



MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2011 sampai Maret 2012 di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Materi

Bahan

Asam borat berindikator, larutan Na_2CO_3 jenuh, aquadest, larutan HgCl_2 , H_2SO_4 0,005 N, larutan HCl 0,5 N, larutan H_2SO_4 15%, larutan NaOH 0,5 N, larutan indikator PP (Phenol Phtalein 0,1%) dan larutan McDougall dengan temperatur 39°C dengan 6,5-6,9 (pH diturunkan dengan cara memberikan gas CO_2), cairan rumen segar dan sampel ransum yang akan digunakan.

Alat

Peralatan yang digunakan selama fermentasi kulit buah kopi antara lain timbangan digital, *laminar air flow*, *autoclave*, *sprayer*, botol selai, plastik, kapas, karung, baskom, label dan lampu spirtus. Fermentasi *in vitro* digunakan seperangkat rumen tiruan, timbangan, dan peralatan untuk analisis KCBK, KCBO, VFA, dan NH_3 dan termos.

Inokulum. Inokulum yang digunakan adalah cairan rumen yang berasal dari rumen sapi potong yang dipotong di rumah pemotongan hewan di Bubulak.

Komposisi Ransum. Bahan pakan yang digunakan pada pembuatan ransum adalah rumput gajah, dedak, onggok, bungkil kelapa, bungkil kedele, kapur, kulit buah kopi yang difermentasi dengan jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) selama 2 bulan. Ransum penelitian disusun berdasarkan kebutuhan zat makanan sapi perah pertengahan laktasi, direkomendasikan mengandung TDN < 68% dan protein 11-13% (NRC, 2001) dengan rasio hijauan dan konsentrat 60% berbanding 40% di dalam ransum. Level penggunaan komposisi bahan pada hijauan perlakuan tidak sama jumlahnya, karena ingin dilihat rasio penggunaan kulit kopi fermentasi yang optimal dalam beberapa macam level penggunaan komposisi bahan pengganti hijuan. Komposisi dan level pemakian kulit kopi fermentasi dan hasil perhitungan kandungan nutrisi ransum penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Susunan dan Kandungan Nutrien Ransum

Bahan Pakan	R0	R1	R2	R3	R4
(%).....				
Rumput gajah	60	50	40	30	20
Kulit Buah Kopi Fermentasi (KKf)	0	10	20	30	40
Bungkil Kelapa	5	0	0	0	0
Onggok	15	13	12	12	10
Polard	5	8	8	8	10
Bungkil Kedele	6	6	5	5	5
Deak	8	12	14	14	14
Kapur	1	1	1	1	1
	100	100	100	100	100

Keterangan : Perhitungan menggunakan *Trial and Error*.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Kandungan Nutrien Ransum Penelitian Berdasarkan Bahan Kering

Kandungan Nutrien	Perlakuan				
	R0	R1	R2	R3	R4
BK (%)	44,52	51,49	58,48	65,39	72,43
Abu (%)	9,85	10,26	10,56	10,70	10,91
PK (%)	13,22	13,23	13,03	13,06	13,42
SK (%)	33,34	33,34	33,30	33,02	32,76
LK (%)	4,04	3,36	3,34	3,18	3,09
BETN (%)	46,33	45,20	43,96	42,93	41,41
TDN (%)	61,00	61,70	62,84	64,24	65,46

Keterangan : Kandungan nutrien adalah hasil perhitungan dengan menggunakan *Trial and Error*

Prosedur

Pembuatan Rumah Jamur

Pembuatan rumah jamur dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ternak Perah Fakultas Peternakan IPB. Pembuatan rumah jamur ini disesuaikan dengan keadaan buana di lapang. Rumah jamur terdiri dari rak-rak bertingkat, ruang untuk inkubasi dan pendinginan.

Pembuatan Media Tumbuh dan Baglog *Pleurotus ostreatus*

Kulit kopi yang kering selanjutnya dikompos selama satu malam terlebih dahulu dengan ditambahkan air (700 ml), dedak (15%), kapur (1%) dan gips (1,5%) sebagai bahan isi media. Penggunaan kulit buah kopi, dedak, kapur dan gips dinamakan pembuatan baglog yang dimasukkan kedalam plastik berukuran 500 gram. Baglog yang telah dibuat lalu di *autoclave* untuk sterilisasi pada suhu 121°C selama 60 menit, kemudian baglog didinginkan selama 24 jam dan diinokulasi dengan bibit jamur *Pleurotus ostreatus* sebanyak 4 % dari berat baglog. Baglog yang sudah diinokulasi dengan bibit, kemudian disimpan diruangan inkubasi sampai semua kulit buah kopi di dalam baglog dipenuhi oleh miselium yang ditandai dengan memutihnya seluruh bagian kulit buah kopi di dalam baglog. Selama inkubasi proses perawatan dilakukan agar tempat tumbuh tetap sejuk, lembab dan bersih dengan suhu 25-30°C dan kelembaban 60-80% dengan cara pemberian karung goni basah dan penyemprotan dengan air setiap hari. Baglog kulit buah kopi fermentasi dengan jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) pada Gambar 5.



Gambar 5. Baglog Kulit Buah Kopi Fermentasi
Sumber : Dokumentasi Penelitian (2011)

Pengambilan Inokulum

Inokulum merupakan cairan rumen yang mengandung mikroba yang hidup di dalam rumen ruminansia dan berfungsi sebagai pendegradasi pakan yang dikonsumsi ternak. Cairan rumen yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari ternak sapi yang dipotong di rumah potong hewan (RPH) di Bubulak. Tahap pengambilan cairan rumen adalah pertama-tama termos diisi dengan air panas kira-kira mencapai suhu 39°C kemudian dibawa ke rumah potong hewan Bubulak. Air

didalam termos tidak boleh dibuang hingga cairan rumen didapatkan dengan suhu dipertahankan pada 39°C. Setelah perut rumen dipilih, dinding rumen dirobek dengan pisau kemudian isi rumen diperas dengan menggunakan kain dan dimasukkan ke dalam termos yang baru saja dikeluarkan air panasnya, setelah itu termos ditutup agar suhunya tetap terjaga. Termos yang digunakan sebanyak 3 buah dan setiap termos diisi dengan satu jenis cairan rumen. Kemudian cairan rumen yang berada di dalam termos tersebut harus segera dibawa ke Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah dan segera dialiri CO₂, setelah itu dilakukan fermentasi *in vitro* dengan menggunakan alat rumen tiruan.

Fermentasi *In vitro*

Metode ini diawali dengan pencernaan fermentatif, yaitu 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung fermentor kemudian ditambahkan 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen, dimasukkan ke dalam *shaker bath* dengan suhu 39°C (Tilley and Terry, 1963). Setelah itu, cairan rumen dialiri gas CO₂ selama 30 detik kemudian ditutup dengan karet berventilasi dan difermentasi selama 4 jam, kemudian tutup karet tabung fermentor dibuka dan diteteskan 2-3 tetes HgCl₂ untuk membunuh mikroba. Tabung fermentor dimasukkan ke dalam sentrifuge, lakukan sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Substrat akan terpisah menjadi endapan di bagian bawah dan supernatan yang bening berada di bagian atas. Supernatan diambil untuk melakukan berbagai analisis (NH₃ dan VFA). Supernatan dimasukkan ke botol film, apabila tidak dilakukan analisis segera, sampel dapat disimpan di *freezer*.

Analisis Koefisien cerna Bahan Kering (KCBK) dan Bahan Organik (KCBO)

Tabung fermentor yang diisi dengan 0,5 gram sampel, ditambahkan 40 ml larutan McDougall dan 10 ml cairan rumen dimasukkan ke dalam *shaker bath* dengan suhu 39°C. Setelah itu, cairan rumen dialiri gas CO₂ selama 30 detik kemudian ditutup dengan karet berventilasi dan difermentasi selama 48 jam. Setelah 48 jam dibuka tutup karet tabung fermentor dan diteteskan 2-3 tetes HgCl₂ untuk membunuh mikroba. Tabung fermentor dimasukkan ke dalam sentrifuge, lakukan sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Substrat akan terpisah menjadi endapan di bagian bawah dan supernatan yang bening berada di bagian atas. Supernatan dibuang dan endapan hasil sentrifuge ditambahkan 50 ml larutan pepsin

HCl 0,2%. Campuran ini kemudian diinkubasi kembali selama 48 jam tanpa tutup karet. Sisa pencernaan disaring dengan kertas saring *Whatman* no 41 (yang sudah diketahui bobotnya) dengan bantuan pompa vakum. Endapan yang ada di kertas saring dimasukkan ke dalam cawan porselen, setelah itu dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 24 jam, kemudian cawan porselen dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam eksikator lalu ditimbang untuk mengetahui kadar bahan keringnya. Selanjutnya bahan dalam cawan diabukan dalam tanur listrik selama 6 jam pada suhu 450-600°C, kemudian ditimbang untuk mengetahui kadar bahan organiknya. Sebagai blanko digunakan cairan rumen dan larutan Mc Dougall tanpa sampel.

$$\text{KCBK (\%)} = \frac{\text{BKsampel (g)} - (\text{BKresidu (g)} - \text{BKblanko (g)})}{\text{BK sampel (g)}} \times 100\%$$

$$\text{KCBO (\%)} = \frac{\text{BOsampel (g)} - (\text{BOresidu (g)} - \text{BOblanko (g)})}{\text{BOsampel (g)}} \times 100\%$$

Analisis NH₃ (Metode Mikrodifusi Cawan Conway)

Bibir cawan *Conway* dan tutupnya diolesi dengan vaselin, supernatan yang berasal dari proses fermentasi diambil 1 ml kemudian ditempatkan pada salah satu ujung alur cawan *Conway*. Larutan Na₂CO₃ jenuh sebanyak 1 ml ditempatkan pada salah satu ujung cawan *conway* bersebelahan dengan supernatan (tidak boleh dicampur). Larutan asam borat berindikator sebanyak 1 ml ditempatkan dibagian tengah cawan *Conway*. Cawan *Conway* yang sudah diolesi vaselin ditutup rapat hingga kedap udara, larutan Na₂CO₃ dicampur dengan supernatan hingga merata dengan cara menggoyang-goyangkan dan memiringkan cawan tersebut. Setelah itu dibiarkan selama 24 jam dalam suhu kamar, kemudian suhu kamar dibuka, asam borat berindikator dititrasi dengan H₂SO₄ 0,005 N sampai terjadi perubahan dari biru menjadi merah (Tilley dan Terry, 1963).

$$\text{NNH}_3(\text{mM}) = \frac{\text{ml H}_2\text{SO}_4 \times \text{NH}_2 \text{SO}_4 \times 1000}{(\text{g})\text{sampel} \times \text{BKsampel}}$$

Analisis VFA (*Steam Destilation Method*)

Presscooker diisi dengan aquadest sampai tanda maksimum kemudian dipastikan air dari keran mengalir yang berfungsi sebagai pendingin. Kompor gas dinyalakan, sehingga aquadest yang ada didalam *presscooker* tersebut mendidih dan

menghasilkan uap yang akan masuk ke tabung-tabung destilasi, hal ini menandakan bahwa kita bisa memulai analisis VFA. Supernatan yang sama dengan analisis NH_3 diambil sebanyak 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung destilasi. Erlenmeyer yang berisi 5 ml NaOH 0,5 N ditempatkan dibawah selang tampungan 1 ml H_2SO_4 15% ditambahkan ke tabung destilasi yang sudah ada larutan sampel, kemudian segera tutup penutup kacanya, dibilas dengan aquadest secukupnya. Uap air panas akan mendesak VFA dan akan terkondensasi dalam pendinginan. Air yang terbentuk ditampung labu erlenmeyer yang berisi 5 ml NaOH 0,5 N sampai mencapai 250 ml. Indikator PP (Phenol phtalein) ditambah sebanyak 1-2 tetes dan dititrasi dengan HCl 0,5 N sampai warna titrat berubah dari merah menjadi merah muda seulas (Tilley dan Terry, 1963).

$$\text{VFA}_{\text{total}} \text{ (mM)} = \frac{(a - b) \text{ ml} \times \text{NHCl} \times (1000/5 \text{ ml})}{(\text{g})_{\text{sampel}} \times \text{BK}_{\text{sampel}}}$$

Kejelasan :

a = volume HCl blanko pereaksi (hanya H_2SO_4 dan NaOH saja, tanpa sampel)

b = volume HCl sampel

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Perlakuan

Penelitian ini menggunakan ransum dengan campuran hijauan dan konsentrat 60:40 dan tiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan, perlakuan penelitian adalah:

R0 = ransum kontrol (60% rumput gajah + 40% konsentrat)

R1 = 50% rumput gajah + 10% kulit kopi fermentasi (KKf) + 40% konsentrat

R2 = 40% rumput gajah + 20% kulit kopi fermentasi (KKf)+ 40% konsentrat

R3 = 30% rumput gajah + 30% kulit kopi fermentasi (KKf)+ 40% konsentrat

R4 = 20% rumput gajah + 40% kulit kopi fermentasi (KKf)+ 40% konsentrat

Rancangan Percobaan untuk *In vitro*

Rancangan percobaan yang akan digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan ransum dan 3 kelompok cairan rumen. Dengan model matematik (Mattjik dan Sumertajaya, 2006) :



$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y_{ij} = Nilai variabel hasil pengamatan
- μ = Rataan umum
- τ_i = Pengaruh perlakuan pemberian pakan ke-i
- β_j = Pengaruh kelompok ke-j
- ϵ_{ij} = Galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
- i = Perlakuan ransum (0,1,2,3)
- j = Kelompok periode pengambilan cairan rumen (1,2,3)

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah koefisien cerna bahan kering (KCBK), pencernaan bahan organik (KCBO), VFA dan NH_3 .

Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan dilakukan uji berjarak ganda Duncan terhadap data yang berbeda nyata (Mattjik dan Sunertajaya, 2006).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.