prosedur Analisis Kecernaan Bahan Kering (KcBK)

Sampel dimasukkan kedalam tabung fermentor. Larutan McDougall kemudian ditambahkan sebanyak 40 ml dengan suhu 39°C. Tahap selanjutnya yaitu memasukkan cairan rumen sebanyak 10 ml dan gas CO₂ kedalam tabung fermentor yang setelahnya di tutup rapat dan mulai diinkubasi selama 48 jam. Sampel disentrifugasi sehingga supernatant dapat dibuang dan endapannya ditambah dengan larutan pepsin HCl 0,2%. Setelah melalui masa inkubasi 48 jam sampel dapat disaring menggunakan kertas saring Whatman no 41 dengan bantuan pompa vakum. Hasil saringan diangin-anginkan terlebih dahulu, kemudian dimasukkan kedalam cawan porselin untuk dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105 – 110 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam sampel dikeluarkan dari oven dan didinginkan dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang untuk mengetahui berat keringnya.

KcBK dianalisis dengan cara dicari bahan keringnya menggunakan oven.

Perhitungan KcBK menggunakan rumus :

$$\text{KcBK (\%)} = \frac{\text{Berat BK sampel (g)} - (\text{BK Residu} - \text{BK Blanko})(\text{g})}{\text{Berat BK Sampel (g)}} \times 100\%$$

Prosedur Analisis Kecernaan Bahan Organik (KcBO)

Sampel dalam cawan porselin yang telah ditimbang berat keringnya, kemudian dimasukkan kedalam tanur pada suhu 400 – 600 °C selama 6 jam. Setelah 6 jam tanur dimatikan dan sampel dibiarkan didalam tanur selama sehari maka sampel didalam cawan porselin dapat ditimbang untuk mengetahui berat organiknya.

KcBO dianalisis dengan cara dicari bahan Organiknya menggunakan tanur.

Perhitungan KcBO menggunakan rumus :

$$\text{KcBO (\%)} = \frac{\text{Berat BO sampel (g)} - (\text{BO Residu} - \text{BO Blanko})(\text{g})}{\text{Berat BO Sampel (g)}} \times 100\%$$

1.3. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis ragam dengan taraf signifikansi 5%. Jika terdapat pengaruh perlakuan terhadap parameter maka dilanjutkan dengan uji beda (Duncan).

Model linear aditif rancangan percobaan yang diharapkan pada penelitian ini adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

- Y_{ij} : Nilai dari peubah respon parameter yang diamati akibat perlakuan ke-i
 μ : Nilai tengah umum dari parameter yang diamati
 τ_i : Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i
 ε_{ij} : Galat percobaan dari perlakuan ke-i pada ulangan ke-j

Hipotesis statistik

- $H_0 : \tau_0 = \tau_1 = \tau_2$ (tidak ada pengaruh perlakuan penambahan jus daun sirih hijau pada MNB terhadap parameter).
- H_1 : minimal ada satu perlakuan penambahan jus daun sirih hijau pada MNB yang memberikan respon yang berbeda terhadap parameter.