

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Tanah Balai Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA), jalan Tangkuban Perahu No. 157 Lembang, Bandung.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Alat

Peralatan yang digunakan adalah neraca analitik, labu ukur ukuran 10 mL dan 25 mL, gelas kimia 50 mL dan 100 mL, pipet ukur 1 mL dan 10 mL, pipet mikro 1000  $\mu\text{L}$ , labu Erlenmeyer 25 mL, *bulp* pipet, oven, rak plastik, bak plastik, kertas biasa, botol semprot, corong kaca, batang pengaduk, spatula, lumpang alu, ayakan  $\varnothing$  2 mm, pH meter, kertas saring, vortex dan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) SensAA seri A.6311 Dual GBC *Scientific Equipment*.

##### 3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi SRM  $\text{Ca}^{2+}$  250 ppm, larutan amoniumasetat 0.1M dan 1M pH 7.0, Lantan 2000 ppm, Buffer pH 4 dan pH 10, akuades, dan sampel tanah, standar  $\text{Mg}^{2+}$  1ppm.

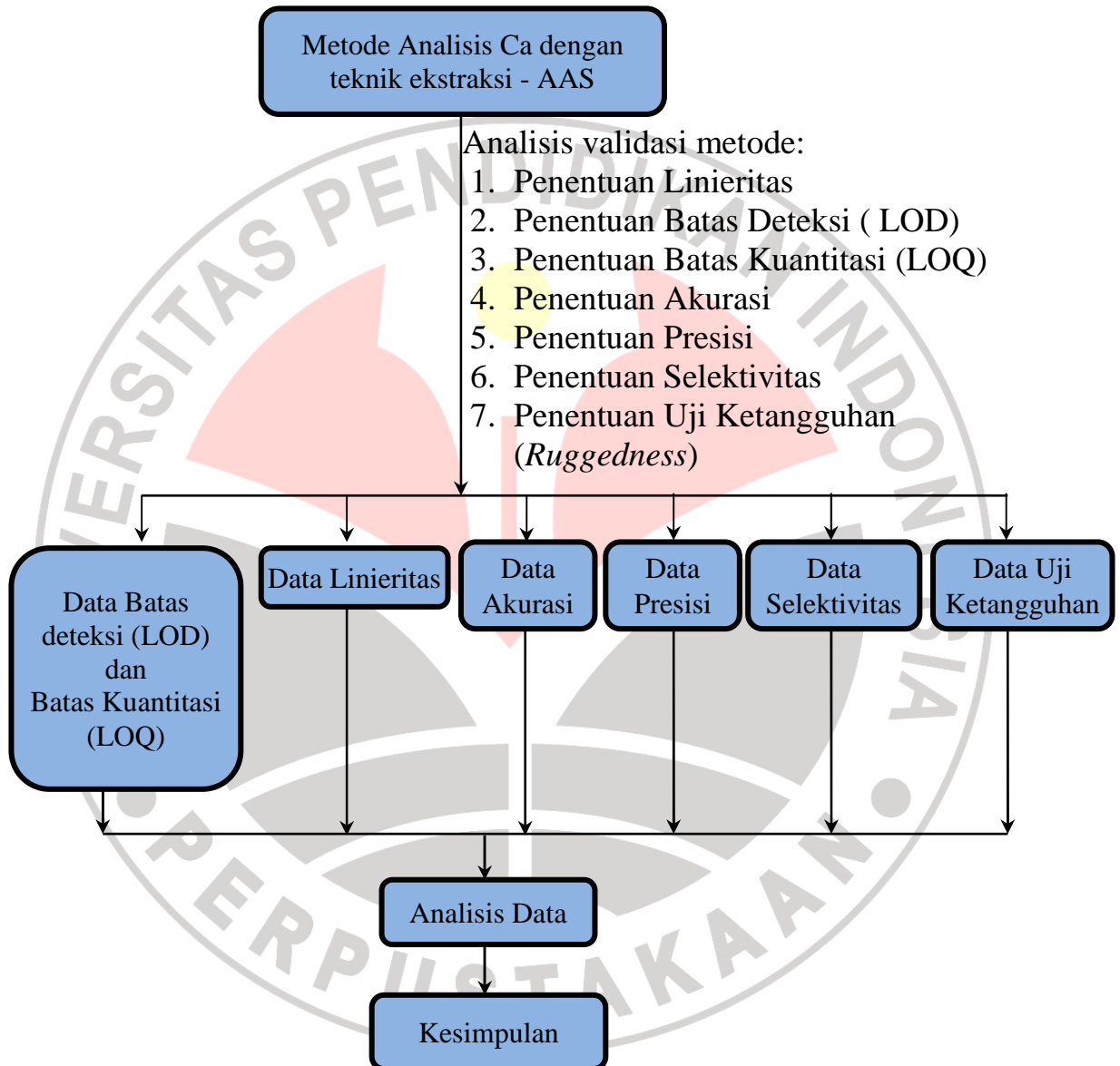
### 3.3. Metode Penelitian

Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan pada acuan prosedur yang dikembangkan oleh Laboratorium Tanah. Dalam pelaksanaannya metodologi penelitian dibuat untuk mengarahkan dan memudahkan pekerjaan. Adapun tahapan metodologi penelitian yang dibuat dirumuskan sebagai berikut :

1. Preparasi larutan standar dan sampel, yang meliputi penimbangan, pelarutan (ekstraksi), pengadukan, pengenceran dan penyaringan.
2. Penentuan parameter kinerja metode (validasi metode) analisis menggunakan SRM  $\text{Ca}^{2+}$  dan larutan sampel tanah. Dari langkah penelitian ini akan diperoleh data yang selanjutnya diolah secara statistik untuk memperoleh nilai linieritas, batas deteksi dan kuantitasi, kecermatan (presisi) dan ketepatan (akurasi), selektivitas dan uji ketangguhan (*ruggedness*).

### 3.4. Bagan Alir Penelitian

Untuk memudahkan dalam melakukan kegiatan penelitian, di buatlah bagan alir penelitian seperti di bawah ini:



Gambar 3.1. Bagan Alir Proses Validasi Metode Analisis Kalsium dalam Tanah dengan Sfektrofotometer Serapan atom (AAS).

### **3.5. Prosedur Kerja**

#### **3.5.1. Pengambilan Sampel**

Pengambilan contoh tanah untuk mengetahui status hara (kesuburan tanah) digunakan sistem pengambilan sampel acak sistematis yaitu pengambilan sampel acak dilakukan secara berurutan dengan interval tertentu. Dilakukan oleh bagian petugas lapangan, guna sesuai dengan fungsi keahliannya. Pengambilan contoh tanah dilakukan pada 10 titik suatu areal dengan menggali tanah sedalam sekitar 20 cm (daerah perakaran) dengan alat sekop dan mengambilnya masing-masing sebanyak 100 g. Kemudian dilakukan percampuran contoh (susunan contoh) dari 10 lokasi tersebut sehomogen mungkin. Dari campuran tanah yang dianggap homogen tersebut diambil contoh untuk dianalisis. Sebagian tanah yang berasal dari campuran inilah yang digunakan untuk analisis.

#### **3.5.2. Pembuatan Pereaksi**

##### **1. Pembuatan Larutan Amonium asetat 1M pH 7.0**

- a). Ditimbang 7.708 g serbuk amonium asetat p.a. dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
- b). Dilarutkan dengan aquades sampai setengah penuh.
- c). Ditepatkan pH larutan menjadi 7.00 dengan penambahan ammonia pekat atau asam asetat pekat.
- d). Dihimpitkan sampai tanda batas dengan aquades dan kemudian dikocok sampai homogen.

## 2. Pembuatan Larutan Lantan 2000 ppm

- a). Ditimbang 0.630 gram  $\text{LaCl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
- b). Dilarutkan dengan aquades sampai setengah penuh.
- c). Ditambahkan 1 mL HCl 37%.
- d). Dihimpitkan sampai tanda batas dengan aquades dan kemudian dikocok sampai homogen.

### 3.5.3. Pembuatan Larutan Standar Kalsium

1. Dipipet SRM  $\text{Ca}^{2+}$  250 ppm masing-masing 0.10 mL; 0.20 mL; 0.30 mL; 0.40 mL 0.50 mL; 0.60 mL dan 0.70 mL ke dalam 7 buah labu ukur 10 mL (konsentrasi larutan masing-masing 2.5 ppm; 5 ppm; 7.5 ppm; 10 ppm; 12.5 ppm; 15 ppm dan 17.5 ppm).
2. Ditambahkan pelarut amonium asetat 0.1M pH 7.0
3. Ditambahkan 5 mL larutan Lantan 2000 ppm
4. Dihimpitkan dengan pelarut amonium asetat 0.1M pH 7.0 sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

### 3.5.4. Pembuatan Larutan Sampel Tanah

1. Diambil sampel tanah dari lapangan yang representatif ke dalam bak plastik sesuai dengan kebutuhan pengujian.
2. Dihancurkan sambil diaduk bongkahan tanah, dibersihkan dari akar, sisa tanaman segar, kerikil dan kotoran lain.
3. Dimasukkan kedalam rak plastik beralaskan kertas yang sebelumnya sudah diberi kode label.

4. Dikeringkan dalam oven pada temperatur 40°C selama 24 jam.
5. Ditumbuk sampel yang sudah kering pada lumpang porselin kemudian disaring dengan ayakan  $\emptyset$  2 mm. sisa ayakan dihaluskan kembali kemudian disaring lagi.
6. Dicampurkan hasil saringan pertama dan saringan berikutnya kemudian diaduk sampai homogen.
7. Dimasukkan sampel hasil saringan  $\emptyset < 2$  mm ke dalam plastik sampel yang sudah diberi label.
8. Ditimbang 1,25 g sampel uji dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 25 mL.
9. Ditambahkan 5 mL larutan amonium asetat 1M pH 7 kemudian digoyang.
10. Disaring ekstrak sampel kedalam labu ukur 25 mL.
11. Ditambahkan larutan amonium asetat 1M pH 7,00 sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.
12. Dipipet sampel 0,5 mL kedalam labu ukur 10 mL dengan pipet mikro.
13. Ditambahkan 4,5 mL aquades.
14. Dihimpitkan dengan larutan Lantan 2000 ppm sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

#### **3.5.5. Analisis Kalsium dalam Tanah**

Larutan yang telah diekstraksi, diukur absorpsinya dengan AAS dengan panjang gelombang 422,7 nm. Nilai absorbansi yang telah diperoleh berada dalam nilai absorbansi kurva kalibrasi larutan standar sehingga konsentrasi kalsium

dapat dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresinya dan kadar logam dalam sampel dapat ditentukan dengan rumus pada persamaan 3.1:

$$\text{Kadar (ppm)} = \frac{C \times V \times F_p}{BS} \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan: C = Konsentrasi( $\mu\text{g/mL}$ )  
 V = Volume larutan sampel (mL)  
 Fp = Faktor Pengenceran  
 BS = Berat sampel (g)

### 3.5.6. Penentuan Parameter Kinerja Validasi Metode

Parameter validasi metode meliputi linieritas, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), akurasi, presisi, selektivitas, dan uji ketangguhan (*ruggedness*).

#### 1. Penentuan Linieritas

Penentuan linieritas suatu metode dilakukan dengan membuat larutan standar sebanyak 7 buah dengan konsentrasi 2,5 ppm; 5 ppm; 7,5 ppm; 10 ppm; 12,5 ppm; 15 ppm dan 17,5 ppm. Masing-masing konsentrasi dibuat dan diukur pada panjang gelombang 422,7 nm sebanyak 3 ulangan dengan AAS pada kondisi optimum dan dibuat persamaan garisnya dengan metode regresi linier ( $y = ax + b$ ). Dengan a menyatakan *slope* dan b intersep garis dari keenam larutan standar yang diukur. Linieritas kurva kalibrasi dilihat dari nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang memenuhi persyaratan  $\geq 0,9970$  (ICH 1995),  $\geq 0,9980$  (AOAC), atau menggunakan referensi dari metode standar nasional yaitu SNI 06-6989,56-2005 tentang Metode Pengujian Kadar Kalsium dalam Air dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS)  $\geq 0,97$ .

## 2. Penentuan Limit Deteksi (LOD)

Batas deteksi (LOD) ditentukan berdasarkan persamaan linier yang diperoleh pada uji linearitas dan dihitung berdasarkan standar deviasi (SD) dari kurva antara respon dan kemiringan.

## 3. Batas kuantitasi (LOQ, limit of Quantitation, Limit of Determination).

Batas kuantitasi (LOQ) ditentukan berdasarkan persamaan linier yang diperoleh pada uji linearitas dan dihitung berdasarkan standar deviasi (SD) dari kurva antara respon dan kemiringan.

## 4. Penentuan Ketelitian (Presisi)

Larutan sampel yang telah disiapkan sesuai dengan prosedur pembuatan larutan sampel kemudian diukur dengan AAS sebanyak 7 ulangan. Ketelitian diukur dengan menghitung persentase relatif standar deviasi (%RSD). Dari referensi metode standar nasional yaitu SNI 06-6989,56-2005 tentang Metode Pengujian Kadar Kalsium dalam Air dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS), RSD memenuhi persyaratan jika  $\leq 5\%$ .

## 5. Penentuan Ketepatan (akurasi)

Penentuan ketepatan (akurasi) dilakukan dengan metode uji pungut ulang (*recovery*) membuat larutan sampel sebanyak 7 buah dan ditambahkan masing-masing kedalamnya larutan SRM  $\text{Ca}^{2+}$  15 ppm sebanyak 1 mL, kemudian diukur masing-masing larutan dengan AAS. Menurut referensi dari



metode standar nasional yaitu SNI 06-6989,56-2005 tentang Metode Pengujian Kadar Kalsium dalam Air dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS), akurasi yang memenuhi persyaratan yaitu uji pungut ulangnya sebesar 85 – 115 %.

#### 6. Penentuan Selektivitas

Selektivitas dilakukan dengan membandingkan kesamaan beberapa rata-rata dari sampel yang ditambahkan larutan standar Mg 1 ppm sebanyak 50  $\mu$ L dengan sampel yang tanpa penambahan larutan standar Mg, diukur pada panjang gelombang 422,7 nm sebanyak 7 ulangan dengan AAS pada kondisi optimum. Apakah ada perbedaan yang signifikan atau tidak dari beberapa nilai rata-rata yang diselidiki yang pada akhirnya diperoleh suatu keyakinan untuk menerima hipotesis nol, yaitu tidak adanya perbedaan diantara kedua variasi atau menerima hipotesis alternatifnya. Metode yang digunakan dalam pengujian hipotesisnya, yaitu dengan analisis ragam, dengan menggunakan sebaran  $t$  atau dikenal dengan uji- $t$ . Apabila  $t_{hitung} > t_{tabel}$  pada taraf kepercayaan 95%, berarti terdapat perbedaan yang nyata pada kadar rata-rata antar dua populasi tersebut sebaliknya apabila  $t_{hitung} < t_{tabel}$ , maka tidak ada perbedaan yang berarti pada setiap pengukuran. (Wibisono, 2005).

Uji yang membandingkan dua rataan yang setiap ragam yang disebabkan oleh metode akan sangat dipengaruhi oleh perbedaan antara terok uji. Kesukaran ini diatasi dengan memperhatikan selisih antara setiap pasang

hasil kedua metode dengan rumus menurut Miller (1987) pada persamaan 3.2, sebagai berikut:

$$t = \bar{x}_d \sqrt{n} / s_d \dots \dots \dots (3.2)$$

Keterangan:

t = besaran dalam perhitungan batas kepercayaan dan uji keberartian rata-rata.

$\bar{x}_d$  = rata-rata selisih antar terok

n = jumlah terok

$s_d$  = simpangan baku dari selisih antar terok

#### 7. Penentuan Uji Ketangguhan (*Ruggedness*)

Uji ketangguhan dilakukan pada pengujian pengukuran standar  $\text{Ca}^{2+}$  pada tiga waktu uji yang berbeda, pada perbedaan waktu ini dilihat apakah ada perbedaan yang signifikan atau tidak dari beberapa nilai rata-rata yang diselidiki yang pada akhirnya diperoleh suatu keyakinan untuk menerima hipotesis nol, yaitu tidak adanya perbedaan diantara ketiga variansi, sehingga dapat disimpulkan metode tersebut tangguh. Konsep analisis ragam didasarkan pada konsep distribusi F. Apabila  $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$  pada taraf kepercayaan 95%, berarti terdapat perbedaan yang nyata pada kadar rata-rata antar analisis sebaliknya apabila  $F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}}$ , maka tidak ada perbedaan yang berarti pada setiap pengukuran. (Wibisono, 2005).