

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peternakan merupakan subsektor dari pertanian yang berperan penting dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani. Kebutuhan masyarakat akan hasil ternak seperti daging, susu dan telur semakin meningkat. Hal ini seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk, tingkat pendidikan, kesadaran masyarakat akan gizi dan peranan zat - zat makanan khususnya protein bagi kehidupan, serta meningkatkan kemampuan masyarakat untuk memanfaatkan hasil ternak, sehingga perkembangan sektor peternakan memberikan dampak positif bagi masyarakat untuk peningkatan perbaikan gizi dan dampak positif bagi pelaku ternak yaitu meningkatnya kesejahteraan (Pardede, 2015).

Salah satu faktor penting yang memengaruhi pembangunan peternakan adalah masalah pakan. Faktor nutrisi dalam pakan kemungkinan besar merupakan faktor terpenting yang memengaruhi komposisi karkas, terutama komposisi kadar lemak. Oleh karena itu, manipulasi nutrisi pakan akan menentukan hasil akhir komposisi karkas. Terkait dengan ternak, salah satu ternak yang memiliki karakter yang menarik karena memiliki rumen di dalam kompartemen pencernaannya adalah ruminansia. Rumen yang berisi jutaan mikrobia membuat ruminansia mampu menyintesis beberapa jenis nutrisi esensial yang dibutuhkan untuk mendukung kebutuhan hidup dan produksinya. Ternak ruminansia juga mampu mencerna sumber serat, seperti rumput, daun, jerami, dan *by product* pertanian salah satunya adalah batang pisang (Suwignyo *et al.*, 2016).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan komoditi hasil pertanian, salah satunya adalah pisang. Provinsi penghasil pisang terbesar selain pulau Jawa adalah Sulawesi Selatan. Data tahun 2020 menunjukkan bahwa luas panen pisang di Sulawesi Selatan mencapai 146.539 ton, potensi lahan di Sulawesi Selatan untuk penanaman pisang tercatat 455.656 ha (Waryat dan Nurjanani, 2022). Salah satu bahan pakan yang diberikan pada ternak pada saat musim kemarau ialah batang pisang. Batang pisang dapat diolah dalam bentuk pakan fermentasi untuk memenuhi kebutuhan ternak. Kebanyakan pembudidaya tanaman pisang hanya membuang atau membiarkan batang pisang hingga busuk setelah dipanen buahnya. Di beberapa daerah, nilai ekonomis dari batang pisang belum dimanfaatkan padahal batang pisang masih memiliki potensi lain yang berguna yaitu sebagai bahan baku pakan ternak. Batang pisang diketahui memiliki kandungan nutrisi yang komplit sebagai pengganti pakan ternak. Menurut Devri *et al* (2020) Adapun komposisi rata-rata nutrisi dalam batang pisang antara lain : bahan kering (BK) 87,7 %, abu 25,12%, lemak kasar (LK) 14,23 %, serat kasar (SK) 29,40%, protein kasar (PK) 3 % termasuk asam amino, amine nitrat, glikosida, mengandung N, glikolipida, vitamin B, asam nukleat, bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 28,15% termasuk karbohidrat, gula dan pati.

Volatile Fatty Acids (VFA) merupakan kumpulan dari berbagai macam asam organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerob melalui proses fermentasi karbohidrat. Komponen penyusun bahan pakan tentu akan memproduksi panas metabolisme terutama pakan berserat kasar tinggi dimana dalam prosesnya akan lebih cenderung mengarah pada produksi VFA terutama asetat dan butirir yang cenderung memiliki panas metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan propionat serta meningkatkan produksi gas metan . Oleh karena itu, dibutuhkan pemilihan bahan pakan ternak ruminansia yang tepat guna memberikan produksi propionat

terbaik dengan produksi panas yang rendah yakni pemberian pakan berupa hasil fermentasi. Selain itu VFA dibutuhkan oleh ternak ruminansia sebagai energi utama yang masing-masing digunakan dalam prosesnya (Christi.,dkk, 2014).

1.2 Teori

1.2.1. Pisang Secara Umum

Pencarian bahan pakan baru yang berupa hasil samping agroindustri terus dilakukan dan tanaman pisang merupakan salah satu usaha agroindustri bila dikelola secara perkebunan, tetapi karena tanaman ini merupakan tanaman yang paling mudah tumbuh dan berkembang baik di Indonesia, maka tanaman pisang banyak tersebar di mana-mana. Di Indonesia perkebunan pisang yang besar baru mulai berkembang pada awal tahun 1990-an walaupun tidak sebanyak di negara-negara Amerika Latin atau Afrika. Terdapat 32 spesies dan 100 subspecies tanaman pisang di dunia dan secara umum dikelompokkan menjadi dua yaitu *banana* (*Musa sapientum*), tanaman pisang yang buahnya langsung dapat dimakan manusia dan *plantain* (*Musa paradisiaca*), tanaman pisang yang buahnya harus dimasak/diproses dahulu sebelum dikonsumsi (Wina, 2001).

Menurut Wina (2001) total produksi buah pisang di dunia mencapai 65,9 juta metrik ton yang terdiri dari 41,9 juta metrik ton banana dan 24,0 juta metrik ton plantain. Sebanyak 40,7% dan 41,3% pisang konsumsi (*banana*) masing-masing diproduksi di negara-negara Amerika Latin dan Asia. Indonesia hanya memproduksi 1,86 juta metrik ton dibandingkan dengan Filipina 3,65 juta dan India 4,6 juta metrik ton. Produksi pisang untuk dimasak (*plantain*) sebanyak 72,6% ada di negara-negara Afrika dan data produksi pisang jenis ini untuk Indonesia tidak ada. Dilaporkan juga bahwa 62% dari total produksi ditujukan untuk konsumsi manusia, 14% diproses lebih lanjut sebelum dikonsumsi, 21% terbuang karena rusak, dan hanya 2% digunakan untuk pakan. Sebenarnya buah pisang yang rusak selama pemanenan sampai pengepakan dapat juga diberikan kepada ternak. Dari 14% buah pisang yang diproses maka kulit pisang yang terbuang dari proses ini pun dapat dimanfaatkan oleh ternak. Pada saat buah dipanen, batang pisang yang tertinggal pun dapat dimanfaatkan untuk pakan ternak. Dengan kadar air yang sangat tinggi, maka total produksi batang pisang dalam berat segar minimum mencapai 100 kali lipat dari produksi buah pisangnya. Bila di Indonesia, produksi buah pisang 1,86 juta metrik ton, maka diperkirakan produksi batang pisang bisa menjadi 186 juta metrik ton.

Bagian-bagian tanaman pisang mempunyai kadar air yang sangat tinggi terutama pada batang pisang sehingga kadar bahan kering menjadi sangat kecil sampai mencapai 3,6%. Hal ini berarti pemberian batang pisang dalam bentuk segar secara tidak langsung sama halnya dengan memberikan air minum kepada ternak. Sementara itu, daun pisang dan buah pisang mempunyai kadar bahan kering yang menyerupai kadar bahan kering hijauan. Kandungan protein kasar bagian tanaman pisang tergolong rendah (Wina, 2001).

1.2.2 Pisang Kepok (*Musa Acuminata* x *Balbisiana*)

Pisang kepok (*Musa acuminata* × *balbisiana*) adalah tumbuhan buah berupa tumbuhan herba yang berasal dari kawasan di Asia Tenggara (termasuk Indonesia). Tanaman pisang kepok merupakan tanaman asli daerah Asia Tenggara dengan pusat keanekaragaman utama wilayah Indo-Malaya. Tampilan dari pisang kepok dapat kita lihat pada gambar sebagai berikut :



Gambar 1. Tanaman Pisang Kepok
Sumber : Dokumentasi Pribadi (2024)

Menurut Tjitrosoepomo (1991) pisang kepok adalah tanaman pisang yang berasal dari taksonomi sebagai berikut, yaitu :

Divisi : *Spermatophyta*
Sub Divisi : *Angiospermae*
Klas : *Monocotyledonae*
Famili : *Musaceae*
Genus : *Musa*

Famili *Musaceae* dari ordo *Scitaminaedan* terdiri dari dua genus, yaitu genus *Musadan Ensete*. Genus *Musa* terbagi dalam empat golongan, yaitu *Rhodochlamys*, *Callimusa*, *Australimusa* dan *Eumusa*. Golongan *Australimusa* dan *Eumusa* merupakan jenis pisang kepok yang dapat dikonsumsi, baik segar maupun olahan. Buah pisang kepok yang dimakan segar sebagian besar berasal dari golongan *Emusa*, yaitu *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* (Suryandari, 2014).

Berkenan dengan potensi dan nilai ekonomisnya maka batang pisang kepok (*Musa paradisiaca*) dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak ruminansia/non ruminansia dengan proses fermentasi. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa batang pisang kepok memiliki nutrisi yang bermanfaat untuk ternak. Pakan tersebut bermanfaat untuk meningkatkan berat badan menambah nafsu makan dan meningkatkan daya cerna (Labatar et al, 2021).

Batang pisang kepok (*Musa Paradisiaca* L.) mengandung lebih dari 80% air dan memiliki kandungan selulosa dan glukosa yang tinggi sehingga sering dimanfaatkan masyarakat sebagai pakan ternak dan sebagai media tanam untuk tanaman lain. Batang pisang kepok memiliki keterbatasan yaitu kandungan serat kasar yang cukup tinggi yakni sekitar 26,6 %, serta tingkat kecernaannya yang rendah (Puspitasari dan Batubara, 2021).

1.2.3 Pisang Ambon (*Musa Acuminata Cavendish Subgroup*)

Pisang ambon merupakan salah satu limbah pisang di perkotaan. Saat ini, belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dan cenderung menjadi sumber pencemaran lingkungan, mengeluarkan aroma tidak sedap dan mengurangi keindahan estetika kota. Pisang memiliki tingkat karbonisasi sebesar 96,56%. Limbah pisang memiliki kekuatan menyerap air, penyerapan senyawa-senyawa organik dan elemen kimia yang ada. Jenis pisang ambon mudah diperoleh, juga memiliki protein, serat, mineral, nutrien dan juga pisang merupakan biomassa organik. Limbah pisang ambon bisa dimanfaatkan sebagai pakan alternatif ternak dan dapat juga diproses menjadi pupuk organik cair dengan proses fermentasi, supaya limbah kulit pisang ambon tidak menjadi sumber pencemaran lingkungan (Zulfania et al, 2023).

Tampilan dari tanaman pisang ambon serta klasifikasi tanaman pisang ambon menurut Supriyadi dan Satu (2008) yang diterima secara luas saat ini dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar. 2 Tanaman Pisang Ambon
Sumber: Koleksi Pribadi, (2024).

pisang kepok adalah tanaman pisang yang berasal dari taksonomi sebagai berikut, yaitu:

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Klas	: <i>Liliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Commelinidae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Musaceae</i>
Genus	: <i>Musa</i>

Batang pisang ambon sebagai hasil samping yang diperoleh dari budidaya tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai bahan pakan sumber energi dalam sistem penyediaan ransum ternak ruminansia karena jumlah biomassa yang dihasilkan cukup banyak. Berdasarkan hasil analisis kimia, batang pisang ambon mengandung senyawa karbohidrat cukup baik, terlihat dari kandungan serat kasarnya sebesar 21,61% dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) sebesar 59,03%. Namun dipihak lain, pemanfaatannya sebagai komponen ransum ternak ruminansia memiliki keterbatasan karena kadar air yang cukup tinggi dengan kandungan protein yang rendah (Dhalika dan Budiman, 2014).

Batang pisang ambon sebagai hasil samping yang diperoleh dari budidaya tanaman pisang (*Musa Acuminata Cavendish Subgroup*) memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai bahan pakan sumber energi dalam sistem penyediaan ransum ternak ruminansia karena jumlah biomassa yang dihasilkan cukup banyak. Batang pisang ambon mengandung BK 8,00%, PK 1,01%, LK 0,75%, SK 19,50% dan abu 19,50% (Handayani et al, 2023).

1.2.4 Tanaman Pisang Raja (*Musa Paradisiaca L.*)

Pisang raja banyak diolah oleh masyarakat, karena rasanya manis dan aromanya kuat. Keunggulan pisang raja adalah dapat digunakan sebagai buah meja, dimana pisang dapat dimakan langsung setelah masak, maupun menjadi bahan baku produk olahan dan selain itu pisang raja juga dapat diberikan kepada ternak sebagai pakan tambahan. Banyaknya pisang di Indonesia menyebabkan pisang memiliki nilai ekonomi yang rendah. Hal ini karena pisang memiliki kandungan air tinggi yang dapat mempercepat pembusukan, sehingga dapat menurunkan mutu buah pisang (Rahman et al, 2018)

Untuk lebih mengenal bentuk dan ciri-ciri dari pisang raja berikut adalah tampilan dari tanaman pisang raja (*Musa paradisiaca L.*), yaitu :



Gambar 3. Tanaman Pisang Raja
Sumber : Dokumentasi Pribadi (2024)

Menurut Renny (2008) tanaman pisang raja (*Musa paradisiaca L.*) memiliki taksonomi sebagai berikut :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospremae</i>
Klas	: <i>Monocotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Musaceae</i>
Genus	: <i>Musa Paradisiaca L.</i>

Masalah umum yang dialami petani pisang dalam meningkatkan produksi pisang raja untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri maupun ekspor ialah ketersediaan bibit yang bermutu tinggi, bebas penyakit dan seragam dalam jumlah besar. Perbanyakkan tanaman pisang secara konvensional dengan bonggol atau anakan

akan menghasilkan bibit dalam waktu relative lama dan dengan jumlah terbatas (satu rumpun pisang hanya menghasilkan 5 – 10 bibit per tahun). Kualitas bibit yang dihasilkan juga rendah, karena hama dan penyakit tanaman akan mudah tersebar. Akibatnya produksi menjadi menurun dan kualitas produk menjadi sangat rendah (Prayoga, 2019).

Pisang raja (*Musa paradisiaca* L.) merupakan salah satu kultivar pisang yang sering dikonsumsi di Indonesia. Selain dikonsumsi sebagai buah segar, pisang raja banyak digunakan sebagai bahan utama berbagai makanan olahan pisang seperti, keripik pisang, pisang goreng, sale pisang serta limbahnya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Pisang raja juga memiliki nilai ekonomis yang tinggi yaitu sebesar Rp. 6,5 triliun dalam waktu setahun (Kementrian Pertanian, 2014).

1.2.5 Volatile Fatty Acids (VFA)

Volatile Fatty Acids (VFA) merupakan kumpulan dari berbagai macam asam organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerob melalui proses fermentasi karbohidrat. Komponen penyusun bahan pakan tentu akan memproduksi panas metabolisme terutama pakan berserat kasar tinggi dimana dalam prosesnya akan lebih cenderung mengarah pada produksi VFA terutama asetat dan butirat yang cenderung memiliki panas metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan propionat serta meningkatkan produksi gas metan. Oleh karena itu, dibutuhkan pemilihan bahan pakan ternak ruminansia yang tepat guna memberikan produksi propionat terbaik dengan produksi panas yang rendah yakni pemberian pakan berupa hasil fermentasi. Selain itu VFA dibutuhkan oleh ternak ruminansia sebagai energi utama yang masing-masing digunakan dalam prosesnya (Christi.,dkk, 2014).

Degradasi pakan dalam rumen menghasilkan volatile fatty acid (VFA), CO₂ dan amonia (NH₃) yang digunakan oleh mikrobia rumen untuk membentuk protein tubuhnya. Volatile fatty acid yang berupa asam asetat, asam propionat dan asam butirat juga merupakan produk akhir dari fermentasi karbohidrat dalam rumen. Produksi amonia dan VFA pada rumen dapat menunjukkan nilai pencernaan bahan organik ransum yang dikonsumsi, semakin tinggi produksi amonia dan VFA dalam rumen menunjukkan bahwa pencernaan bahan organik semakin tinggi pula.

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui produksi VFA dan gas pada 12 jam diberikan batang pisang dengan varietas yang berbeda

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2024 di Laboratorium Kimia Pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Materi Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas ukur, timbangan analitik, corong, pisau, *beaker glass*, cawan *Conway*, pipa karet, selang, erlemeyer, desikator, ember, oven, kantong, spatula, kain kasa, tabung fermentor, *sentrifuge*, kertas saring, tanur, termos air, *shaker*, *waterbath*, pH meter, dan mesin penggiling.

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain yaitu ; pisang Kepok (*Musa acuminata* × *balbisiana*), Pisang Ambon (*Musa acuminata Cavendish Subgroup*) dan Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L.). Bahan yang digunakan untuk pengujian pencernaan secara *in vitro* antara lain cairan rumen, larutan Pepsin- HCl 0,2%, larutan *Mc.Dougall's*, gas CO₂ dan aquades.

2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 4 ulangan dengan susunan sebagai berikut :

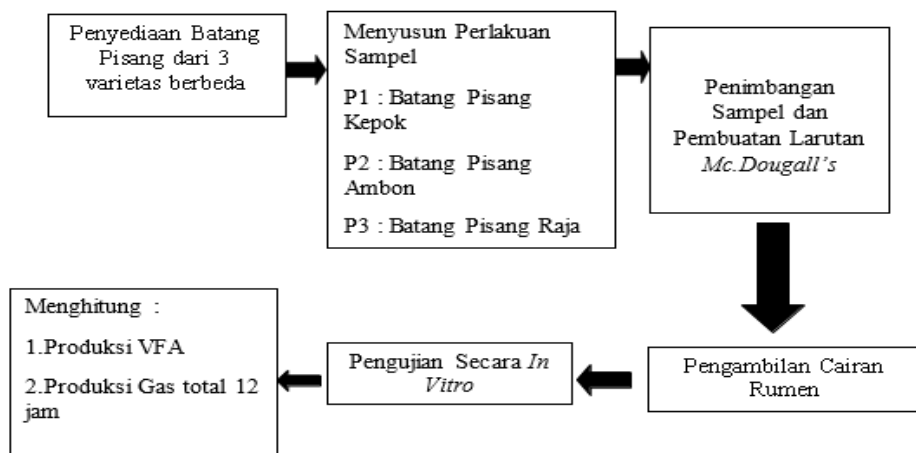
P1 : Batang Pisang Kepok (*Musa acuminata* × *balbisiana*)

P2 : Batang Pisang Ambon (*Musa acuminata Cavendish Subgroup*)

P3 : Batang Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L)

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 perlakuan dan 4 ulangan sehingga total sampel sebanyak 12 satuan unit percobaan.

2.4 Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

2.5 Prosedur Peneleitian

2.5.1. Metode Pengambilan Sampel

Pada saat pengambilan sampel di lapangan batang pisang yang akan diambil adalah batang pisang yang buahnya telah dipanen kemudian untuk setiap ulangan pada perlakuan, batang pisang diambil di lahan yang berbeda-beda setelah itu batang pisang yang telah diambil dipisahkan dari bonggol, daun, kulit batang terluar kemudian semua batang pisang tersebut ditimbang menggunakan timbangan analitik sehingga memperoleh berat segar dari setiap batang pada P1 (Pisang Kepok), P2 (Pisang Ambon), P3 (Pisang Raja). Setelah memperoleh kandungan berat segar tiap perlakuan kemudian mencacah batang pisang menggunakan parang yang dimana semua batang pisang dicacah mulai dari luar hingga bagian dalam batang pisang. Batang pisang yang telah dicacah, diaduk dengan tujuan semua daripada bagian batang pisang ikut terwakilkan dalam pengujian sampel (bagian luar hingga bagian dalam batang pisang). Setelah semua teraduk secara merata sampel dari tiap ulangan diambil masing-masing sebanyak 1000 gr kemudian dibawah ke tempat sementara untuk diangin-anginkan terlebih dahulu agar menghindari kerusakan pada sampel

2.5.2. Penyediaan Batang Pisang dari 3 Varietas Berbeda

Batang Pisang yang diambil adalah batang pisang yang telah diambil buahnya (pasca panen). Batang pisang tersebut dibelah dan diambil bagian tengah pada batang pisang tersebut. Setelah sampel diambil sampel akan diangin-anginkan terlebih dahulu hingga kadar airnya menurun. Sampel yang diambil yaitu sebanyak 1000 gram. Batang Pisang yang telah disiapkan dikeringkan terlebih dahulu menggunakan oven kemudian digiling menjadi tepung. Kemudian bahan pakan ditimbang dengan komposisi yang telah disesuaikan. Untuk perlakuan P1 menggunakan batang pisang kepok, P2 menggunakan batang pisang ambon dan P3 menggunakan batang pisang raja. Semua perlakuan yang telah dilakukan di berikan label masing- masing untuk kemudian dilakukan pengujian secara *in vitro*..

2.5.3. Penimbangan Sampel dan Pembuatan Larutan Mc. Dougall's

Uji *In vitro* dilakukan dengan teknik *two stage* berdasarkan metode Tilley dan Terry (1963). Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung fermentor. Bersama dengan sampel yang akan diuji, ikutkan dua tabung tanpa diisi dengan sampel sebagai blanko. Larutan *Mc.Dougall's* atau larutan saliva buatan adalah salah satu bahan yang digunakan pada penelitian ini. Larutan ini berfungsi sebagai pengatur kestabilan pH selama proses fermentasi berlangsung. Para peneliti menggunakan larutan *Mc.Dougall's* dicampur dengan cairan rumen dengan rasio 4:1 (Tilley and Terry, 1963). Komposisi bahan larutan *Mc.Dougall's* adalah sebagai berikut :

a. Larutan Mineral Makro

CaCl ₂ .2H ₂ O	13.2 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	10.0 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	1.0 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	8.0 g

Aquades	100 ml
b. Buffer Rumen	
NH ₄ HCO ₃	1.0 g
NaHCO ₃	8,75 g
Aquades	0,25 ml
c. Larutan Mineral Makro	
Na ₂ HPO ₄	1,425 g
KH ₂ HPO ₄	1,55 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.15 g
Aquades	0,25 ml
d. Larutan Pereduksi	
NaIH 1N	4.0 g
Aquades	100 ml

Cara Pembuatan :

Sebanyak 1000 ml akuades ditambahkan 0,25 ml larutan mikro kemudian diaduk menggunakan *hot plate stirrer*. Tambahkan larutan *buffer* sebanyak 500 ml, larutan makro 500 ml, larutan pereduksi 100 ml dan akuades sebanyak 400 ml. Setiap penambahan larutan, aduk terlebih dahulu hingga larutan tercampur merata. Media dipindahkan ke *waterbath* dengan suhu 39°C sambil dihembuskan gas CO₂ semalaman. Tambahkan sedikit larutan *Mc.Dougall's* ke dalam tabung fermentor untuk membasahi sampel

2.5.4. Pengambilan Cairan Rumen

Cairan rumen yang digunakan adalah cairan rumen sapi yang diambil pada dini hari saat sapi dipotong di RPH CV. Akbar Jaya Sejahtera, Tamangapa, Antang Makassar. Cairan rumen diambil dengan cara memeras isi rumen menggunakan kain kasa sebanyak 4 rangkap dan kemudian dimasukkan ke dalam termos hangat yang sebelumnya telah diisi dengan air panas (air panas dibuang pada saat cairan rumen akan dimasukkan dalam termos). Pengisian air panas dalam termos adalah agar termos mencapai suhu 39°C sesuai dengan suhu di dalam rumen. Kemudian termos ditutup rapat dan dibawa ke laboratorium untuk analisis *in vitro*.

Tahap preparasi cairan rumen diawali dengan membawa isi rumen ke laboratorium menggunakan termos kemudian peras isi rumen menggunakan kain kasa sebanyak 4 rangkap dan kemudian dimasukkan ke gelas piala. Gelas piala yang berisi cairan rumen segera dicampur dengan larutan *Mc. Dougall's* dengan rasio 1:4 (Tilley dan Terry, 1963). Periksa pH agar tetap 6,9 dan suhu 39°C.

Pindahkan 50 ml campuran cairan rumen dan *Mc.Dougall's* ke tabung fermentor dan pasang sumbat karet yang telah diberikan klep pembuangan gas. Goyang tabung fermentor selama 30 detik kemudian inkubasi selama 48 jam. Setelah diinkubasi selama 48 jam, tabung fermentor dibuka, teteskan HCl hingga pH dibawah 3 untuk membunuh mikroba rumen dan tambahkan 5 ml larutan pepsin kemudian inkubasi kembali selama 48 jam tanpa tutup karet. Supernatan dibuang setelah penyaringan dengan *sintered glass* pada pengukuran tingkat degradasi

dalam sistem rumen. Residu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 24 jam sehingga diperoleh bahan kering, selanjutnya diabukan pada 600°C dalam tanur untuk menentukan kadar bahan organik.

2.5.5. Pengukuran Nilai VFA

VFA Total = $(B - S) \times \text{Normalitas HCl} \times 1000/5$

Keterangan: B= Volume titrasi blanko
S= Volume titrasi sampel

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan analysis of variance (ANOVA) Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Steel dan Torrie (1995) dengan model matematis sebagai berikut:

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

Y_{ij} = nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
 μ = nilai tengah umum atau rata-rata umum
 α_i = pengaruh perlakuan ke-i
 ε_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
= perlakuan ke (1, 2, 3)
J = ulangan ke (1, 2, 3, 4)

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan menggunakan paket software IBM *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 23 for windows.