

pakan puyuh petelur berbahan baku BKD produk ikutan produksi bioetanol oleh ko-kultur *S.cerevicea* dengan *C.tropicalis* dari sekam padi.

### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

Penelitian tahun kedua difokuskan untuk mengevaluasi kinerja produksi dan kualitas karkas ayam pedaging yang diberi ransum berbahan baku BKD. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan takaran optimum BKD dalam ransum ayam broiler. Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap kegiatan yaitu.

#### **a. Perlakuan pendahuluan sekam padi**

Sekam padi dikeringkan, digiling, ditambahkan air dan 2,5% asam sulfat serta dikukus pada suhu 130°C selama 3 jam. Sekam padi yang telah diberi perlakuan pendahuluan dikumpulkan, dihomogenkan dan disimpan dalam lemari pendingin sampai digunakan.

#### **b. Mikroorganisme dan kondisi biakan**

Khamir *S. cerevisiae* dan *C. tropicalis* yang digunakan dalam penelitian ini, masing-masing dipelihara dalam media potato dektrosa agar yang secara periodik diremajakan setiap 3 bulan.

#### **c. Fermentasi**

Serbuk sekam dihidrolisat dengan asam sulfat 0,25% dan dikukus selama 3 jam pada suhu 121°C. Hidrolisat sekam padi dilarutkan dalam air, disaring dan filtrat dikeringkan. Sebanyak 25 kg hidrolisat sekam padi halus dimasukkan ke drum berukuran 500 l ditambahkan 10 l molasses, 5,0 kg tepung ikan, 300 g NaNO<sub>3</sub>, 500 g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 100 g KH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dan 70 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O serta air steril sampai volume mencapai 100 l. Campuran selanjutnya diaduk dan pH media diatur dengan menambahkan 0,1% HCl atau NaOH sampai pH mencapai 5,5 ditutup rapat dan dibiarkan selama 24 jam. Campuran media diinokulasi dengan 2 liter starter mengandung 10<sup>6</sup>/ml *S. cerevisiae* dan 10<sup>6</sup>/ml spora *C. tropicalis*. Media yang telah diinokulasi, diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28-30°C, kelembaban relatif 60-70% dalam keadaan gelap. Setelah fermentasi, dipanen, dievaporasi sampai kental. Bagian kental (padatan) dikeringkan pada suhu 60°C sampai bobot konstan. Evaporat kering digiling menjadi tepung BKD.

#### **d. Formulasi pakan**

Formulasi pakan yang disusun merupakan pakan berbeda taraf kandungan protein dan energi untuk menggantikan sebagian jagung namun masih dalam kisaran kebutuhan nutrisi ayam broiler seperti yang direkomendasikan oleh NRC (1994) dan SNI (2008). Semua bahan

baku pakan dalam keadaan kering dicampur dan dibuat pakan berbentuk butiran untuk ayam broiler periode pemeliharaan awal (0-3 minggu) dan *pellet* untuk ayam broiler periode akhir (3-6 minggu). Sebanyak 6 formulasi pakan untuk masing-masing periode pemeliharaan ayam broiler dibuat dalam penelitian ini dengan proporsi BKD 0, 5, 10, 15, 20, dan 25%.

#### **e. Analisis nutrisi pakan formulasi**

Analisis nutrisi pakan hasil formulasi akan dilakukan terhadap kadar air, protein kasar, lemak kasar, serat kasar, abu dan energi metabolisme.

##### **1. Analisis kadar protein kasar**

Penentuan protein kasar pakan formulasi dilakukan menggunakan metode Chow *et al.* (1980). Sebanyak 1 g pakan formulasi dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, ditambah 10 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,7 g HgO dan 20 ml asam sulfat pekat. Labu Kjeldahl dipasangkan dengan digester dan dididihkan sampai campuran jernih dan pemanasan dilanjutkan selama 30 menit. Pembentukan buih yang terlalu banyak dicegah dengan penambahan lemak paraffin. Setelah didinginkan secara bertahap ditambahkan air distilasi sampai volume mencapai 90 ml, ditambah 25 ml asam sulfat dan diaduk, serta ditambah satu manik kaca dan 80 ml 40% larutan natrium hidroksida sehingga terbentuk dua lapisan. Labu Kjeldahl secara cepat disambungkan ke unit destilasi, dipanaskan dan 50 ml distilat ditampung dalam labu Erlenmeyer yang mengandung 50 ml larutan indikator. Campuran distilat dititrasikan dengan larutan asam klorhidrat standar sampai terjadi perubahan warna.

##### **2. Analisis lemak kasar**

Sebanyak 2 g sampel pakan formulasi dibungkus dengan kertas saring, diekstraksi dengan 5 bagian 20 dan dimasukkan ke dalam timbel, dikeringkan selama 5 jam pada suhu 100°C dan ditimbang. Timbel dimasukkan ke dalam ekstraktor, ditambah 40 ml dietil eter. Ekstraksi dilakukan selama 6 jam dan setiap jam dilakukan refluks. Hasil ekstraksi didestilasi, padatan dikeringkan dan ditimbang.

##### **Analisis energi karbohidrat dan metabolisme**

Analisis energi dilakukan dengan metode perhitungan kadar protein, lemak dan karbohidrat. Analisis total karbohidrat dengan metode anthrone, sebanyak 100 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi pyrex, dididihkan dan ditambahkan 5 ml asam klorida 2,5 N. Selanjutnya dimasukkan ke dalam penangas air yang mendidih selama 3 jam untuk proses hidrolisis. Setelah proses hidrolisis selesai, hidrolisat didinginkan pada suhu ruang dan netralkan dengan penambahan natrium karbonat sampai tidak berbuih. Cairan hidrolisat dititerasi dengan air akuades sampai volume 100 mL dan lakukan dekantasi. Sebanyak 1 ml larutan

sampel dan 1 ml larutan standar dengan konsentrasi tepung glukosa 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, dan 1 mg/ml. Konsentras 0 mg/ml larutan stok digunakan sebagai blanko. Semua larutan standar dan blanko menjadi 1 mL dengan penambahan air akuades. Pereaksi anthrone ditambahkan sebanyak 4 mL kemudian panaskan dalam penangas air mendidih selama 8 menit. Setelah selesai, biarkan larutan dingin pada suhu ruang maka akan terbentuk warna kompleks hijau hingga hijau tua untuk diukur pada panjang gelombang 630 nm dengan alat spektrofotometer.

### **3. Analisis serat kasar**

Sebanyak 3 g pakan formulasi tanpa lemak dimasukkan ke dalam labu, ditambah 200 ml larutan asam sulfat mendidih dan antibuih. Campuran dididihkan selama 30 menit dan volume air destilasi tetap dijaga konstan dan labu diputar-putar secara berkala untuk menghilangkan partikel yang menempel pada pinggir labu. Setelah dingin, campuran disaring dengan kertas saring dalam corong Buchner hisap selama 10 menit. Kertas saring dicuci dengan air mendidih dan residu dipindahkan ke dalam tabung menggunakan retort yang mengandung 200 ml mendidih larutan NaOH dan dididihkan selama 30 menit. Residu dicuci dengan air mendidih dan HCl beberapa kali dan terakhir dicuci dengan eter petroleum eter sebanyak tiga kali. Residu dimasukkan dalam wadah dan dikeringkan pada suhu 105°C selama 12 jam. Setelah didinginkan, ditimbang dan dikeringkan dalam tungku pada suhu 550°C selama 3 jam. Setelah didinginkan, residu ditimbang.

### **4. Analisis abu**

Sampel pakan formulasi dikeringkan dalam oven pengering pada suhu 105°C selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 1 jam. Sebanyak 2 g sampel BKD dalam cawan porselen dimasukkan dalam tanur listrik dan diarangkan pada suhu 600°C selama 12 jam. Cawan porselen berisi abu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105 C selama 1 jam, didinginkan dalam desikator dan ditimbang.

### **5. Analisis kalsium**

Abu hasil analisis kadar abu dalam silica disk ditambah 10 ml HCl pekat kemudian dipanaskan di atas penangas air hingga volume tersisa 1/3 bagian, ditambahkan lagi 20 ml HCl 10% lalu dipanaskan volume maksimalnya tinggal 1/3 bagian ditambah 20 ml aquades dan dipanaskan kurang lebih 10 menit. Abu kemudian disaring melalui kertas saring bebas abu dalam labu ukur 500 ml dan dicuci dengan air panas sampai bebas asam menggunakan AgNO<sub>3</sub> warna sampai bening. AgNO<sub>3</sub> digunakan untuk mengetahui apakah filtrat telah bebas asam. Filtrat disimpan untuk penetapan kadar Ca dan P. Sebanyak 1 ml filtrat ditambahkan 20 ml aquades, 3-4 tetes NaOH 4 N (pH larutan 12-12,5) dan ditambahkan 6 tetes

indikator calcon. Selanjutnya dititrasi dengan standar EDTA (Ethylene Diamin Tetra Acetat Dihidrat) sampai warna biru permanent. Pembuatan blanko dengan 20 ml aquades dimasukkan dalam tabung Erlenmeyer lalu ditambahkan 2 sampai 3 tetes NaOH dan beberapa tetes (5 sampai 6) indikator calcon dan dititrasi dengan standar EDTA.

#### **6. Analisis fosfor**

Abu hasil penetapan kadar abu ditambah 10 ml HCl pekat, dipanaskan di atas penangas air hingga volume maksimalnya 1/3 bagian. Selanjutnya ditambah lagi 20 ml HCl 10%, dipanaskan lagi hingga volumenya tinggal 1/3 bagian dan ditambah lagi 20 ml aquades dan dipanaskan 10 menit. Disaring melalui kertas saring bebas abu ke dalam labu ukur 500 ml dan dicuci dengan air panas (mendidih) sampai bebas asam. Diuji dengan  $\text{AgNO}_3$  untuk mengetahui apakah filtrat telah bebas asam. Tabung reaksi diisi dengan 0,5 ml sampel. Ditambahkan 4,5 ml larutan campuran  $\text{H}_2\text{O}$  dengan  $\text{HNO}_3$  – Vanado – Molybdat (7:2), dihomogenkan dan ditunggu 30 menit. Dibaca absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 420 nm, aquades sebagai pembanding (blanko).

#### **f. Pemberian pakan pada ayam broiler**

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap 5 perlakuan formulasi pakan yang diulang 10 kali. Sebanyak 100 ekor ayam broiler umur 1 hari (DOC) secara acak dibagi 6 masing-masing 10 ekor dan masing-masing diberi pakan formulasi 0, 5, 10, 15, 20 dan 25% BKD baik pakan periode awal maupun periode akhir. Semua ayam dipelihara dalam sangkar individual selama 42 hari pada suhu 27-28°C, diberi minum secara *ad libitum*, diberi vaksin ND pada umur 4 hari (tetes mata), 14 dan 21 hari (intramuscular).

#### **g. Pengamatan pertumbuhan**

Pertumbuhan ayam broiler diamati setiap minggu sampai umur 42 hari dengan menimbang bobot badan hidup.

#### **h. Pengamatan konsumsi pakan**

Konsumsi pakan diamati setiap hari dengan menimbang pakan yang diberikan dan sisa pakan yang tidak dikonsumsi.

#### **i. Penghitungan rasio konversi pakan**

Rasio konversi pakan dihitung dengan membagi jumlah pakan yang dikonsumsi dengan pertambahan bobot badan ayam.

#### **j. Pengamatan retensi nitrogen**

Retensi nitrogen diamati dengan menghitung jumlah konsumsi nitrogen dikurangi kandungan nitrogen dalam feses dibagi dengan konsumsi nitrogen dikali 100%.

$$\text{Retensi nitrogen} = \frac{\text{Konsumsi nitrogen (kg)} - \text{nitrogen dalam feses (kg)}}{\text{Konsumsi nitrogen (kg)}} \times 100\%$$

### k. Pengamatan kualitas karkas

Kualitas karkas ayam broiler diamati setelah ayam dipotong (umur 42 hari) meliputi hasil karkas (bobot karkas ayam dibagi bobot hidup ayam dikali 100%, bobot lemak abdominal, hasil daging bagian kaki (bobot kaki ayam dibagi bobot karkas dikali 100%) dan hasil daging bagian dada (bobot dada ayam dibagi bobot karkas dikali 100%).

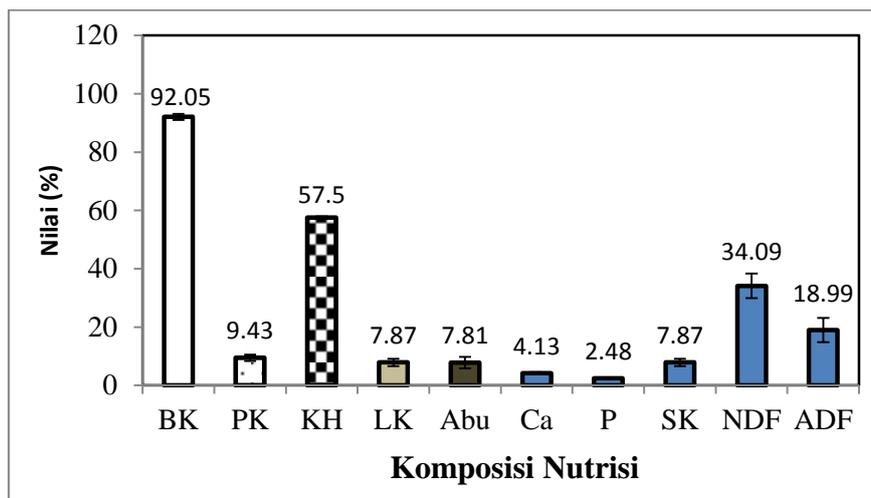
### l. Analisis statistika

Data hasil pengamatan variabel penelitian akan dianalisis menggunakan analisis varian satu arah sesuai dengan rancangan percobaan acak lengkap. Uji lanjut akan dilakukan dengan uji beda jujur untuk mengetahui letak perbedaan antar perlakuan jika perlakuan berpengaruh signifikan ( $P < 0.05$ ) terhadap variabel pengamatan.

## BAB 4. HASIL YANG DICAPAI

### 4.1. Fermentasi sekam padi

Telah dilakukan fermentasi sekam padi oleh ko-kultur *S. cerevisiae* dan *C. tropicalis* untuk memperoleh butiran kering distilat sekam padi seperti yang diperlihatkan pada Gambar 4.1. Butiran kering distilat sekam padi mempunyai karakteristik warna coklat dan beraroma harum.



Gambar 4.1. Komponen nutrisi butiran kering distilat sekam padi, BK: bahan kering, PK: protein kasar, KH: karbohidrat, LK: lemak kasar, Ca: kalsium, P: fosfor, SK: serat kasar, NDF: neutral diterjen fiber, ADF : acid diterjen fiber