

## **V. METODE PENELITIAN**

### **4.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2019 – Mei 2020 di Laboratorium Budidaya Perairan, Sekolah Tinggi Pertanian Kutai Timur dan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman, Samarinda.

### **4.2 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Faktor yang diuji adalah pengaruh dosis yang berbeda terhadap kandungan gizi pada pakan ikan komersil pada pakan. dosis probiotik yang diberikan 5-15 gr/ kg pakan terdiri atas 4 dosis yang berbeda. Unit percobaan adalah toples. Dosis yang diuji sebagai berikut :

1. Tanpa menggunakan probiotik (Perlakuan A)
2. Probiotik dengan dosis 5 gr/ kg pakan (Perlakuan B)
3. Probiotik dengan dosis 10 gr/ kg pakan (Perlakuan C)
4. Probiotik dengan dosis 15 gr/ kg pakan (Perlakuan D)

### 4.3 Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Alat yang digunakan untuk penelitian

No	Nama alat	Fungsi
1.	Botol	Sebagai wadah pakan yang akan diteliti
2.	Tissue	Untuk membersihkan alat
3.	Kamera	Untuk dokumentasi
4.	Timbangan	Untuk menimbang pakan
5.	Saringan	Untuk mereaksikan larutan
6.	Blender	Untuk menghaluskan pakan
7.	Baskom	Wadah untuk mencampur pakan dan probiotik
8.	Gelas ukur 25 ml	Sebagai tempat penimbangan zat dan tempat larutan
9.	Oven	Untuk pemanasan, pemanggangan atau pengeringan suatu bahan
10.	Cawan	Wadah atau tempat penguapan bahan dari bahan yang tidak mudah menguap
11.	Penjepit	Untuk memindahkan atau memegang krusible saat pemanasan berlangsung.
12.	Kompur	Untuk memasak yang menggunakan tenaga dari cairan gas didalam tabung
13.	Arang	Untuk menyeimbangkan kadar keasaman
14.	Erlenmayer	Untuk mengukur serta mencampur bahan – bahan analisa atau melakukan titrasi bahan

15.	Labu soxhlet	Untuk mengekstrak suatu bahan dengan pelarutan yang berulang ulang dengan pelarut yang sesuai.
16.	Pipet	Untuk membantu memindahkan cairan dari wadah yang satu ke wadah yang lain dalam jumlah yang sangat kecil yaitu setetes demi tetes.
17.	Desikator	Menghilangkan air dan Kristal hasil pemurnian
18.	Muffle furnace	Menentukan beberapa proporsi sampel yang mudah terbakar
19.	Corong	Untuk Menyaring suatu zat

**Tabel 2. Bahan yang digunakan untuk penelitian**

No	Nama Bahan	Fungsi
1.	Probiotik Lacto – Bact	Bahan penelitaian
2.	Pakan Komersial Piu	Pencampuran pakan ke probiotik
3.	Air Mineral (Aqua)	Pencampuran probiotik
4.	Asam Sulfat	Untuk membuat asam klorida

#### **4.4 Prosedur Penelitian**

Prosedur Penelitian dilakukan dengan 2 tahapan yaitu tahap persiapan yang terdiri dari proses pembuatan pakan probiotik dan tahap pelaksanaan penelitian yang terbagi menjadi penelitian pendahuluan yaitu pengujian pakan di Laboratorium Konsentrasi Budidaya Perairan sebelum dikirim ke Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman dan Penelitian lanjutan. Proses pemberian probiotik dilakukan dengan mencampurkan probiotik tersebut pada pakan komersial dengan cara campurkan probiotik dan pakan komersial yang telah dihaluskan dan difermentasi selama 36 jam kemudian dikirimkan ke laboratorium.

##### **4.4.1 Penelitian Pendahuluan**

Penelitian pendahuluan yaitu pengujian pakan di Laboratorium Budidaya Perairan, Sekolah Tinggi Pertanian Kutai Timur sebelum di kirim ke Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman dengan cara:

- a. Pertama tama masuk lab dengan mencuci tangan terlebih dahulu dan memakai Sarung tangan.
- b. Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan seperti wadah berupa botol, Pakan Piu, gelas ukur, Air Mineral (aqua), timbangan, probiotik dan belender.
- c. Menghaluskan pakan dengan menggunakan belender
- d. Sebanyak 1 kg pakan kemudian masukkan ke dalam wadah yang berbeda beda
- e. Campurkan 250 ml Air Mineral (aqua) dan campurkan probiotik dengan dosis 5-15 gr probiotik / kg pakan.
- f. Setelah itu masukkan campuran Air Mineral (aqua) dan probiotik ke dalam wadah yang berisi pakan 1 kg dan aduk sampai rata
- g. Setelah itu tutup rapat dan amati berapa lama jamur akan tumbuh pada pakan.
- h. Bolak balik pakan yang sudah di campurkan probiotik tunggu sampai pakan tersebut tercium bau tapai.

#### **4.4.2 Pelaksanaan penelitian**

- a. Timbang 1 kg pakan uji dengan menggunakan timbangan digital
- b. Siapkan wadah fermentasi pakan uji sebanyak 4 buah botol

- c. Tambahkan masing-masing probiotik yang akan digunakan kedalam wadah yang telah di siapkan, sesuaikan dengan dosis yang telah di tentukan yaitu 5-15 gr probiotik / kg pakan.
- d. Tambahkan Air mineral (Aqua) 250 ml dan campurkan probiotik dengan dosis 5-15 gr probiotik / kg pakan campur sampai merata ke pakan.
- e. Tutup rapat toples dan di biarkan dalam 36 jam
- f. Bahan uji yang telah difermentasi kemudian dilakukan uji kandungan nutrisi (Protein, kadar abu, lemak, dan kadar air) dan di uji di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman.

#### **4.4.3 Perhitungan Pakan**

##### **A. Analisis Kadar Air**

1. Menyalakan Oven, setting suhu 105°C. Pastikan suhu 105°C.
2. Siapkan cawan kosong yang sudah ada kode (biasanya kode ada dibagian bawah cawan), masukan dalam oven suhu 105°C selama 1 jam.
3. Masukan cawan dalam desikator dengan penjepit untuk pendingin selama 10-15 Menit.
4. Timbang cawan kering yang sudah didinginkan menggunakan penjepit, catat Sebagai berat cawan (a).
5. Timbang 1-3 gr sampel masukkan pada cawan tersebut (tidak perlu persisi, yang Penting tercatat !), catat sebagai berat sampel (a1).
6. Jumlahkan berat cawan kosong dan berat sampel (b)
7. Keringkan pada oven pada suhu 105°C selama 6 jam atau lebih

8. Pindahkan cawan + sampel basah/kering dalam desikator menggunakan penjepit, diamkan selama 15 menit.
9. Timbang dan catat beratnya (c).
10. Ulangi prosedur analisis sebanyak 3 kali sampel diperoleh berat konstan ( $\leq 0,02$  gram) timbang dan catat beratnya

Perhitungan :

$$\text{Kadar air (\% bb)} = \frac{b-c}{b-a} \times 100$$

a = berat cawan kosong

b = berat cawan kosong + sampel

c = berat cawan + sampel yang sudah dioven selama 6 jam (berat akhir)

## **B. Analisisi Kadar Abu**

1. Jika cawan porselin masih banyak menempel kertas label dan tidak bisa dibersihkan, maka masukkan dalam muffle furnace, panaskan pada suhu  $550^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam.
2. Pindahkan dalam oven bersuhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, dan pindahkan lagi dalam desikator selama 5 menit. Memindahkan cawan harus dengan penjepit !
3. Timbangan cawan porselin tersebut dan catat beratnya (a)
4. Timbang 2-3 gram sampel didalam cawan tersebut dan catat beratnya (b)

5. Arangkan dulu sampel diatas kompor sampai asapnya tidak terbentuk lagi
6. Masukkan dalam muffle furnace dan panaskan pada suhu 550°C (pemanasan bertahap dari 250°C - 550°C) sampai pengabuan sempurna (sekitar 3-5 jam). Pengabuan sempurna ditandai sampel dalam cawan berupa bubuk berwarna putih, bila belum berwarna putih keabuan, lakukan pengabuan kembali selama 2 jam
7. Ingat ! Muffle furnace boleh dibuka bila sudah dingin/hangat, karena sangat berbahaya (biarkan semalam untuk mendinginkannya) !
8. Setelah proses pengabuan selesai, masukkan cawan berisi sampel dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit, kemudian masukkan dalam desikator selama 15 menit.
9. Timbang sampai diperoleh berat konstan seperti analisis kadar air pada poin 8-9, sampai diperoleh berat konstan dan catat (c).

$$\text{Kadar abu (\% bb)} = \frac{c-a}{b-a} \times 100$$

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel

c = berat cawan + sampel yang sudah dilakukan proses analisis (berat akhir)

### **C. Analisis Kadar lemak**

1. Siapkan labu soxhlet yang telah bersih dan beri label.
2. Masukkan dalam oven suhu 105°C selama 15 menit.

3. Masukkan labu soxhlet dalam desikator untuk pendinginan selama 10-15 menit
4. Timbang labu soxhlet dan catat sebagai a.
5. Siapkan kertas saring yang telah kering oven (gunakan kertas saring bebas lemak).
6. Buatlah selongsong penyaring (thimble) yang dibuat dari kertas saring. Ukurannya sesuaikan dengan ekstraktor soxhlet.
7. Tutup salah satu ujungnya (gunakan lem bebas lemak/larut air) dan tambahkan kapas untuk menyumbat ujungnya.
8. Masukkan sampel sekitar 1-5 gram dalam selongsong dan catat berat sampel yang ditimbang sebagai b.
9. Sumbat ujung thimble yang telah diisi sampel dengan kapas kemudian tutup ujungnya (gunakan lem bebas lemak/larut air)
10. Masukkan thimble yang telah berisi sampel ke dalam ekstraktor soxhlet.
11. Susun alat soxhlet dengan hati-hati yang terdiri dari 3 rangkaian (mulai dari bawah ke atas) yaitu labu, ekstraktor dan kondensor.
12. Masukkan pelarut heksan sebanyak 25-50 ml melalui saluran pipa atas kondensor menggunakan pipet.
13. Lakukan ekstraksi dengan menyalakan penangas air (waterbath) pada suhu 90°C dan alirkan air pada bagian kondensornya.
14. Ekstraksi dilakukan selama lebih kurang 6 jam.
15. Lepaskan labu soxhlet dan uapkan lebih dulu pelarut heksan di atas waterbath sampai benar-benar hilang.
16. Masukkan labu soxhlet dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit.

17. Pindahkan dalam desikator, diamkan selama 15 menit .
18. Timbang dan catat beratnya sebagai c. ulangi poin 16-18 sampai diperoleh berat konstan.

#### **D. Analisis Kadar N Total atau Protein Kasar**

##### **A. Tahap Destruksi (digestion)**

1. Timbang sampel sekitar 1 gram menggunakan kertas saring (catat berat Sampel = W), masukkan dalam labu kjeldahl.
2. Tambahkan 10-15 ml asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat dan seujung spatula Katalisator (Semix).
3. Didihkan diatas kompor selama 1,5 jam sampai cairan benar-benar terlihat jernih
4. Bila masih ada noda hitam atau bercak hitam didalam atau diatas permukaan Cairan atau didinding labu kjeldahl, sebaiknya dibilas dengan aquades Sampai bercak hitam tidak melekat didinding labu kjeldahl. Panaskan kembali sampai cairan terlihat jernih kuning kehijauan.
5. Lakukan pekerjaan ini sebanyak dua kali (duplo) untuk masing-masing sampel.

##### **B. Tahap Destilasi**

1. Masukkan cairan jernih hasil destruksi kedalam alat destilasi (corong pisah, kran ditutup dulu), dan bilas dinding labu 1-3 kali dengan 1-3 ml air aquades.
2. Tambahkan indicator, dan cairan akan berubah merah muda, buka kran untuk memindahkan cairan hasil destruksi kedalam labu destilasi.
3. Masukkan 8-10 ml Naoh 50% N +  $Na_2S_2O_3$ , dan bilas dinding corong dengan aquades Secukupnya.

4. Letakkan erlenmayer (yang berisi 5 ml larutan asam borat 4% dan diteteaskan 2-4 indikator) dibawah kondesor. Ujung kondesor harus terendam dibawah larutan asam borat !
5. Lakukan destilasi sehingga diperoleh destilasi bewarna biru sebanyak 20-30 ml dalam erlenmayer.

### C. Tahap Titration

1. Titration dengan HCl 0,02 N sampai terjadi tepat perubahan warna destilat dari biru menjadi merah muda.
2. Catat volume HCl 0,02 N yang digunakan untuk titration

Perhitungan :

$$\% N = \frac{(ml\ HCl\ sampel - ml\ HCl\ blanko) \times N\ HCl \times 14,007}{g\ sampel \times 1000} \times 100$$

$$\text{Kadar protein (\% bb)} = \% N \times 6,25$$

$$\text{Kadar Protein (\% bk)} = \frac{\text{kadar protein}}{(100 - \text{kadar air})} \times 10$$

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Kadar Air

Hasil pengukuran kandungan kadar air pada pakan sampel yang dilaksanakan pada bulan Desember 2019 – Mei 2020 di laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman