

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian tentang pengaruh lama pemeraman kulit Kacang Tanah fermentasi yang telah diinokulasi terhadap kandungan serat kasar, protein kasar dan *total digestible nutrients* dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 sampai dengan Januari 2019. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, sedangkan analisis proksimat dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian meliputi kulit Kacang Tanah, *Aspergillus niger* berbentuk bubuk, molases, urea, alkohol, air, *grinder*, plastik cor, ember, plastik dan drum, autoklaf, fermentor, nampan, bunsen, kertas folio, kertas label, timbangan, alat tulis serta alat dan bahan untuk analisis proksimat.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan berupa lama proses pemeraman. Perlakuan perbedaan lama pemeraman yang dilakukan antara lain 0 hari (T₀), 5 hari (T₁), 10 hari (T₂) dan 15 hari (T₃) dengan 4 ulangan pada tiap perlakuan.

Parameter yang diamati adalah protein kasar, serat kasar dan *total digestible nutrients*. Perlakuan yang digunakan yaitu sebagai berikut:

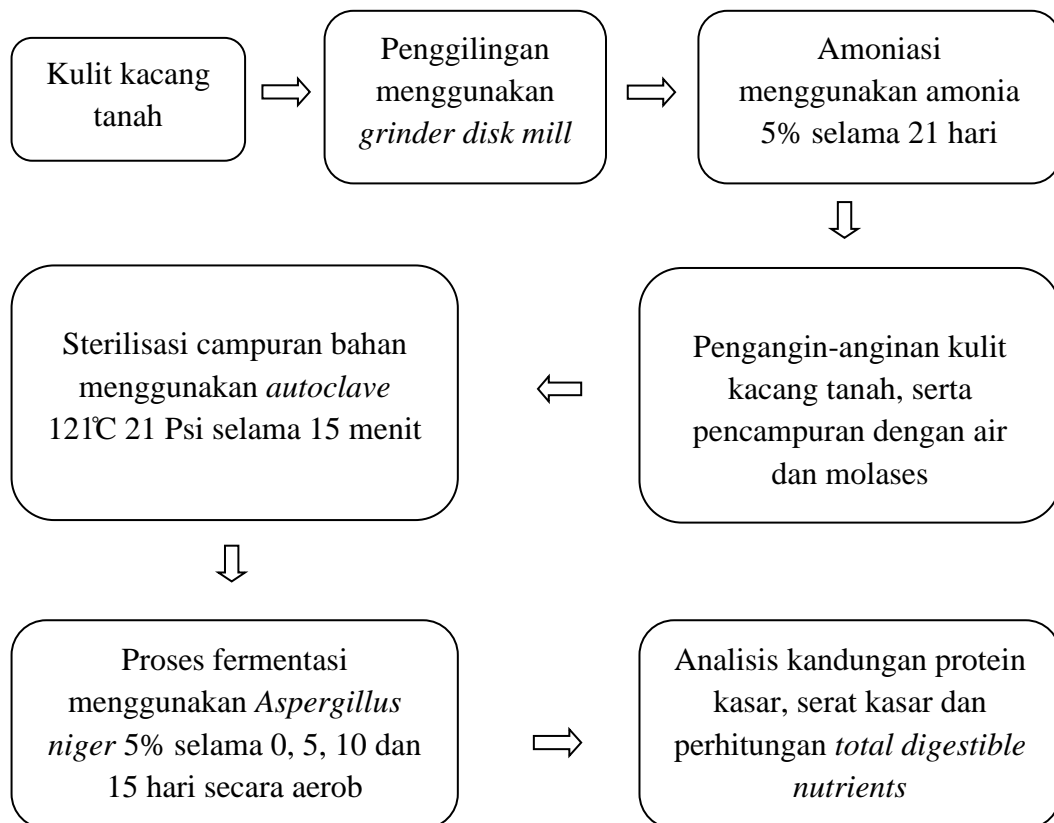
- T₁ = Kulit Kacang Tanah + *Aspergillus niger* 5% + pemeraman 0 hari
- T₂ = Kulit Kacang Tanah + *Aspergillus niger* 5% + pemeraman 5 hari
- T₃ = Kulit Kacang Tanah + *Aspergillus niger* 5% + pemeraman 10 hari
- T₄ = Kulit Kacang Tanah + *Aspergillus niger* 5% + pemeraman 15 hari

3.2.2. Prosedur penelitian

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi 4 tahap, yaitu tahap persiapan, tahap amoniasi, tahap fermentasi dan tahap analisis laboratorium. Tahap persiapan meliputi pengadaan kulit Kacang Tanah, yang didapatkan dari Dusun Dukun Desa Banding Kecamatan Bringin Kabupaten Semarang. Kulit Kacang Tanah yang telah disiapkan digiling menggunakan *grinder disk mill* dengan *screen* berukuran 60 *mesh*, sehingga ukurannya menjadi lebih kecil.

Tahap amoniasi dimulai dari urea disiapkan dan dicampur air, kemudian dicampurkan dengan kulit Kacang Tanah, dengan kadar amonia sebesar 5% dari total bahan kering (BK). Kulit Kacang Tanah yang telah dicampur urea tersebut dimasukkan ke dalam plastik *trash bag* dan disimpan di dalam *drum*. Lama peram proses amoniasi dilakukan selama 21 hari. Kulit Kacang Tanah diangin-anginkan setelah mengalami proses amoniasi, kemudian ditimbang sebanyak 100 g dan dicampur dengan molases sebanyak 1% yang telah dicampur air. Sterilisasi dilakukan sebelum sampel diberi *starter*, dengan menggunakan *autoclave* bersuhu 121°C bertekanan 21 psi selama 15 menit.

Tahap fermentasi dilakukan dengan cara kulit Kacang Tanah yang telah disterilkan dicampur dengan *starter Aspergillus niger* sebanyak 5% dari total bahan kering dan dilakukan secara *aerob*. Lama pemeraman yang dilakukan adalah 0, 5, 10 dan 15 hari. Kulit Kacang Tanah yang telah diamoniasi dan difermentasi kemudian disiapkan untuk dianalisis. Persiapan sampel dilakukan dengan memasukkan masing-masing sampel ke dalam plastik, yang diberi tanda berupa perlakuan dan ulangan. Sampel yang telah disiapkan kemudian dianalisis protein kasar dan serat kasar dengan metode analisis proksimat serta dihitung *total digestible nutrients*, sehingga didapatkan nilai kandungan nutrisi dari tiap-tiap sampel.



Ilustrasi 1. Tahapan Kegiatan Penelitian

3.2.2.1. Analisis protein kasar. Prinsip dari analisis protein kasar dengan metode AOAC (2012) yang dilakukan untuk mengetahui kadar protein kasar dalam sampel dengan cara mengali jumlah N yang didapat dengan 6,25. Prosedur yang dilakukan ada 3 tahap, antara lain destruksi, destilasi dan titrasi. Proses destruksi yang dilakukan yaitu sampel ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam labu destruksi, kemudian ditambahkan katalisator campuran berupa cupri sulfat 0,4 g dan potasium 3,5 g. Campuran sampel tersebut lalu diberi asam sulfat pekat sebanyak 10 ml dan didestruksi di dalam almari asam sampai berwarna hijau jernih. Labu destruksi dikeluarkan dari almari asam dan didinginkan. Proses destilasi dilakukan dengan memasukkan campuran sampel yang telah mengalami proses destruksi, ke dalam labu destilasi, lalu ditambahkan dengan 70 ml aquades dan 60 ml NaOH 45%. Penangkap N yang digunakan pada proses destilasi ini yaitu H₃BO₃ 4% sebanyak 20 ml dengan 2 tetes indikator *methyl red* dan *brom cressol green*, serta potongan cawan petri sebagai katalisator dan indikator. Proses destilasi dilakukan sampai warna campuran sampel berubah dari merah menjadi hijau. Proses titrasi dilakukan dengan menggunakan HCl 0,1 N hingga sampel berubah menjadi warna ungu, kemudian angkanya dicatat. Kadar protein kasar berdasarkan AOAC (2012) dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Protein Kasar} = \frac{(\text{Titran sampel} - 0,2) \times \text{N HCl} \times 0,014 \times 6,25 \times 100\%}{\text{Jumlah sampel (g)}}$$

3.2.2.1. Analisis serat kasar. Prinsip dari analisis serat kasar dengan metode AOAC (2012) yaitu melarutkan bahan-bahan organik pada sampel dengan cara dimasak menggunakan H₂SO₄ 0,3 N selama 30 menit, kemudian NaOH 1,5 N selama 30 menit. Prosedur yang dilakukan yaitu sampel sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Labu erlenmeyer yang telah berisi sampel ditambahkan

50 ml H₂SO₄ 0,3 N dan dimasak hingga mendidih, kemudian ditunggu sampai 30 menit. NaOH ditambahkan ke dalam labu erlenmeyer dan dididihkan, lalu dimasak selama 30 menit. Cairan dalam labu erlenmeyer disaring menggunakan kertas saring yang telah dipasang pada corong Buchner. Penyaringan pada labu penghisap dilakukan dengan menggunakan 50 ml air panas, 50 ml H₂SO₄ 0,3 N, 50 ml air panas dan 25 ml alkohol yang dilakukan secara berurutan. Kertas saring diangin-anginkan, lalu dimasukkan dalam krusibel porselin. Krusibel porselin berisi kertas saring dikeringkan dengan menggunakan oven bersuhu 105⁰C selama 1 jam, lalu didinginkan dalam eksikator selama 15 menit dan ditimbang bobotnya. Krusibel porselin tersebut kemudian dipijarkan dalam tanur listrik bersuhu 550⁰C selama 6 jam hingga menjadi putih abu. Krusibel porselin yang telah dipijarkan didinginkan dalam eksikator selama 15 menit, lalu ditimbang. Kadar serat kasar menurut AOAC (2012) dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{\text{Bobot STO (g)} - \text{Bobot STT (g)} - \text{Bobot KS (g)}}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

STO = Sampel setelah oven

STT = Sampel setelah tanur

KS = Kertas saring

3.2.2.3. Perhitungan *total digestible nutrients*. Perhitungan pendugaan nilai *total digestible nutrients* menurut Sutardi (2001) memiliki 4 rumus perhitungan, tergantung pada kadar serat kasar dan protein kasar bahan pakan, antara lain:

- Pakan dengan SK < 18% dan PK < 20%:

$$\text{TDN} = 2,79 + 1,17 \text{ PK} + 1,74 \text{ LK} - 0,295 \text{ SK} + 0,810 \text{ BETN}$$

- Pakan dengan $\text{SK} < 18\%$ dan $\text{PK} > 20\%$:

$$\text{TDN} = 25,6 + 0,530 \text{ PK} + 1,70 \text{ LK} - 0,474 \text{ SK} + 0,732 \text{ BETN}$$

- Pakan dengan $\text{SK} > 18\%$ dan $\text{PK} < 20\%$:

$$\text{TDN} = 70,6 + 0,259 \text{ PK} + 1,01 \text{ LK} - 0,760 \text{ SK} + 0,0991 \text{ BETN}$$

- Pakan dengan $\text{SK} > 18\%$ dan $\text{PK} < 20\%$:

$$\text{TDN} = 3,17 + 0,640 \text{ PK} + 2,08 \text{ LK} - 0,0675 \text{ SK} + 0,940 \text{ BETN}$$

Keterangan:

TDN = *Total digestible nutrients*

PK = Protein kasar

LK = Lemak kasar

SK = Serat Kasar

BETN = Bahan ekstrak tanpa nitrogen

3.2.3. Analisis data

Data diuji menggunakan analisis ragam pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan, jika terdapat pengaruh nyata dilanjutkan uji wilayah Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Srigandono, 1989).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} ; i = (1,2,3,4) \quad j = (1,2,3,4)$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Kandungan protein kasar, serat kasar dan *total digestible nutrients* kulit

Kacang Tanah pada unit ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

μ = Nilai tengah umum kandungan protein kasar, serat kasar dan *total digestible nutrients* kulit Kacang Tanah

τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada kulit Kacang Tanah ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

Hipotesis statistik

Hipotesis statistik yang digunakan adalah :

$H_0 = \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$ (tidak ada pengaruh perlakuan perbedaan lama fermentasi kulit Kacang Tanah amoniasi terhadap kandungan protein kasar, serat kasar dan *total digestible nutrients*).

$H_1 =$ minimal ada satu $\tau_i \neq 0$ (minimal ada satu perlakuan perbedaan lama fermentasi kulit Kacang Tanah amoniasi terhadap kandungan protein kasar, serat kasar dan *total digestible nutrients*).

Kriteria pengambilan keputusan:

1. Apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$, maka H_0 diterima dan sebaliknya H_1 ditolak.
2. Apabila $F_{hitung} \geq F_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan sebaliknya H_1 diterima.