

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ketersediaan tanaman pakan Indonesia sangat dipengaruhi oleh musim. Pakan memiliki peranan penting dalam pemeliharaan ternak yang memiliki persentase 60-70% terhadap keberhasilan usaha peternakan. Saat musim hujan hijauan mencapai masa puncak pertumbuhannya, sehingga hijauan segar cukup mudah untuk didapatkan. Hal kebalikan terjadi saat musim kemarau dimana hijauan segar sulit untuk didapatkan. Kesulitan mencukupi kebutuhan hijauan pakan pada musim kemarau sering terjadi akibat produksi yang rendah disebabkan asupan air yang terbatas di musim kemarau sehingga kualitas hijauan pun menurun (Sulistyo *et al.*, 2020).

Rendahnya kuantitas hijauan pakan di musim kemarau juga menurunkan kualitas persediaan pakan hijauan ternak. Salah satu yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah kuantitas ketersediaan pakan hijauan di musim kemarau yaitu dengan mencari alternatif bahan pakan ternak. Salah satu alternatif bahan pakan yang dapat dipertimbangkan adalah bungkil kelapa sawit. Bungkil kelapa sawit mengandung kadar protein 14,19–21,66%, lemak 9,5–10,5% dan serat kasar 12–63% (Pasaribu, 2018).

Bungkil kelapa sawit merupakan salah satu limbah yang berasal dari industri pengolahan kelapa sawit. Kelapa sawit merupakan salah satu tanaman agroindustri paling menguntungkan di Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik Indonesia jumlah produksi kelapa sawit di seluruh provinsi di Indonesia mencapai 46.967,10 ton di tahun 2023. Pada setiap pengolahan satu tandan buah segar kelapa sawit, menghasilkan 13% limbah serat dan 0,65% limbah cangkang inti (kernel) (Arifandy *et al.*, 2021). Pada industri perkebunan kelapa sawit di produksi hasil sampingan (limbah pertanian) yaitu batang, daun dan pelepahnya. Daun dan pelepah kelapa sawit dapat dimanfaatkan oleh peternak sebagai pakan ternak ruminansia. Daun dan pelepah kelapa sawit dapat diolah sebagai silase. Upaya untuk menghindari fluktuasi hijauan pakan dapat dilakukan dengan pengawetan hijauan pada saat produksinya melimpah yaitu dengan menerapkan teknologi fermentasi.

Teknologi fermentasi adalah salah satu alternatif cara yang dapat digunakan untuk menangani masalah fluktuasi hijauan pakan di musim kemarau. Proses fermentasi ini dapat membuat pakan memiliki masa simpan yang lebih lama juga dapat mempertahankan nilai nutrisi dan kualitasnya (Amin *et al.*, 2013). Penerapan teknologi fermentasi dapat ditemukan pada pakan jenis silase. Silase merupakan salah satu produk hasil penerapan teknologi pengawetan pakan ternak yang berasal dari hijauan melalui proses fermentasi (Arifin, 2018). Pembuatan silase bertujuan untuk mengawetkan atau mempertahankan kualitas kandungan nutrisi pada pakan dalam jangka waktu tertentu dan sebagai sumber ketersediaan pakan berkualitas pada musim kemarau. Silase harus dibuat di tempat yang tertutup rapat atau tanpa udara (kondisi anaerob) agar proses fermentasi terjadi. Fermentasi juga dapat bertujuan untuk meningkatkan kandungan nutrisi pada pakan. Pada proses fermentasi perlu untuk ditambahkan inokulan sebagai katalisator yang dapat mengurangi lamanya waktu yang dibutuhkan selama fermentasi (Wahhyuni dkk., 2023). Inokulasi merupakan suatu proses pemindahan mikroorganisme seperti jamur ataupun bakteri dari sumber asalnya ke sebuah medium baru yang telah disiapkan secara steril. Inokulan/inokulum merupakan biakan mikroorganisme yang dapat berupa bakteri ataupun jamur/kapang yang dapat dimanfaatkan dalam proses biologi tertentu (Febayunigrum dkk., 2021).

Cairan rumen sapi bali berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai inokulan karena kaya akan nutrisi yang mudah larut, mikroba dan enzim pendegradasi serat. Cairan rumen bisa disebut sumber mikroorganisme dikarenakan memiliki mikroba yang melimpah (Firdaus dkk., 2014). Rumen mengandung populasi mikroba yang cukup besar. Rumen terdapat empat jenis mikroorganisme seperti; bakteri, fungi, protozoa dan virus, sehingga menyebabkan kehidupan dalam rumen sangat kompleks. Berdasarkan beberapa literatur diketahui bahwa jumlah spesies bakteri mencapai 200 spesies. Bakteri merupakan mikroba rumen yang paling banyak jenis dan populasinya dengan

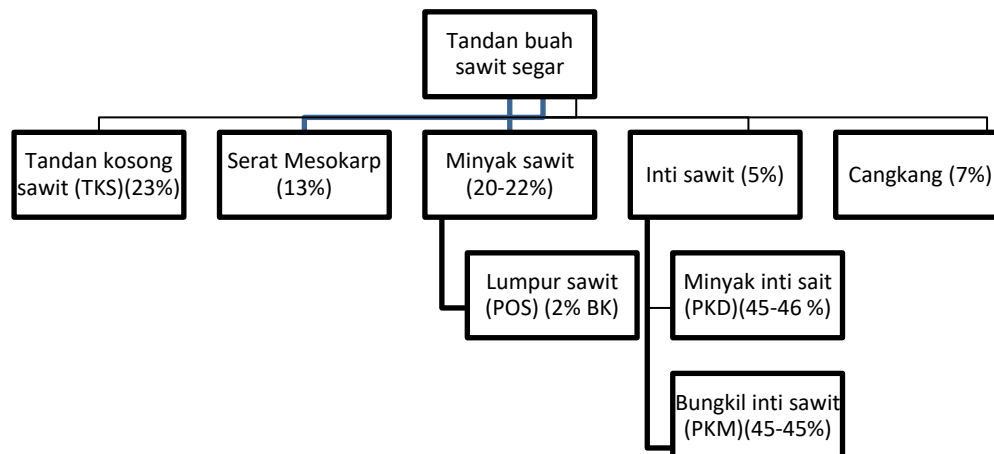
beragam substratnya. Dalam rumen, populasi bakteri berkisar 10^{10} - 10^{12} sel per gr isi rumen. Sedangkan protozoa sekitar 20 spesies dengan jumlah populasi sekitar 10^6 per ml cairan rumen dan populasi jamur sekitar 10^4 per ml cairan rumen.

Ketersediaan limbah industri kelapa sawit sangat melimpah termasuk limbah bungkil kelapa sawit. Penerapan teknologi pengolahan lebih lanjut dapat meningkatkan kadar nutrisinya terutama kadar proteinnya dan mengurangi kadar serat kasar yang tidak di butuhkan ternak. Hal ini lah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian mengenai analisis kandungan protein kasar dan serat kasar pada teknologi fermentasi bungkil kelapa sawit dengan penambahan inokulan rumen sapi.

1.2 Landasan Teori

Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki peran strategis dalam pembangunan ekonomi Indonesia. Sebagai penghasil kelapa sawit terbesar di dunia, industri kelapa sawit telah menghasilkan banyak limbah baik limbah cair maupun padat (Pahan, 2021). Salah satu limbah padat dalam industri kelapa sawit yaitu bungkil kelapa. Bungkil kelapa (palm kernel cake/meal) merupakan hasil buangan dari industri pengolahan minyak kelapa sawit yang berupa padatan. Bungkil kelapa sawit atau biasa disebut bungkil sawit merupakan bagian dari kelapa sawit yang tidak termanfaatkan namun masih memiliki kandungan lemak yang cukup tinggi pada ternak (Jaelani dkk., 2008).

Berikut gambaran singkat mengenai proses pengolahan minyak kelapa sawit hingga menghasilkan limbah berupa bungkil kelapa sawit.



Gambar 1. Produk dan hasil sampingan kelapa sawit (Tsaniya dan Hermawan, 2015).

Bungkil sawit memiliki kandungan nutrisi yang cukup kompleks. Kandungan nutrient bungkil sawit terdiri atas bungkil kelapa sawit dalam bahan keringnya mengandung protein kasar (PK) 16,8%, lemak kasar (LK) 11,9%, serat kasar (SK) 22,6%, abu 4,07%, BETN (bahan ekstrak tanpa nitrogen) 44,63%, dan TDN (*total digestible nutrien*) 78%. Bungkil kelapa sawit merupakan sumber protein yang mudah terdegradasi di dalam rumen, protein pakan yang masuk ke dalam rumen akan didegradasi oleh mikrobia rumen menjadi asam amino kemudian deaminasi menjadi NH_3 dan asam α keto (Bhaktiar dkk., 2013).

Selain kandungan nutrisi makro di atas bungkil sawit juga mengandung NDF (*Neutral Detergent Fiber*) sebesar 46,7- 66,4% dan ADF (*Acid Detergent Fiber*) sebesar 39,6-44%. Dalam pakan apabila kandungan NDF dan ADF nya terlalu tinggi maka akan mempengaruhi tingkat pencernaan dan palatabilitas pakan (Hanafi dkk., 2022).

Fermentasi adalah salah satu bioteknologi yang dapat diterapkan untuk mengolah bungkil kelapa sawit menjadi pakan yang disukai oleh ternak, karena pada saat proses fermentasi terdapat perombakan struktur yang kompleks menjadi sederhana sehingga daya cerna lebih efisien. Fermentasi serat kasar dapat di degradasi oleh mikroorganisme. Menurut Ismartoyo (2011), proses fermentasi dilakukan untuk meningkatkan nilai gizi bahan kualitas rendah, pengawetan bahan pakan, dan merupakan suatu cara untuk menghilangkan zat anti nutrisi atau racun yang terkandung dalam suatu bahan pakan. Selain itu, proses fermentasi dapat memperpanjang masa simpan, mengendalikan pertumbuhan mikroba, mempertahankan gizi yang diinginkan, dan menciptakan kondisi yang kurang memadai untuk mikroba kontaminan.

Fermentasi merupakan proses perubahan bahan pakan secara biokimia oleh aktifitas mikroorganisme serta menghasilkan terjadinya aktifitas metabolisme enzim. Berbagai jenis bakteri, khamir, dan kapang adalah jenis mikroba yang umumnya terlibat dalam proses fermentasi. salah satu jenis bakteri yang dapat ditemukan dalam produk olahan fermentasi yaitu bakteri asam laktat. Bakteri ini menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH bahan pakan, sehingga kualitas bahan pakan dapat dipertahankan. Selain itu, bakteri ini juga menghasilkan asam-asam organik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk (Mustafa *et al.*, 2017).

Fermentasi sangat dipengaruhi oleh lama fermentasi. Menurut Damanik *et al.* (2023) Fermentasi bungkil kelapa sawit selama 24 hingga 48 jam dapat meningkatkan kadar protein kasar dan menurunkan kadar serat kasar. Lama fermentasi juga berpengaruh pada produksi gas dan aktivitas enzim. Fermentasi yang lebih lama cenderung menghasilkan lebih sedikit gas, tetapi meningkatkan aktivitas enzim yang berperan dalam pencernaan (Winardi *et al.*, 2024)

Cairan rumen sapi mengandung berbagai mikroorganisme yang berperan penting dalam proses fermentasi pakan. Penggunaan cairan rumen sebagai inokulan dapat membantu meningkatkan proses pencernaan dan memaksimalkan konversi pakan menjadi energi dan protein yang dapat dimanfaatkan oleh ternak. Penelitian menunjukkan bahwa inokulan yang berasal dari cairan rumen sapi dapat menurunkan populasi protozoa dalam rumen dan meningkatkan konsentrasi amonia (NH₃) serta asam lemak volatil (VFA) yang penting bagi kesehatan ternak (Purbowati dkk., 2014)

Di dalam rumen terdapat berbagai jenis mikroorganisme, termasuk bakteri. Bakteri dalam isi rumen juga terdapat beberapa jenis, yaitu :

- a) Bakteri Selulolitik: Mikroorganisme ini memiliki kemampuan untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Bakteri selulolitik seperti *Ruminococcus*, *Bacteroides*, dan *Clostridium* menghasilkan enzim selulase yang menghidrolisis ikatan glikosidik dalam selulosa. Populasi bakteri selulolitik dalam cairan rumen sapi dapat mencapai sekitar $2,6 \times 10^7$ koloni per milliliter (Zubaidah dkk., 2019).
- b) Bakteri Amilolitik: Bakteri ini berfungsi untuk mengubah amilum menjadi glukosa dengan memproduksi enzim amilase. Beberapa genus bakteri amilolitik yang ditemukan dalam rumen termasuk *Bacillus* dan *Enterobacter*. Populasi bakteri amilolitik dalam cairan rumen sapi juga dapat mencapai sekitar $1,71 \times 10^7$ koloni per milliliter (Saragih dkk., 2018).
- c) Bakteri proteolitik merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki peran penting dalam proses pencernaan di rumen sapi, terutama dalam mendegradasi protein menjadi asam amino. Dalam rumen, terdapat berbagai jenis bakteri yang berfungsi untuk memecah komponen pakan, dan bakteri proteolitik adalah salah satu yang paling signifikan (Moningkey dkk., 2020).

Penggunaan inokulan cairan rumen sapi dalam pakan ternak telah menjadi fokus penelitian yang bertujuan untuk meningkatkan pencernaan pakan serta mengurangi kandungan serat kasar, seperti *Neutral Detergent Fiber* (NDF) dan *Acid Detergent Fiber* (ADF). Penggunaan cairan rumen sebagai inokulan dapat meningkatkan pencernaan bahan kering dan nutrisi dalam pakan ternak. Selain meningkatkan pencernaan inokulan juga berpengaruh pada metabolisme rumen, termasuk penurunan populasi protozoa dan peningkatan produksi ammonia (N-NH₃) dalam rumen. Penurunan populasi protozoa berkisar antara

70,43% hingga 83,19%, yang menunjukkan adanya defaunasi rumen yang positif untuk proses fermentasi (Biyatmoko, 2013).

Penggunaan inokulan pada degradasi serat pakan juga sangat berpengaruh. Zakariah dkk. (2016) menyatakan bahwa penambahan agen inokulan dalam proses fermentasi dapat meningkatkan laju degradasi pakan serta dapat meningkatkan BETN, menurunkan fraksi serat, mendegradasi teori, menurunkan pH rumen, menurunkan propionate dan meningkatkan produksi asam butirat, namun tidak mempengaruhi rasio asetat terhadap propionate, sistesis mikroba, maupun nilai kecernaan pakan.

Protein kasar adalah kategori yang mencakup semua zat yang mengandung nitrogen dalam bahan pakan, mencakup baik protein maupun non-protein. Protein sendiri merupakan senyawa organik yang kompleks dan memiliki berat molekul tinggi, mirip dengan karbohidrat dan lipid. Zat ini mengandung unsur-unsur penting seperti karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, belerang, dan fosfor. Untuk menentukan kadar protein dalam bahan makanan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar nitrogen secara kimia, yang kemudian hasilnya dikalikan dengan faktor protein sebesar 6,25. Diketahui bahwa rata-rata kandungan nitrogen dalam protein adalah sekitar 10%, dengan kisaran yang bervariasi antara 13% hingga 19%. Protein itu sendiri terdiri dari sejumlah polipeptida yang akan diuraikan menjadi peptida atau senyawa asam amino (Naif dkk., 2015).

Protein memiliki peran yang sangat penting dalam memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak, mendukung pertumbuhan dan pembentukan sel-sel baru, serta menyediakan energi bagi ternak. Selain itu, menurut Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan (2013) mengatakan protein juga digunakan untuk mengganti jaringan yang telah rusak dan membentuk jaringan baru selama proses perkembangan dan pertumbuhan. Ruminansia, di sisi lain, memiliki kemampuan unik untuk memanfaatkan nitrogen sebagai sumber protein, berkat keberadaan mikroorganisme dalam rumen yang mampu mengubah nitrogen menjadi protein mikroba. Kandungan protein dalam ransum memiliki dampak signifikan terhadap tingkat konsumsi pakan pada ternak ruminansia. Ransum dengan kandungan protein yang tinggi dapat meningkatkan nafsu makan ternak. Protein tidak hanya berfungsi untuk meningkatkan palatabilitas ransum, tetapi juga menjadi faktor penting dalam pertumbuhan dan kesehatan ternak. Menurut Rustiyana dkk. (2016), ransum yang kaya protein akan mendorong konsumsi yang lebih baik pada ternak. Menurut Widianingum dkk. (2021) peran protein sangat penting bagi ternak ruminansia, di mana kekurangan protein dapat menghambat pertumbuhan. Protein berperan dalam perbaikan jaringan, pertumbuhan jaringan baru, metabolisme, penyediaan energi, serta pembentukan antibodi, enzim, dan hormon.

Peningkatan kadar protein sering kali disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme yang menghasilkan enzim guna memecah ikatan protein. Selain itu, protein sel tunggal yang berasal dari mikroorganisme yang berkembang selama proses fermentasi turut berkontribusi pada peningkatan ketersediaan protein. Selama proses ini, protein mengalami hidrolisis menjadi peptida berkat enzim yang dihasilkan oleh mikroflora rumen, sebelum akhirnya diubah menjadi asam amino. Beberapa asam amino kemudian dirombak menjadi amonia (NH_3) dalam proses amoniasi dan digunakan oleh mikroba rumen sebagai bahan penyusun protein tubuh, sehingga beragam bahan organik dapat terdegradasi dengan lebih baik (Putra dkk., 2019).

Serat kasar adalah zat yang terdapat dalam makanan ruminansia, dan kandungannya yang tinggi dapat berpengaruh negatif terhadap kualitas pakan. Menurut Yulianto dan Suprianta (2011), serat kasar berfungsi sebagai sumber energi bagi mikroba dalam rumen, serta berperan dalam menjaga agar sistem pencernaan berfungsi dengan baik. Serat kasar juga membantu merangsang kelenjar pencernaan untuk memproduksi enzim yang diperlukan. Meskipun berperan penting, serat kasar sulit dicerna oleh hewan non-ruminansia.

Kandungan serat kasar dalam pakan sangat berpengaruh terhadap kecernaannya. Semakin tinggi kandungan serat kasar, semakin rendah tingkat kecernaan pakan pada ruminansia. Diharapkan bahwa kandungan serat kasar dapat berkurang selama proses fermentasi (Rustiyana dkk., 2016). Penurunan serat kasar pada silase disebabkan oleh proses penguraian yang dilakukan oleh bakteri selama fermentasi, yang menyederhanakan struktur serat kasar. Proses ini mengubah serat selulosa menjadi polimer yang lebih sederhana, yang akhirnya diubah menjadi gula (Naif dkk., 2015). Selain itu, menurut Moningkey dkk.

(2020), semakin lama proses fermentasi berlangsung, semakin banyak mikroorganisme di dalam rumen mendegradasi senyawa kompleks serat kasar menjadi bentuk yang lebih sederhana.

Ransum dengan kandungan protein kasar tinggi akan sulit dicerna jika juga mengandung serat kasar yang tinggi. Kadar serat kasar yang berlebihan dapat mengganggu pencernaan zat gizi lainnya. Ketika pakan mengandung protein yang tinggi namun juga memiliki serat kasar yang tinggi, kemungkinan besar protein tersebut tidak akan dicerna dengan baik (Rustiyana, dkk., 2016).

Beberapa studi yang relevan menunjukkan hasil yang signifikan terkait dengan efektivitas penggunaan cairan rumen sebagai inokulan dan lama fermentasi berbeda. Studi dari Nur dan Sjoftan (Nur dan Sjoftan, 2021), Penelitian ini mengevaluasi pengaruh kombinasi inokulum (*Bacillus sp.*, *Trichoderma sp.*, dan *Cellulomonas sp.*) dan waktu fermentasi terhadap kandungan nutrisi campuran bungkil inti sawit dan onggok. Hasilnya menunjukkan bahwa waktu fermentasi memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan bahan organik, protein kasar, protein terlarut, gula reduksi, *neutral detergent fiber* (NDF), dan *acid detergent fiber* (ADF). Namun, kombinasi inokulum tidak berpengaruh signifikan terhadap kandungan nutrisi tersebut.

Studi lain dari Maulana dkk. (Maulana *et al.*, 2024), penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi peningkatan kualitas nutrisi dedak padi dengan fermentasi menggunakan inokulum cairan rumen sapi Bali jantan. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara dosis inokulum cairan rumen sapi Bali jantan dan lama fermentasi terhadap bahan kering, protein kasar, dan serat kasar. Perlakuan dengan dosis 50 ml dan lama fermentasi 14 hari menghasilkan kandungan protein kasar tertinggi sebesar 16,89% dan serat kasar sebesar 13,22%.

Studi lain dari Kristianti dkk. (Kristianti dkk., 2015), Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penerapan teknologi fermentasi ransum dengan inokulan dari cairan rumen dan rayap terhadap kandungan nutrisi ransum sapi Bali berbasis limbah pertanian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi ransum sapi Bali berbasis limbah pertanian menggunakan inokulan dari cairan rumen dan rayap dapat menurunkan kandungan serat kasar serta meningkatkan kandungan protein kasar. Perlakuan dengan 20% cairan rumen dan 0,3% rayap menghasilkan ransum dengan kandungan protein kasar lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menganalisis kandungan protein kasar dan serat kasar pada bungkil kelapa sawit yang difermentasi menggunakan jenis inokulan asal cairan rumen pada waktu fermentasi yang berbeda. Adapun kegunaan dari penelitian ini yaitu sebagai informasi kepada masyarakat mengenai pemanfaatan limbah perkebunan khususnya kelapa sawit sebagai alternatif pakan ternak.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember-Januari 2025, terdiri dari dua tahap, tahap pertama yaitu fermentasi pakan yang berlokasi di Laboratorium Valorasi Pakan dan Limbah, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar dan tahap kedua yaitu uji kadar protein kasar dan serat kasar yang berlokasi di Laboratorium Kimia Pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Materi Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : terpal, sekop, gunting, thermometer, dan peralatan yang digunakan untuk menghitung kadar protein kasar dan serat kasar pada bahan.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu bungkil kelapa sawit, inokulum asal cairan rumen jamur ($3,2 \times 10^9$ CFU/g) dan bakteri (1.3×10^7 CFU/ml), kantong plastik, gelang karet, dan bahan-bahan yang digunakan dalam pengujian kadar protein kasar dan serat kasar pada fermentasi bungkil kelapa sawit.

2.3 Prosedur Penelitian

1. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor. Faktor Pertama adalah jenis inokulum yang digunakan (A) yang terdiri dari 4 perlakuan faktor kedua adalah lama fermentasi pada bahan (B) yang terdiri dari 2 perlakuan.

Faktor I adalah jenis inokulum yang digunakan pada proses fermentasi (A) terdiri dari 4 perlakuan, yaitu:

A0 : Kontrol (Tanpa Inokulum)

A1 : Bungkil Kelapa Sawit + Bakteri asal cairan rumen

A2 : Bungkil Kelapa Sawit + Jamur asal cairan rumen

A3 : Bungkil Kelapa Sawit + Bakteri + Jamur asal cairan rumen

Faktor II adalah lama fermentasi (B) terdiri dari 2 perlakuan, yaitu:

B1 : 15 Hari

B2 : 30 Hari

Jumlah ulangan pada penelitian ini masing-masing dilakukan 2 kali ulangan, sehingga secara keseluruhan menghasilkan 16 total perlakuan.

2. Prosedur penelitian

Inokulum asal cairan rumen yang sudah tersedia diambil sebanyak 10 ml lalu diencerkan dalam 1 liter air kemudian diaduk lalu didiamkan. Setelah itu, bungkil kelapa sawit ditimbang sebanyak 2.000 gram (2 kg) pada setiap unit percobaan. Inokulum yang telah diencerkan dan didiamkan ditakar sebanyak 3% pada setiap perlakuan lalu, dicampurkan dengan bungkil kelapa sawit hingga berkadar air 60% dan dimasukkan ke dalam kantong plastik, kemudian sampel diikat. Selanjutnya difermentasi sesuai dengan perlakuan. Setelah fermentasi selesai dilakukan uji kandungan kadar Protein Kasar dan Serat Kasar pada setiap perlakuan.

3. Parameter yang diamati

a. Penentuan Kandungan Protein Kasar

Menentukan kadar Protein Kasar dari setiap unit percobaan yang telah ditambahkan dengan jenis inokulum dan waktu fermentasi yang berbeda dapat diperoleh sesuai dengan petunjuk analisa uji proksimat (AOAC, 2019) menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar PK} = \left(\frac{V \times N \times 14 \times 6,25 \times P}{\text{Berat Sample (mg)}} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

V = Volume Titrasi

N = Normalitas larutan HCL atau H₂SO₄ sebagai penitar (0,0103)

P = Faktor pengencer (50 mg)

b. Penentuan kadar Serat Kasar

Menentukan kadar Serat Kasar dari setiap unit percobaan yang telah ditambahkan dengan jenis inokulum dan waktu fermentasi yang berbeda dapat diperoleh sesuai dengan petunjuk analisa proksimat (AOAC, 2019) menggunakan rumus berikut:

$$SK (\%) = \frac{a-b}{\text{berat sampel (a)}} \times 100\% \times \left(\frac{100}{BK \text{ Sampel}}\right)$$

Keterangan :

a = Berat setelah oven

b = berat setelah tanur

4. Analisis data

Data yang telah diperoleh pada penelitian ini dianalisis menggunakan sidik ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial (4x2x4) dengan model matematikannya adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} : Pengamatan faktor P taraf ke-i, Faktor B taraf ke-j dan Ulangan ke-k

μ : Rataan Umum.

A_i : Pengaruh Faktor A pada taraf ke-i (1,2,3,4)

B_j : Pengaruh Faktor B pada taraf ke-j (1,2)

AB_{ij} : Interaksi antara Faktor A dengan Faktor B.

ε_{ijk} : Pengaruh galat pada faktor A taraf ke-i, Faktor B taraf ke-j dan ulangan ke- k

K : Ulangan (1,2,3 dan 4).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam dengan bantuan software SPSS versi 30.00, jika berpengaruh nyata akan dilanjutkan dengan uji Duncan (Duncan's Multiple Random Tests = DMRT) (Gaspersz, 1991).