

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimen. Penelitian ini termasuk eksperimen karena telah dilakukan manipulasi terhadap objek penelitian dan terdapat kontrol dalam perlakuannya (Nazir, 2003:63).

#### **B. Desain Penelitian**

Desain penelitian yang dipakai dalam percobaan ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), karena setiap sampel yang digunakan mendapatkan perlakuan yang sama dan biasanya dilakukan di rumah kaca (Nazir, 2003:250). Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan yaitu 5 konsentrasi kromium yang terdiri dari 26,4 ppm; 40 ppm; 80 ppm; 120 ppm; 160 ppm (Jamal *et al.*, 2006:54) dan sebagai kontrol adalah tanaman kacang hijau yang disiram menggunakan air tanah. Masing-masing perlakuan menggunakan 3 kali pengulangan.

Penempatan plot perlakuan ditentukan dengan cara randomisasi menggunakan Tabel Angka Random (Nazir, 2003:236). Penempatan plot perlakuan ini sama untuk ketiga varietas yang diteliti. Desain plot untuk penelitian adalah sebagai berikut :

<b>A3</b>	<b>D2</b>	<b>C1</b>	<b>B5</b>	<b>E4</b>	<b>K3</b>
<b>E1</b>	<b>B3</b>	<b>K4</b>	<b>D5</b>	<b>A2</b>	<b>C4</b>
<b>K1</b>	<b>D1</b>	<b>A1</b>	<b>E5</b>	<b>C3</b>	<b>B4</b>
<b>E3</b>	<b>C5</b>	<b>B2</b>	<b>K2</b>	<b>D4</b>	<b>A5</b>
<b>C2</b>	<b>A4</b>	<b>K5</b>	<b>E2</b>	<b>B1</b>	<b>D3</b>

Keterangan :

K = tanaman kontrol

A, B, C, D, dan E = tanaman yang diberi perlakuan kromium

### **C. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman kacang hijau varietas Walet, Kenari, dan Bhakti dari Balai Besar Biogen Bogor yang ditanam selama 30 hari perlakuan, sedangkan yang menjadi sampel dalam penelitian ini tanaman kacang hijau varietas Walet, Kenari, dan Bhakti yang dianalisis kandungan kromiumnya.

### **D. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penanaman dilakukan di rumah kaca, pengukuran parameter dan preparasi sampel untuk analisis logam Cr dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Laboratorium Ekologi Jurusan Pendidikan Biologi dan Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI. Analisis logam Cr dalam daun dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung. Waktu penelitian ini dimulai dari bulan Maret-Juni 2010 dengan rata-rata suhu minimum 20,01-21,98°C, suhu maksimum 40,01-41,96°C, kelembaban udara 84,9-88,29%, dan pH tanah 6-6,8.

## E. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Peralatan yang digunakan (Tabel 3.1) dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1. Alat yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Alat	Jumlah	Spesifikasi
1.	<i>Polybag</i>	120 buah	Ukuran 10x10x15 cm
2.	Sekop	1 buah	
3.	Penggaris	1 buah	Ukuran 30 cm
4.	Kertas label	1 pak	Ukuran 16x22 mm
5.	<i>Soil tester</i>	1 buah	Demetra system soil tester
6.	Termometer	1 buah	Air raksa
7.	<i>Hygrometer</i>	1 buah	Kenko Hygrometer
8.	Gelas ukur	3 buah	Pyrex
9.	Jerigen 2 L	5 buah	
10.	Botol gelap	5 buah	
11.	AAS	1 set	Perkin Elmer Analyst 100
12.	Oven	1 set	Memmer Oven
13.	<i>Furnace</i>	1 set	Thermolyne 4800
14.	<i>Crussible</i>	19 buah	
15.	Penjepit <i>Crussible</i>	1 buah	
16.	<i>Hot Plate</i>	1 set	Thermolyne heater
17.	Lemari Asam	1 set	Shimadzu Draft Chamber CB1
18.	Sarung tangan	2 pasang	
19.	Timbangan analitik	1 set	HF-100
20.	Pipet	3 buah	
21.	<i>Bekker glass</i>	37 buah	Pyrex
22.	Gelas arloji	5 buah	
23.	Termometer max-min	1 set	SK SATO
24.	Kertas saring	1 gulung	Whatman No. 42
25.	Corong kaca	5 buah	
26.	Spatula	1 buah	
27.	Batang pengaduk	6 buah	
28.	Botol film	140 buah	

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini disebutkan dalam Tabel

3.2 sebagai berikut :

Tabel 3.2. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Nama Bahan	Jumlah
1.	Biji kacang hijau varietas walet	250 gram
2.	Biji kacang hijau varietas kenari	250 gram
3.	Biji kacang hijau varietas bhakti	250 gram
4.	Tanah lembang	18 karung (1 karung= 6 kg)
5.	Pupuk kandang	5 karung (1 karung= 5 kg)
6.	Air tanah	135 liter
7.	Potasium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ )	100 gram
8.	Aquades	3 liter
9.	$CaClO_2$ (Kalsium hipoklorit)	1 ml
10.	$HNO_3$ (Asam nitrat) pekat 65%	2 L

## F. LANGKAH KERJA

### 1. Tahap persiapan

#### a. Perkecambahan

Kegiatan pada tahap ini adalah menyiapkan semua alat dan bahan yang digunakan seperti penyediaan biji kacang hijau dari Balai Besar Biogen Bogor, tanah, dan pupuk di Lembang. Selanjutnya membuat medium tanam dari tanah dan pupuk dengan perbandingan 9:1 (Kusdianti, 1996:15). Biji kacang hijau dipilih dengan cermat untuk memperoleh kualitas dan berat yang sama yaitu berkisar antara 0,060-0,080 g. Biji kacang hijau diaktifkan dari masa dorman dengan cara direndam dengan akuades selama 1 jam dan merendam kembali

dengan kalsium hipoklorit 0,3% (Azmat dan Khanum, 2005:281) sebagai desinfektan selama 5 menit. Setelah proses tersebut biji disemai dengan meletakkan satu biji ke dalam kantung plastik ukuran kecil yang berisi tanah.

#### **b. Pembuatan larutan kromium untuk penyiraman**

Larutan kromium dalam potassium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) disiramkan pada media tanam kacang hijau (*Vigna radiata*) varietas Walet, Kenari, dan Bhakti. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi kromium 26,4 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, dan 160 ppm. Untuk mendapatkan konsentrasi krom yang diinginkan, maka digunakan potassium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) yang dapat diperoleh dari perhitungan sebagai berikut ( dengan mengkonversikan ppm ke mg/L) :

Konsentrasi  $K_2Cr_2O_7$  (mg/L) :

$$= \frac{Mr (K_2Cr_2O_7) \times \text{konsentrasi kromium yang diinginkan}}{Ar Cr}$$

#### **c. Pra Penelitian**

Pada tahap pra penelitian digunakan konsentrasi Cr 2,6 ppm, 6,6 ppm, 13,2 ppm, 26,4 ppm, dan 52,8 ppm (Sari, 2008) yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal Cr yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman kacang hijau. Hasil pada tahap ini menunjukkan bahwa konsentrasi kromium 52,8 ppm memberikan perbedaan yang signifikan terhadap tinggi dan berat basah tanaman, sedangkan untuk panjang akar tidak berbeda signifikan. Berdasarkan parameter morfologi tersebut, diperkirakan telah terjadi penyerapan logam berat kromium yang mengganggu proses fisiologis tanaman. Hasil penelitian tahap pertama ini

menjadi rujukan dalam penentuan konsentrasi Cr pada tahap inti. Konsentrasi yang digunakan pada tahap inti adalah 0 ppm, 26,4 ppm, 40 ppm, 80 ppm 120 ppm dan 160 ppm. Konsentrasi 40 sampai 160 yang digunakan pada penelitian inti berdasarkan Jamal *et al.* (2006).

## **2. Tahap pelaksanaan pengujian**

### **a. Pemaparan tanaman oleh kromium dalam media tanam**

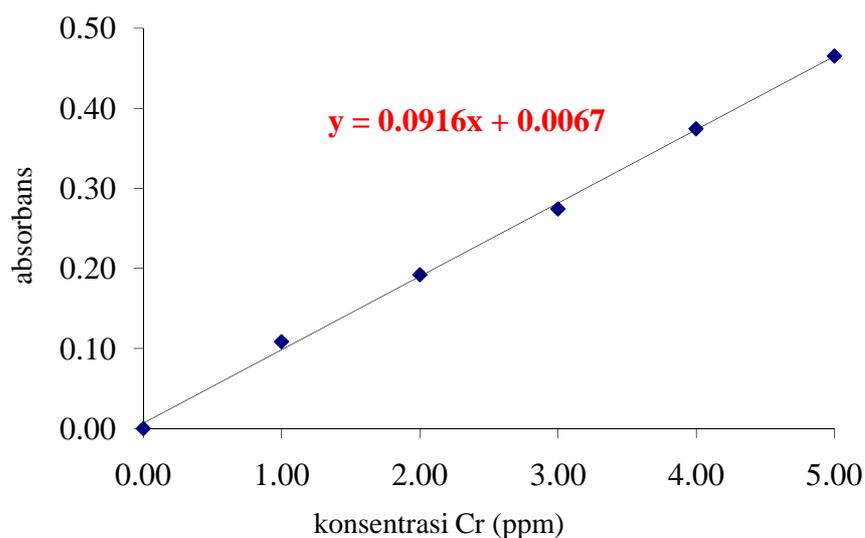
Setelah muncul daun trifoliatus pertama tanaman dipindahkan ke dalam polybag, dan dilakukan aklimasi selama 1 hari yang kemudian diberikan perlakuan setiap hari selama 30 hari. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengobservasi gejala fitotoksik logam kromium pada tanaman kacang hijau diketiga varietas. Selama pemberian perlakuan diukur juga faktor abiotiknya yaitu suhu maksimum dan minimum per hari, kelembaban udara, dan pH tanah.

### **b. Tahap pengukuran**

Daun dari semua perlakuan dan varietas diambil kemudian dikeringkan dalam suhu 80°C selama 2 hari. Hal ini sesuai dengan penjelasan oleh Salisbury dan Ross (1995:128) bahwa apabila bagian tumbuhan atau bagian tumbuhan yang baru saja dipanen, dipanaskan pada suhu 70-80°C selama satu atau dua hari, maka hampir seluruh airnya menguap. Sampel daun yang telah dikeringkan selanjutnya ditimbang berat keringnya dan diabukan dengan cara dioven pada suhu 450°C menggunakan *furnace* selama 12 jam. Proses tersebut dilanjutkan dengan destruksi kimia menggunakan HNO<sub>3</sub> pekat 65% (Sembiring dan Sulistyawati, 2006:3) sebanyak 15 ml dan dipanaskan dengan pemanas hingga larutan sampel tinggal 1 ml dan dinginkan. Setelah dingin kemudian diencerkan dengan aquades

sebanyak 25 ml sedikit demi sedikit, semua kegiatan ini dilakukan dalam lemari asam. Larutan sampel tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42, kemudian sampel diuji kadar kromiumnya menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) di ITB.

Kurva kalibrasi unsur kromium diperoleh dengan mengukur serapan larutan standar (blanko) Cr pada kondisi optimum unsur. Kisaran larutan standar kromium yang digunakan adalah 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm. Kurva kalibrasi didapat dengan cara mengukur absorbansi larutan blanko pada panjang gelombang 357,9 nm (Gambar 3.1). Masing-masing larutan standar dibuat tiga kali pengulangan. Rata-rata pengukuran absorbansi larutan standar berfungsi sebagai fungsi “y” dan konsentrasi larutan standar sebagai fungsi “x”, sehingga dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar dapat diperoleh persamaan garis regresi linier  $y = ax + b$ .



Gambar 3.1. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Cr pada  $\lambda = 357,9$  nm

Berdasarkan Gambar 3.1 diperoleh persamaan garis regresi linier yang merupakan hubungan antara absorban (y) dengan konsentrasi (x) larutan standar yaitu  $Y = 0,0916 X + 0,0067$ . Selanjutnya untuk menentukan kadar logam Cr dalam sampel dilakukan pengukuran absorban larutan sampel. Kadar logam Cr dalam sampel diperoleh dengan cara mensubstitusikan nilai absorbansi larutan sampel pada persamaan  $Y = 0,0916 X + 0,0067$ . Setelah diperoleh nilai kadar Cr, maka untuk mengetahui kadar kromium per berat kering yang terkandung pada daun menggunakan rumus perhitungan (Antari dan Sundra, 2002:4) sebagai berikut :

$$M = \frac{C \times F \times V}{B}$$

Keterangan :

M = Kandungan logam dalam sample ( $\mu\text{g/g}$ )

C = Konsentrasi yang diperoleh dari Kurva Kalibrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )

V = Volume larutan sample (ml)

F = Faktor pengenceran

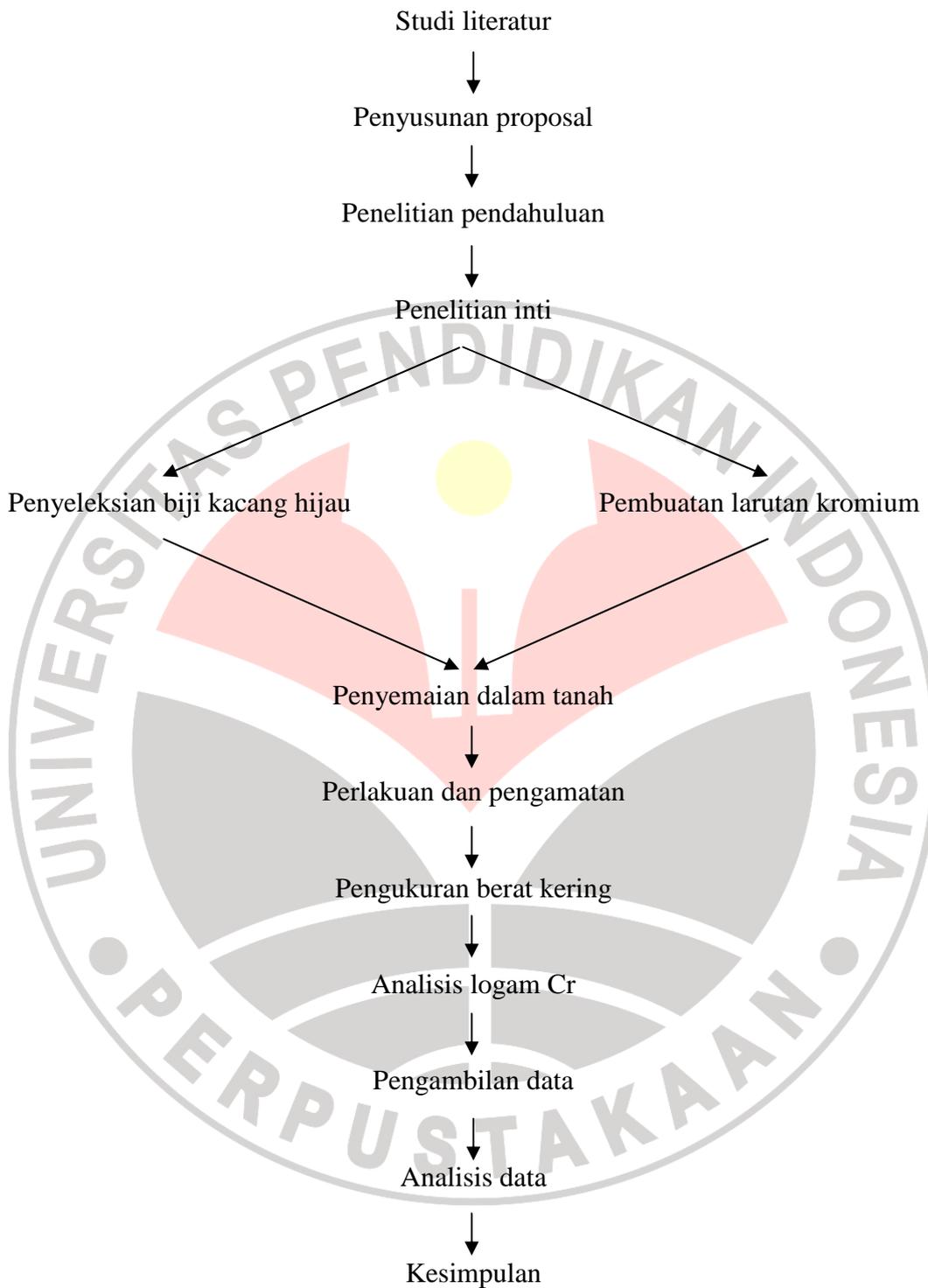
B = Berat kering sampel (g)

#### **G. ANALISIS DATA**

Untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar Cr yang terserap dan berat kering daun oleh tiga varietas kacang hijau setelah perlakuan, hasil analisis diuji menggunakan statistik. Langkah pertama dilakukan analisis statistik prasyarat yang meliputi dua uji, yaitu Uji Normalitas menggunakan Uji Kolmogorov-Smirnov dan Uji Homogenitas menggunakan Uji Levene. Hasil pengukuran parameter pada varietas Bhakti menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan Uji Hipotesis menggunakan *one way* ANOVA pada

program SPSS 12. Analisis data parameter kadar dan akumulasi Cr pada varietas Bhakti dilanjutkan menggunakan Uji Tukey untuk mengetahui perbedaan signifikan antara kontrol dan perlakuan. Hasil uji prasyarat pada parameter varietas Walet dan Kenari menunjukkan bahwa data berdistribusi normal tapi tidak homogen, hasil tersebut dilanjutkan ke pengujian hipotesis non parametrik Kruskal-Wallis pada program SPSS 12.





Gambar 3.2. Alur Penelitian