

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mulai dilakukan pada bulan awal Februari 2023 di Lembang, Jawa Barat. Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini antara lain, tahap ekstraksi daun mimba, tahap aplikasi, pengamatan pertumbuhan dan hasil panen, serta tahap karakterisasi ekstrak daun mimba. Lokasi pada tahapan aplikasi dan pengamatan pertumbuhan dilakukan di perkebunan brokoli di daerah Lembang, Jawa Barat. Tahap karakterisasi ekstrak daun mimba dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen Universitas Pendidikan Indonesia

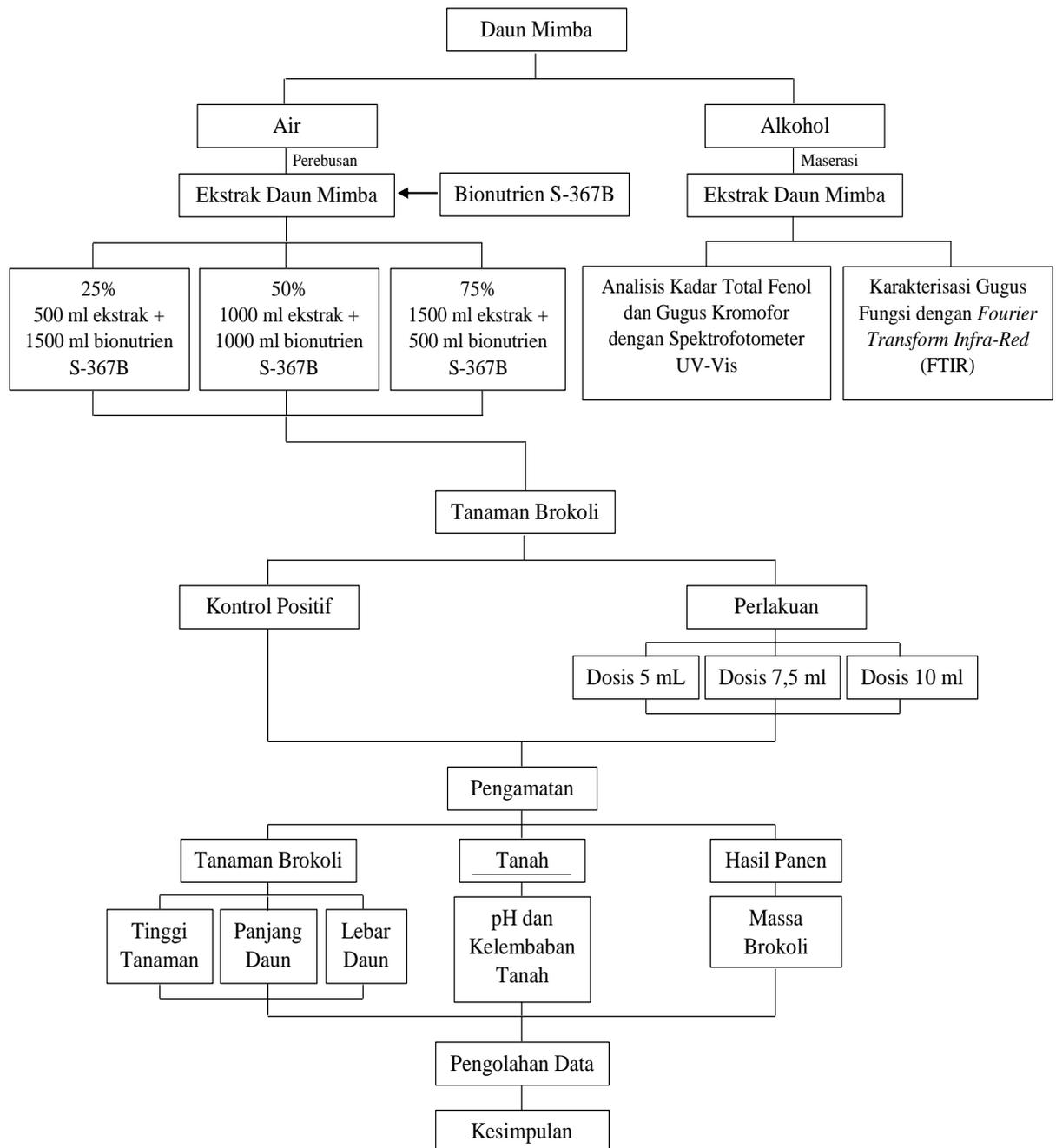
3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: alat semprot, neraca analitik, gunting, gelas kimia (100 ml dan 250 ml), labu ukur (25 ml, 50 ml, dan 100 ml), pipet tetes, tabung reaksi, mikropipet, botol semprot, kertas saring, *plastic wrap*, spatula, blender, batang pengaduk, set alat evaporasi, set alat filtrasi vakum (*rotary vacuum evaporator*), pH meter tanah, kain muslin, wadah plastik, corong kaca, selotip tidak berwarna, tisu, instrumentasi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), dan instrumentasi UV-Vis Shimadzu UV Mini 1240.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: daun mimba, aquades, etanol 96%, pelarut Folin-Ciocalteu, natrium karbonat (Na_2CO_3), asam galat, dan bionutrien S-367B.



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian.

3.3 Bagan Alir dan Tahapan Penelitian

Tahap-tahap penelitian antara lain, tahap ekstraksi, tahap aplikasi, pengamatan pertumbuhan, dan tahap karakterisasi ekstrak daun mimba. Tahap ekstraksi menggunakan pelarut air untuk pengaplikasian pada tanaman brokoli dan pelarut etanol untuk karakterisasi daun mimba. Pada tahap aplikasi digunakan campuran ekstrak daun mimba + bionutrien S-

367B dan kontrol positif. Tahap pengamatan tanaman brokoli dilakukan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman, panjang daun, lebar daun, massa hasil panen tanaman brokoli, pH tanah, kelembaban tanah, dan ketinggian area perkebunan. Pada tahap karakterisasi ekstrak daun mimba meliputi analisis kadar total fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan analisis gugus kromofor dengan spektrofotometer UV-Vis, serta analisis gugus fungsi dengan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*).

3.3.1 Metode Ekstraksi

1) Perebusan

Metode ini merujuk pada penelitian Novitasari, N. dan Jubaidah, S (2018) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 2000 gram daun mimba direbus dengan aquades sebanyak 4 L selama kurang lebih 15-25 menit. Cairan terkestrak yang diperoleh kemudian disaring dalam keadaan panas menggunakan kain muslin untuk dipisahkan dari ampas dan ditampung.

2) Maserasi

Metode yang digunakan yaitu maserasi. Sebanyak 1000 gram serbuk daun mimba direndam dengan dua liter pelarut etanol 96% selama 1 x 24 jam. Dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C dan diuapkan di atas waterbath hingga diperoleh ekstrak kental (Weli A. M. *et al.*, 2018).

3.3.2 Penomoran Sampel Tanaman Brokoli yang Digunakan dalam Penelitian

Pada penelitian ini, tanaman brokoli dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan (ekstrak daun mimba + bionutrien S-367B) dan kontrol positif. Tanaman brokoli dihitung seluruhnya pada baris kesatu hingga baris kesembilan untuk pengamatan tanaman kelompok perlakuan dan baris kesepuluh untuk pengamatan kelompok kontrol positif. Tidak semua tanaman brokoli dilakukan pengamatan untuk data penelitian, hanya dipilih satu

Keterangan:

	Tanaman Pembatas
	Kelompok tanaman perlakuan
	kelompok tanaman kontrol positif
	Tanaman brokoli yang diamati
	Tanah <i>baseline</i> pengamatan pH dan kelembaban

3.3.3 Aplikasi dan Pengamatan

Pada tahap aplikasi, tanaman brokoli pada kelompok perlakuan diberikan campuran ekstrak daun mimba dan bionutrien S-367B dengan dosis 5 ml; 7,5 ml; dan 10 ml dalam 1000 ml air dengan cara disemprotkan pada daun setiap seminggu sekali di pagi hari. Setiap dosis memiliki persentase kadar yang berbeda antara campuran ekstrak daun mimba dan bionutrien S-367B, yaitu:

- 1) Campuran ekstrak daun mimba dan bionutrien S-367B 25% (500 ml ekstrak daun mimba + 1500 ml bionutrien S-367B).
- 2) Campuran ekstrak daun mimba dan bionutrien S-367B 50% (1000 ml ekstrak daun mimba + 1000 ml bionutrien S-367B).
- 3) Campuran ekstrak daun mimba dan bionutrien S-367B 75% (1500 ml ekstrak daun mimba + 500 ml bionutrien S-367B).

Pada tanaman kelompok kontrol positif dilakukan penyemprotan dengan campuran fungisida, insektisida, dan pupuk daun setiap seminggu sekali. Adapun pengamatan yang dilakukan yaitu sebagai berikut.

3.3.3.1 Tinggi Tanaman, Panjang Daun, dan Lebar Daun

Tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun diamati pertumbuhannya setiap minggu selama masa proses pengamatan. Pengukuran tanaman brokoli menggunakan alat penggaris dengan mengamati pertambahan ukurannya dari minggu ke minggu lainnya hingga tanaman brokoli membentuk bunga brokoli berwarna hijau di bagian tengah. Pengukuran tinggi tanaman diukur dari dasar tanaman sampai

ujung daun, pengukuran panjang daun diukur seluruh panjang daunnya hingga ujung daun, dan pengukuran lebar diukur secara melebar. Setelah terbentuk bunga brokoli maka pengamatan tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun dihentikan.

3.3.3.2 Massa Hasil Panen Brokoli

Pengukuran massa hasil panen brokoli dilakukan setelah proses panen brokoli selesai. Brokoli langsung dilakukan pengukuran dengan alat timbangan 4 digit agar brokoli masih dalam keadaan yang baik dan segar, serta tidak terjadi kehilangan massa.

3.3.3.3 pH dan Kelembaban Tanah

pH dan kelembaban tanah diukur setiap seminggu sekali selama masa pengamatan. Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan di daerah *baseline*, tanah dengan perlakuan dan tanah dengan kontrol positif. Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan pada tanah bagian tumbuhan yang diamati. Alat yang digunakan untuk mengukur pH dan kelembaban adalah pH meter dengan merek ETP306 3in1 soil pH meter.

3.3.3.4 Ketinggian Area Perkebunan

Ketinggian area perkebunan yaitu 1294 mdpl yang diukur menggunakan aplikasi altimeter yang diunduh dari aplikasi playstore.

3.3.4 Uji Kadar Total Fenol dengan Metode Folin-Ciocalteu dan Uji Kromofor Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Penentuan kadar total fenol dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan total fenol dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*), yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam 1 gram sampel (Gheldof, N. & Engeseth, N. J., 2002). Prinsip dari

metode ini yaitu terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru akibat reaksi antara senyawa fenolik pada sampel dengan reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa, lalu diukur dengan spektrofotometer UV-Vis, dan disetarakan dengan asam galat (Orak, H. H., 2007).

Kadar total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier dari asam galat, $y = ax + b$. Tahapan pengujian kadar total fenol yaitu dengan menyiapkan larutan standar asam galat pada konsentrasi 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm, dan sampel disiapkan pada 600 ppm. Sebanyak 0,5 ml standar/sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu 10% dan diamkan selama 4-8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4,0 ml Na_2CO_3 7% dan 10 ml air suling ke dalam tabung reaksi, dan dihomogenkan. Diinkubasi selama 2 jam, lalu diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 759 nm (Primadiastri, I. Z. dkk., 2021). Dalam melakukan uji kromofor, ekstrak daun mimba dilarutkan dengan pelarut etanol 96% dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.5 Karakterisasi Gugus Fungsi dengan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Karakterisasi gugus fungsi ekstrak daun mimba menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung pada ekstrak daun mimba. Tahapan pengujian dilakukan dengan memadatkan ekstrak daun mimba menjadi palet KBr dengan perbandingan 1 mg ekstrak daun mimba dan 200 mg KBr. Setelah itu palet disimpan dalam wadah palet dan dimasukkan ke dalam instrumentasi FTIR untuk dilakukan analisis hingga dihasilkan spektra FTIR ekstrak daun mimba.