

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gas rumah kaca menjadi penyebab utama terjadinya perubahan iklim. Industri ternak menyumbang emisi gas rumah kaca dalam bentuk metana (CH_4) dan nitrogen oksida (N_2O). Salah satu sumber gas metana yaitu hasil dari fermentasi pakan dalam saluran pencernaan oleh mikroba rumen (fermentasi enterik) dan pengelolaan kotoran ternak, sedangkan emisi gas nitrogen oksida secara langsung maupun tidak langsung hanya berasal dari pengelolaan kotoran ternak. Fermentasi enterik adalah proses dimana karbohidrat dipecah menjadi molekul sederhana oleh mikroorganisme untuk diserap ke dalam aliran darah pada hewan pemamah biak (herbivora), metana adalah produk utama fermentasi enterik, yang lebih banyak menyumbang gas rumah kaca daripada metana dan nitrogen oksida dari kotoran ternak. Pada tahun 2018 sebesar 74% gas rumah kaca sektor peternakan bersumber dari enterik metana. Metana adalah gas rumah kaca yang dihasilkan oleh mikroba metanogenik yang berasal dari ekosistem alami termasuk saluran pencernaan ternak ruminansia (Agus, 2019).

Upaya penurunan produksi gas metana pada ternak ruminansia dapat dilakukan dengan memanfaatkan sumber bahan pakan alternatif melalui suplementasi pada pakan ternak. Total produksi gas merupakan salah satu parameter penting dalam mengevaluasi fermentabilitas pakan, total produksi gas dapat diukur secara *In Vitro* untuk memprediksi potensi pakan dalam mendukung pertumbuhan ternak. Pengukuran total produksi gas *In Vitro* dapat memberikan informasi tentang potensi pakan dalam mendukung pertumbuhan dan kesehatan ternak. Selain itu, produksi gas yang tinggi sering kali terkait dengan peningkatan ketersediaan energi dan nutrisi, yang esensial untuk produktivitas ternak. Produksi gas merupakan hasil dari proses fermentasi yang terjadi di dalam rumen yang menggambarkan banyaknya bahan organik tercerna. Fermentasi nutrisi di dalam rumen akan menghasilkan gas, bahan organik yang di degradasi adalah sumber utama dihasilkannya gas, semakin tinggi bahan organik yang di degradasi maka gas yang di hasilkan akan semakin tinggi pula (Yuliarti *et al.*, 2022). Variasi dalam komposisi pakan, termasuk penggunaan bahan pakan alternatif seperti rumput laut, dapat mempengaruhi total produksi gas dan efisiensi pakan. Rumput laut mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, minyak, dan asam amino serta senyawa sekunder lainnya (*phlorotannin*, *iodine*, dan senyawa halogenasi). Kandungan beberapa senyawa tersebut terbukti mampu menurunkan produksi gas metana pada ternak ruminansia karena sifatnya sebagai antimetanogenik (Pirian *et al.*, 2018).

Rumput laut khususnya *Gracilaria sp.* Memiliki keunggulan dalam komposisi pakan ternak karena tidak hanya menyediakan nutrisi yang diperlukan, tetapi juga mengandung senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan sistem imun ternak. Rumput laut ini kaya akan vitamin dan mineral yang semuanya penting bagi kesehatan ternak. Kandungan protein sebesar 20-25%, Rumput laut ini juga kaya akan vitamin dan mineral yang baik untuk pertumbuhan ternak. Rumput laut dalam pakan membantu mengurangi produksi gas metana dari fermentasi di rumen. Senyawa bioaktif dalam rumput laut, seperti polifenol, dapat menghambat aktivitas bakteri metanogenik, sehingga



mengurangi emisi gas metana tanpa mengganggu proses pencernaan ternak. Penggunaan *Gracilaria sp.* sebagai pakan ternak juga mendukung keberlanjutan, karena rumput laut dapat diperoleh dari sumber daya laut yang melimpah dan tidak bersaing dengan lahan pertanian (Nursyamsi *et al.*, 2020).

Dengan mempertimbangkan potensi dari *Gracilaria sp.* yang digunakan sebagai bahan pakan yang efisien dan ramah lingkungan, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi pengaruh pemberian rumput laut *Gracilaria sp.* pada berbagai level dalam pakan lengkap terhadap produksi gas secara *In Vitro*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pengembangan pakan ternak yang lebih berkelanjutan dan efisien, serta mendukung praktik budidaya ternak yang ramah lingkungan.

1.2 Teori

1.2.1. Pakan ternak dan pentingnya kualitas pakan

Salah satu komponen terpenting dalam meningkatkan produksi ternak adalah pakan ternak. Produktivitas, kesehatan, dan pertumbuhan ternak secara signifikan dipengaruhi oleh pakan berkualitas tinggi. Pakan berkualitas tinggi dapat meningkatkan efisiensi konversi pakan dan menghasilkan produk ternak yang lebih berkualitas. Hal ini sangat penting mengingat meningkatnya permintaan protein hewani dalam budaya kita (Sari *et al.*, 2018).

Pakan dapat didefinisikan sebagai jenis makanan atau ransum yang diberikan kepada ternak untuk memenuhi kebutuhan gizinya. Pakan ini dirancang untuk memberikan nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan spesifik dari jenis ternak, termasuk sapi, ayam, kambing, domba, babi, dan lainnya. Tujuan utama pemberian pakan ternak adalah untuk mendukung pertumbuhan, produksi susu atau telur, dan kesehatan (Syaiful, 2017).

Pakan merupakan kunci dalam pemeliharaan dan produktivitas ternak, karena tidak hanya mempengaruhi kesehatan dan kesejahteraan ternak, tetapi juga produktivitas dan kualitas produk yang dihasilkan, seperti susu dan daging. Kualitas pakan meliputi kandungan serat, protein, dan mineral harus diperhatikan agar dapat memenuhi kebutuhan nutrisi spesifik setiap jenis ternak. Kecukupan nutrisi pada ternak adalah indikator penting dari keberhasilan dalam memenuhi kebutuhan nutrisi, yang dapat dilihat dari bobot tubuh dan tinggi badan ternak. Pengelolaan pakan yang baik, seperti penyimpanan yang tepat dan penyediaan yang tepat dapat membantu meminimalkan limbah dan memastikan ternak mendapatkan pakan yang optimal (Auliya *et al.*, 2021).

Keberlanjutan produksi ternak sangat erat kaitannya dengan kualitas pakan. Pakan dengan komposisi nutrisi yang seimbang dapat meningkatkan pertumbuhan ternak sekaligus mengurangi dampak buruk terhadap lingkungan. Pakan yang berkualitas dapat meminimalkan limbah dan emisi gas rumah kaca, yang menjadi perhatian global dalam industri peternakan saat ini (Yulianto dan Widyastuti, 2020).



ga berpengaruh pada kesehatan ternak dan keamanan pangan. iminasi dapat membahayakan kesehatan ternak dan berpotensi melalui produk yang dihasilkan. Oleh karena itu, memilih bahan dan berkualitas tinggi sangat penting dalam upaya menjamin in kualitas produk ternak yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan

bahwa memperhatikan kualitas pakan sangat penting untuk produktivitas dan kesehatan masyarakat secara umum (Prasetyowati *et al.*, 2021).

1.2.2 Pakan Lengkap (*Complete Feed*) Untuk Ruminansia

Pakan lengkap (*complete feed*) merupakan formulasi pakan yang dirancang khusus untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak ternak secara komprehensif. Pakan lengkap untuk ternak ruminansia biasanya terdiri dari kombinasi yang seimbang antara unsur-unsur pakan, seperti sumber protein, karbohidrat, vitamin, mineral, dan bahan tambahan lainnya. Pakan lengkap diperlukan untuk meningkatkan pertumbuhan, kesehatan, dan efisiensi pencernaan ternak ruminansia. Pakan lengkap yang diformulasikan dengan baik dapat meningkatkan pertumbuhan ternak dan meningkatkan produktivitas (Calsamiglia *et al.*, 2019).

Teknologi pakan lengkap adalah suatu metode pembuatan pakan dengan mencampurkan bahan pakan sumber serat dan sumber protein yang telah melalui proses perlakuan fisik dan suplementasi hingga homogen. Setelah itu dilakukan pengemasan dengan tujuan memberikan kemudahan dalam penyampaian dan lebih efektif dalam pemberian pada ternak. Implementasi pakan lengkap mampu memenuhi kebutuhan nutrisi ternak dan peningkatan efisiensi usaha ternak yang dapat ditunjukkan dengan adanya pertambahan bobot badan yang optimal. Pakan lengkap juga memberi beberapa keuntungan di antaranya meningkatkan palatabilitas pakan (Gustiani dan Permadi, 2015).

Pakan lengkap dirancang untuk memenuhi seluruh kebutuhan nutrisi ternak ruminansia dalam satu formula yang seimbang. Meningkatkan kualitasnya lebih baik, pakan lengkap sering kali diberi tambahan berupa suplemen pakan atau aditif pakan (*feed additive*) yang berperan penting dalam mendukung pertumbuhan dan kesehatan ternak. Aditif ini dapat berupa vitamin, mineral, probiotik, atau zat lain yang dirancang khusus untuk meningkatkan efisiensi pakan, memperbaiki pencernaan, dan mendorong performa produksi. *Feed additive* dalam pakan lengkap tidak hanya memenuhi kebutuhan dasar, tetapi juga membantu mengoptimalkan potensi produktivitas ternak, yang pada akhirnya meningkatkan efisiensi dan hasil usaha peternakan (Ayunita *et al.*, 2022).

1.2.3 Rumput Laut Sebagai Bahan Pakan Ternak

Rumput laut merupakan salah satu sumber bahan pakan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai suplemen alami yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan mutu bahan pakan lokal seperti hasil sampingan pertanian dan agroindustri. Berbagai penelitian terkait pemanfaatan rumput laut sebagai pakan ternak yang semakin diminati, baik secara utuh maupun dalam bentuk ekstrak (Samarasinghe *et al.*, 2021). Rumput laut juga ideal dimanfaatkan sebagai suplemen pakan karena kandungan metabolit (pigmen,



Optimized using
trial version
www.balesio.com

, asam lemak tak jenuh, agar, alginat, dan keregenan) dan mineral m, kalsium, mangan, besi, selenium) (Yong *et al.*, 2022).

at berfungsi sebagai sumber pakan berkelanjutan untuk produksi ai nutrisinya, dan potensi mitigasi metana enterik (CH₄) (Pandey *et al.*, 2022). Dari aspek nutrisi dan fermentasi, rumput laut juga Bermanfaat bagi penggunaannya sebagai pakan ternak. Dengan memanfaatkan yang tersedia, rumput laut dapat mengurangi dampak negatif dari

produksi pakan berbasis daratan, seperti deforestasi dan pencemaran. Ini sejalan dengan upaya global untuk mengembangkan sistem pangan yang lebih berkelanjutan dan ramah lingkungan (Wu *et al.* 2021). Rumput laut sebagai pakan ini berpotensi mengurangi emisi gas rumah kaca, khususnya metana, yang dihasilkan selama proses pencernaan. Penambahan rumput laut dalam pakan dapat mengurangi produksi metana, yang merupakan salah satu masalah utama dalam industri peternakan. Ini menjadikan rumput laut tidak hanya bermanfaat untuk kesehatan ternak tetapi juga sebagai strategi untuk mengurangi dampak lingkungan dari produksi ternak (Liu *et al.* 2021).

Gambar dari rumput laut *Gracilaria sp* dapat dilihat pada gambar berikut ini ,



Gambar. 1 Rumput Laut *Gracilaria sp.*

Klasifikasi Rumput Laut *Gracilaria sp.* menurut Anggadiredja *et al* (2006) yang diterima secara luas saat ini dapat dilihat sebagai berikut,

Divisi	: <i>Rhodophyta</i>
Klas	: <i>Rhodophyceae</i>
Sub Kelas	: <i>Florideophycidae</i>
Ordo	: <i>Gigartinales</i>
Famili	: <i>Gracilariaceae</i>
Genus	: <i>Gracilaria sp</i>

Gracilaria sp. merupakan salah satu jenis rumput laut yang memiliki potensi besar sebagai bahan pakan alternatif karena kandungan nutrisinya yang cukup lengkap. *Gracilaria sp* mengandung kadar air sebanyak 9,38%, Protein 6, 59%, karbohidrat 41,64%, lemak 0,68%, serat 8,92%, dan kadar abu sebesar 32,76%. Kandungan nutrisi dari *Gracilaria sp* tersebut menunjukkan bahwa *Gracilaria sp.* berpotensi sebagai bahan nutrisi dalam bidang peternakan maupun pangan (Sa'diyah dan



Optimized using
trial version
www.balesio.com

nelitian Bhernama (2020), yang mengkaji tentang kandungan rumput laut *Gracilaria sp.* Menemukan bahwa *Gracilaria sp.* 1 (+), Terpenoid (+), Flavonoid (+), dan Alkaloid(-).

usnya *Gracilaria sp.* memiliki keunggulan dalam komposisi pakan anyanya menyediakan nutrisi yang diperlukan, tetapi juga mengandung

senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan sistem imun ternak. Rumput laut ini kaya akan serat, protein, dan mineral yang semuanya penting bagi kesehatan ternak. *Gracilaria sp.* memiliki kandungan protein sebesar 20-25%, Rumput laut ini juga mengandung berbagai vitamin dan mineral yang baik untuk pertumbuhan ternak. Penggunaan rumput laut dalam pakan membantu mengurangi ketergantungan pada bahan pakan tradisional yang harganya semakin mahal (Nursyamsi *et al.*, 2020).

Penggunaan *Gracilaria sp.* sebagai salah satu komponen pakan ditemukan berdampak pada fermentasi *in vitro*, yang penting untuk memahami proses pencernaan dan efisiensi pakan. Hal ini menunjukkan bahwa rumput laut dapat meningkatkan pencernaan, yang meningkatkan efisiensi konversi pakan, selain bertindak sebagai sumber nutrisi. Penelitian mengenai pengaruh pemberian rumput laut dalam pakan ternak juga menunjukkan dampak positif terhadap produksi gas pencernaan (Prabowo dan Sari, 2020).

1.2.4 Metode *In Vitro* dan Pengukuran Produksi Gas

Metode *in vitro* adalah teknik yang digunakan dalam suatu percobaan fermentasi bahan pakan secara anaerob dalam tabung fermentor dan menggunakan larutan penyangga yang merupakan saliva buatan. Dalam konteks ruminansia, metode ini sering digunakan untuk menilai potensi pakan dalam mendukung fermentasi mikroba di dalam rumen. Metode *in vitro* memiliki beberapa keunggulan diantaranya waktu yang relatif singkat dan efisien, dapat mengurangi pengaruh yang disebabkan hewan induk semang dengan hasil yang memuaskan, sampel yang dibutuhkan hanya sedikit, sampel dalam jumlah besar dapat dikerjakan dalam waktu yang bersamaan (Dwi *et al.*, 2014).

Teknik *in vitro* merupakan salah satu metode yang efektif dalam mengevaluasi kualitas pakan, khususnya bagi ruminansia. Prinsip dan kondisinya dirancang agar menyerupai proses yang terjadi di dalam tubuh ternak, termasuk di bagian abomasum. Agar hasil yang diperoleh mirip dengan kondisi nyata, metode *in vitro* harus meniru sistem *in vivo*, sehingga nilai yang didapat tidak mengalami perbedaan yang signifikan. Pengukuran pencernaan *in vitro* dilakukan dengan menciptakan kondisi yang mirip dengan saluran pencernaan ternak di laboratorium. Kecemasan yang tinggi menunjukkan bahwa peluang nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh ternak juga semakin meningkat. Metode ini sangat penting dalam penelitian pakan, karena memungkinkan analisis yang lebih tepat mengenai potensi pakan dan efisiensi penggunaannya (Aprianto *et al.*, 2016).

Teknik produksi gas *in vitro* telah menjadi salah satu metode yang efektif dalam mengevaluasi laju dan tingkat pencernaan pakan ternak ruminansia. Studi untuk mengukur produksi gas yang spesifik (terutama karbon dioksida) di produksi sebagai partikel substrat yang di fermentasi oleh mikroorganisme rumen dalam media kultur buffer bikarbonat. Inovasi dalam desain peralatan, termasuk sistem pencatatan tekanan otomatis dan deskripsi matematis dari profil produksi gas itu sendiri, menjadikan teknik ini sederhana dan tepat. Teknik pengukuran gas bermanfaat dalam ilmu ketika produksi gas dan degradasi substrat sangat erat kaitannya. Hal ini untuk mengukur volume gas dan untuk menentukan kinetika dasar yang menimbulkan gas pada awalnya sangat kompleks dan sulit (Theodorou *et al.*, 2018).

Metode *in vitro* berdasarkan pengukuran volume atau tekanan, pada dasarnya digunakan untuk mengevaluasi laju dan tingkat fermentasi pakan ternak



ruminansia. Teknik tersebut dilakukan pada kondisi pH 6.5 sampai 6.8 yang mensimulasikan media dengan penyangga yang baik. Metode tersebut telah digunakan untuk penentuan nilai nutrisi pakan atau konsentrat, tanpa memperhitungkan kasus tersebut pH yang sesuai dan seringkali di bawah kisaran ini dan juga menciptakan kondisi yang tidak menguntungkan untuk fermentasi bakteri. Oleh sebab itu, menciptakan kondisi yang sesuai dengan kondisi rumen yang meliputi pH dan suasana yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri harus diperhatikan untuk keberhasilan pengujian secara *in vitro* (Amanzaugarene dan Fondevila, 2020).

Produksi gas secara *in vitro* merupakan metode yang efektif untuk mengevaluasi proses fermentasi pakan dalam sistem pencernaan ruminansia, memberikan informasi penting tentang potensi bahan pakan dan efisiensi pencernaan. Pengukuran volume gas yang dihasilkan selama fermentasi *in vitro*

dapat digunakan sebagai indikator untuk mengevaluasi kualitas pakan dan aktivitas mikroba rumen. Dengan pendekatan ini, dapat diidentifikasi dosis optimal rumput laut untuk meningkatkan efisiensi pakan dan mendukung keberlanjutan dalam produksi ternak (Wang *et al.* 2020).

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengevaluasi berbagai level *Gracilaria sp.* dalam pakan komplit terhadap produksi gas yang dihasilkan secara *In Vitro*.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Februari 2025. Kegiatan formulasi pakan lengkap dan analisa pakan secara *In Vitro* dilaksanakan di Laboratorium Kimia Pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Materi Penelitian

Alat yang digunakan pada pembuatan pakan komplit untuk ruminansia meliputi oven, baskom, blender, timbangan digital, mesin pencacah bahan pakan, dan wadah pakan. Beberapa peralatan yang digunakan dalam analisis *In vitro* meliputi termos rumen, kain kasa, erlenmeyer, pipa karet, kantong, timbangan analitik, desikator, *beaker glass*, spatula, *magnetic stirrer*/alat pengaduk, *water bath*, *shaker*, pH meter, tabung gas CO₂, wadah penampung, alat pengukur gas, rak tabung, dispenser larutan.

Bahan yang digunakan dalam pembuatan pakan lengkap berasal dari limbah pertanian dan agroindustri yaitu, dedak, ampas tahu, jerami padi, rumput gajah, bungkil sawit, jagung giling, mineral, dan rumput laut *Gracilaria sp.* Bahan yang digunakan untuk analisis secara *in vitro*, bahan yang digunakan yaitu cairan rumen, larutan Pepsin- HCl 0,2%, larutan Mc.Dougall's, gas CO₂ dan aquades.

2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4x3 terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan yang melibatkan rumput laut jenis *Gracilaria sp.* dengan 4 level pemberian sebagai berikut:

- P0 : Pakan Lengkap + *Gracilaria Sp.* (0%)
- P1 : Pakan Lengkap + *Gracilaria Sp.* (2,5%)
- P2 : Pakan Lengkap + *Gracilaria Sp.* (5%)
- P3 : Pakan Lengkap + *Gracilaria Sp.* (7,5%)

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1. Penyiapan Sampel Rumput Laut dan Formulasi Pakan Lengkap

Sampel rumput laut jenis *Gracilaria sp.* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Desa Mattiro Tasi, Kecamatan Maros Baru, Kabupaten Maros, kemudian dibersihkan menggunakan air tawar dengan perbandingan 1 kg rumput laut , 10 liter air sesuai metode pencucian Kusuma *et al.* (2013). Pencucian dilakukan selama 10 menit sambil diaduk dan digosok pelan, kemudian dilakukan penirisan selama sekitar 5 menit. Proses pencucian tersebut diulang sebanyak lima kali untuk memastikan pembersihan dari kotoran dan garam berlebih. Setelah pencucian, sampel rumput laut ditiriskan, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60–65°C hingga mencapai kadar air yang ig, rumput laut digiling halus sampai ukuran sekitar 1 mm.



yang digunakan adalah jerami padi, dedak halus, jagung giling, mineral, dan bahan lain yang digunakan dalam formulasi pakan an dengan cara yang sama, yaitu dikeringkan dan digiling hingga han. Sebelum dicampur, semua bahan pakan tersebut disusun ah ditentukan untuk masing-masing perlakuan, seperti yang terlihat

pada Tabel 1 dan Tabel 2. Setelah semua bahan pakan disiapkan dan ditimbang sesuai komposisi, langkah berikutnya adalah mencampur bahan secara merata hingga mencapai homogenitas yang diinginkan, memastikan setiap komponen tercampur dengan baik. Setelah proses pencampuran selesai, pakan yang telah dicampur dapat dikemas dan disimpan dalam wadah yang bersih dan kering. Untuk menjaga kualitas pakan, simpan ditempat yang sejuk dan kering agar terhindar dari kerusakan serta kontaminasi yang bisa memengaruhi nilai nutrisi dan keamanan pakan tersebut. Komposisi kimia bahan dan formulasi ransum dalam pakan yang digunakan selama penelitian dapat dilihat pada tabel 1 dan 2 berikut ,

Tabel 1. Komposisi kimia dari bahan pakan

Bahan Pakan	ABU	Protein Kasar	Lemak Kasar	Serat Kasar	BETN	TDN
Jerami Padi ¹	19,75	4,2	1,05	33,91	41,09	51,05
Dedak Halus ²	8,86	13,43	14,39	11,4	51,92	67,9
Jagung Giling ³	16,3	8,9	4	2,2	68,6	68
Rumput Gajah ⁴	11,7	10,2	1,6	34,2	42,3	64,31
Bungkil Kelapa Sawit ⁵	4	16,8	11,9	22,9	44,4	78
Mineral	92	0	0	0	0	0
Ampas Tahu ⁶	2,37	21	10,49	23,58	42,56	77
Rumput Laut ⁷	6,18	14,93	0,28	7,67	70,95	50

Sumber, ¹Kamso *et al*, 2023. ²Koni *et al*, 2022. ³Lapui *et al*, 2021. ⁴Seseray *et al*, 2012. ⁵Mirawati *et al*, 2022. ⁶Tarmidi, 2010. ⁷Natsir *et al* 2025.

Tabel 2. Komposisi Bahan dan Nutrisi Ransum Pakan

	Persentase dalam pakan (0%)	Persentase dalam pakan (2,5%)	Persentase dalam pakan (5%)	Persentase dalam pakan (7,5%)
Komposisi Bahan				
Jerami Padi	15	12,5	10	7,5
Dedak Halus	20	20	20	20
Jagung Giling	10	10	10	10
Rumput Gajah	20	20	20	20
Bungkil Kelapa Sawit	25	25	25	25
Mineral	1	1	1	1
Ampas Tahu	9	9	9	9
Rumput Laut	0	2,5	5	7,5
Komposisi Nutrisi				
Protein Kasar	12,34	12,60	12,87	13,14
Serat Kasar	22,27	21,61	20,96	20,30
	7,68	7,65	7,63	7,61
	9,92	9,57	9,23	8,90
	22,27	21,61	43,41	44,29
	67,33	67,30	67,27	67,25



2.4.2. Prosedur *In Vitro*

Pada tahap persiapan sampel, semua bahan pakan yang akan diuji harus dipastikan bersih dan bebas dari kontaminasi. Pertama-tama sampel bahan pakan dikeringkan untuk menghilangkan kelembapan yang dapat mempengaruhi hasil dari percobaan. Pengeringan dilakukan di dalam oven dengan suhu sekitar 60-65°C. Setelah kering, sampel kemudian di giling menjadi ukuran yang lebih kecil dan seragam, biasanya sekitar 1 mm. Partikel yang seragam membantu memastikan semua bagian sampel bisa berinteraksi secara merata dengan mikroba rumen selama proses fermentasi.

Analisis *in vitro* mengikuti prosedur Menke dan Steingass (1988). langkah awal menyiapkan cairan rumen, kemudian cairan rumen yang diambil difiltrasi melalui beberapa lapis kain kasa untuk menghilangkan partikel besar. Dimana cairan ini mengandung mikroorganisme yang akan melakukan fermentasi pada sampel pakan. Cairan rumen dicampur medium buffer yang mengandung zat-zat seperti fosfat, karbonat, dan nitrogen untuk mempertahankan pH dan memberikan nutrisi tambahan bagi mikroba rumen selama fermentasi. Kemudian sampel pakan yang sudah dipersiapkan ditempatkan ke dalam tabung fermentasi, sekitar 200 mg per tabung. Tabung fermentasi yang digunakan dilengkapi alat pengukur volume gas yang terhubung ke tabung atau kantong pengumpul gas. Cairan rumen dan buffer yang telah dicampur ditambahkan ke tabung berisi sampel, dengan perbandingan sekitar 30-40 ml cairan rumen per tabung. Setelah dicampur, tabung fermentasi dikocok untuk memastikan cairan rumen dan sampel pakan tercampur merata. Untuk proses fermentasi, inkubasi campuran dilakukan dalam keadaan anaerob pada suhu 39°C. Pengamatan produksi gas dilakukan pada 2,4,6,8,10,12,24,48,72 dan 96 jam dengan mencatat volume gas yang terbentuk selama proses fermentasi.

2.5 Parameter Pengamatan

Adapun parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu produksi gas. Produksi gas sangat penting untuk diamati karena memberikan wawasan mendalam tentang efisiensi pencernaan dan kualitas bahan pakan. Produksi gas diukur pada periode frekuensi, 2,4,6,8,10,12,24,48,72,96 jam.

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis ragam menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan dengan model matematika adalah sebagai berikut.

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

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke i dan ulangan ke- j

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke- i

ε_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

i = Perlakuan ke (1,2,3,4)

j = (1,2,3)



oleh dianalisis dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji menggunakan paket software IBM *Statistical Package for the Social for windows*.