

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada rentang waktu 1 Maret 2024 hingga 1 Juli 2024. Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahapan, yaitu tahap ekstraksi dari daun pepaya, tahap karakterisasi ekstrak daun pepaya, tahap aplikasi komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrien S-367B, dan tahap pengamatan pertumbuhan tanaman kailan. Tahapan ekstraksi daun pepaya dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI; tahapan karakterisasi dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI; tahapan aplikasi komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrien S-367B dan tahap pengamatan pertumbuhan tanaman kailan berlokasi di perkebunan yang berada di daerah Cigugur Girang, Kecamatan Parongpong.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Pada penelitian ini peralatan yang digunakan adalah, alat penyiram, tisu, pipet seukuran, pipet tetes, pH meter analog, selotip tak berwarna, neraca analitik, kaca arloji, alumunium foil, gelas kimia (100 mL, 250 mL, dan 1 L), labu ukur (25 mL, 50 mL, 100 mL, dan 1 L), batang pengaduk, tabung reaksi, maserator, rak tabung, labu dasar bulat 500 mL, kuvet, vacum rotary evaporator, botol semprot, corong kaca, freezer, mikropipet, statif dan klem, spatula, kertas saring, termometer, botol vial, spektrofotometer UV-Vis UV mini 1240, spektrofotometer Fourier-Transform Infrared (FTIR).

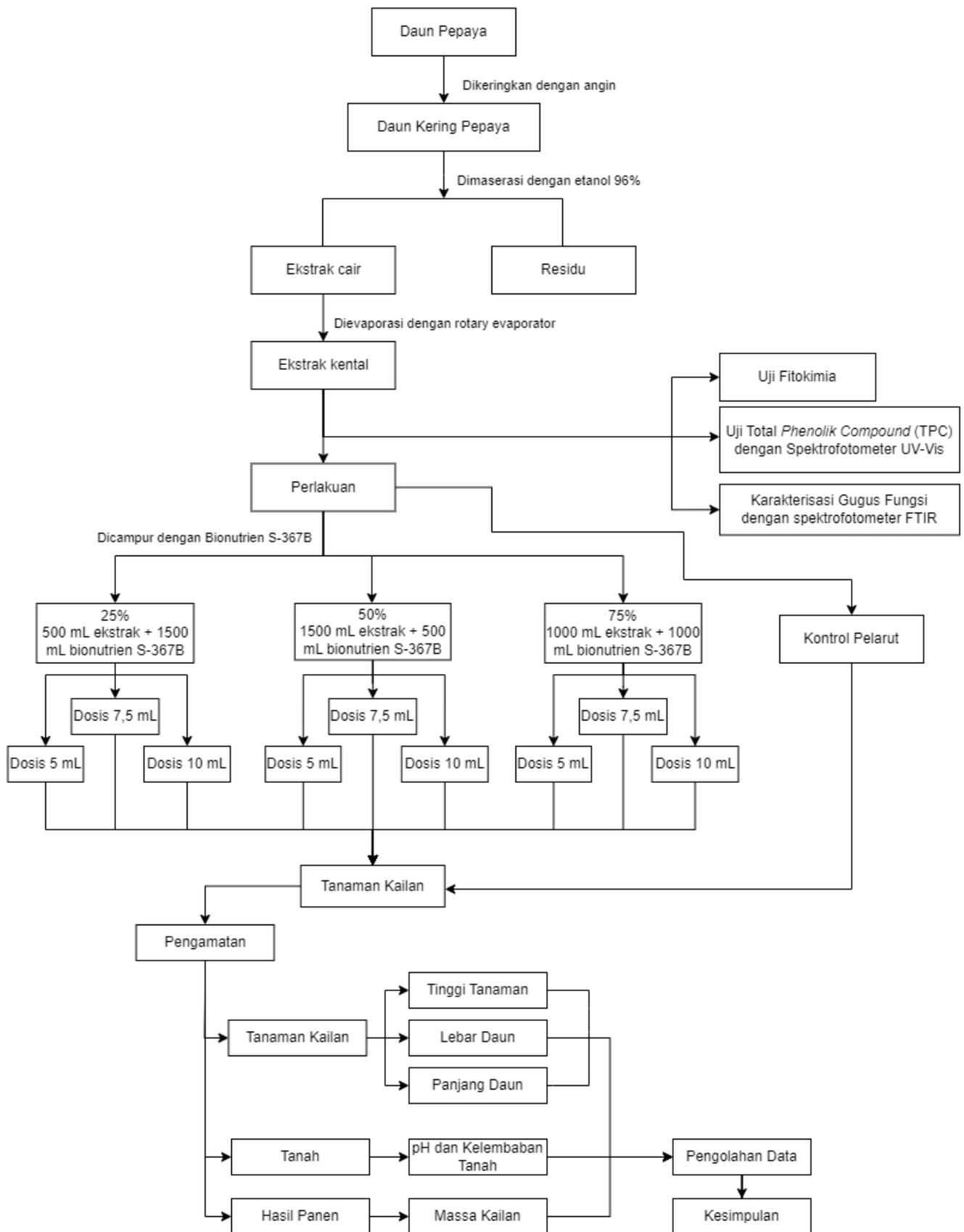
3.2.2 Bahan

Pada penelitian ini digunakan sampel kering daun pepaya yang berasal dari daerah Limbangan Sari, Kecamatan Cianjur yang dikumpulkan pada bulan Maret 2024. Bahan kimia yang digunakan antara lain berbagai pelarut organik meliputi etanol 96% pro analisis dan aquades. Adapun reagen yang digunakan pada Uji Total *Phenolic Compound* meliputi larutan Asam Galat, *Follin-Ciocalteu* 10%, Na_2CO_3 7%. Selain itu pereaksi yang

digunakan pada uji fitokimia antara lain, pereaksi dragendoff, pita magnesium, HCl pekat, FeCl₃ 5%, dan Aquades.

3.3 Bagan Alir dan Tahap Penelitian

Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahapan, yaitu tahap ekstraksi dari daun pepaya, tahap analisis ekstrak daun pepaya meliputi uji fitokimia, uji total fenolik, dan karakterisasi gugus fungsi dengan spektrofotometri FTIR, tahap aplikasi komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrien S-367B, tahap pengamatan pertumbuhan tanaman kailan. Pada tahap aplikasi, bagi tanaman kelompok perlakuan diaplikasikan komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrien S-367B 3 dosis 5 mL; 7,5 mL; dan 10 mL dalam 1000 mL dengan setiap dosis pada masing masing konsentrasi, sedangkan tanaman kailan kontrol pelarut diaplikasikan campuran etanol dan air. Pada tahap pengamatan pertumbuhan dilakukan analisis terhadap panjang daun, tinggi tanaman, lebar daun, serta kondisi lingkungan meliputi kelembaban dan pH tanah, dan masa panen.



Gambar 3. 1. Bagan Alir Penelitian

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini melalui tahapan antara lain, tahap ekstraksi dari daun pepaya, tahap karakterisasi ekstrak daun pepaya, tahap aplikasi komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrien S-367B, tahap pengamatan pertumbuhan tanaman kailan.

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya

Pada penelitian ini dilakukan terlebih dahulu proses persiapan sampel daun pepaya yang sudah dikeringkan. Selanjutnya, daun pepaya kering dihaluskan dan diekstrak dengan pelarut etanol 96% untuk mendapatkan ekstrak kental yang akan digunakan dalam pengaplikasian pada objek tanaman dan karakterisasi gugus fungsi. Ekstrak kental daun pepaya dibuat dengan dilakukan maserasi 500 gram daun kering dalam 3L pelarut selama 3x24 jam. Dilakukan penyaringan pada ekstrak hasil maserasi, lalu filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* yang dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C hingga diperoleh 500mL ekstrak kental.

Selanjutnya, sebanyak 100mL ekstrak kental daun pepaya dikeringkan melalui *freeze drying* untuk selanjutnya dilakukan karakterisasi. Karakterisasi untuk menentukan golongan dari senyawa yang terdapat pada daun pepaya dan diduga aktif berpotensi sebagai biopestisida akan menggunakan metode spektroskopi FTIR. Kemudian, sebanyak 400mL ekstrak kental daun pepaya diencerkan menggunakan pelarut aquades menjadi 2L untuk mendapatkan ekstrak cair yang akan digunakan dalam pengaplikasian pada objek tanaman. Hasil ekstrak cair dilakukan penambahan Bionutrien S-367B dengan dosis yang berbeda.

3.4.2 Uji Fitokimia Ekstrak Daun pepaya

3.4.2.1 Uji Alkaloid

Ekstrak kental daun pepaya ditambahkan sebanyak 0.1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 hingga 3 tetes reagen Dragendoff. Endapan berwarna merah jingga menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.2.2 Uji Flavonoid

Ekstrak kental daun pepaya ditambahkan sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan sepotong pita magnesium dan diikuti dengan 1 mL HCl pekat. Perubahan warna dari jingga menjadi merah menunjukkan adanya flavon, sedangkan merah menjadi merah tua menunjukkan adanya flavonoid.

3.4.2.3 Uji Saponin

Ekstrak kental daun pepaya ditambahkan sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sedikit aquades ditambahkan ke dalam tabung dan diaduk dengan cepat. Buih yang bertahan selama sekitar 15 menit menunjukkan adanya saponin.

3.4.2.4 Uji Tanin

Ekstrak kental daun pepaya ditambahkan sebanyak 0,5 gram diencerkan dengan aquades dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 hingga 3 tetes larutan besi klorida (FeCl_3) 5%. Warna hijau-hitam atau biru menunjukkan adanya tanin. (Mohammed dkk., 2016)

3.4.3 Penetapan Kadar Total Fenol dengan Metode Folin-Ciocalteu Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

1) Penetapan larutan baku standar 1000 ppm

Padatan asam galat ditimbang sebesar 0.1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas.

2) Penetapan larutan standar 100 ppm

Larutan baku standar 1000 ppm diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara memipet 10 mL larutan baku standar 1000 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas.

3) Pembuatan deret standar 10, 20, 30, 40, 50 ppm

Larutan baku standar 100 ppm dibuat deret standar asam galat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dengan cara

dipipet masing-masing 1; 2; 3; 4; dan 5 mL, kemudian masing masing dimasukkan dalam labu ukur 10 mL.

Hasil deret standar dipipet masing masing 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda dan ditambahkan dengan 1 mL aquades ke dalam tabung reaksi lain. Sebanyak 5 mL pereaksi *Follin-Ciocalteu* ditambahkan lalu dikocok hingga homogen, kemudian setelah 8 menit dilanjutkan dengan penambahan pereaksi Na_2CO_3 7.5% sebanyak 4mL. Diamkan pada suhu ruang selama 1 jam.

4) Penentuan kadar sampel

Sampel kering ekstrak daun pepaya ditimbang sebesar 0.02 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas. Diambil 1 mL ekstrak dari hasil pengenceran ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 5 mL pereaksi *Follin-Ciocalteu* ditambahkan lalu dikocok hingga homogen, kemudian setelah 8 menit dilanjutkan dengan penambahan pereaksi Na_2CO_3 7.5% sebanyak 4mL. Diamkan pada suhu ruang selama 1 jam.

Spektrofotometri UV merupakan suatu teknik analisis spektroskopi yang menggunakan sumber cahaya untuk menerangi sampel dengan cahaya melintasi UV hingga rentang panjang gelombang tampak (biasanya 190 hingga 900 nm). Instrumen kemudian mengukur cahaya yang diserap, ditransmisikan, atau dipantulkan oleh sampel pada setiap panjang gelombang (Agilent, 2021). Uji UV-Vis dilakukan dengan etanol untuk melarutkan ekstrak daun pepaya, kemudian diuji dengan diukur pada panjang gelombang 760nm menggunakan Spektofotometri UV-Vis.

3.4.4 Karakterisasi Gugus Fungsi Menggunakan Fourier Transform Infra Red (FTIR)

Penentuan gugus fungsi ekstrak daun pepaya dilakukan dengan menggunakan Fourier-Transform Infrared (FTIR). Dalam prosedur analisis FTIR, sampel dikenai kontak dengan radiasi infra merah (IR). Radiasi IR kemudian berdampak pada getaran atom suatu molekul dalam sampel, sehingga

mengakibatkan penyerapan dan/atau transmisi energi tertentu (Nandiyanto et al., 2019). Hasil analisis gugus fungsi FTIR ditampilkan dalam bentuk grafik/kurva transmisi relatif (%) terhadap bilangan gelombang (cm^{-1}). Puncak grafik mewakili ikatan molekul yang ditemukan dalam sampel (Sonip dkk., 2015).

3.4.5 Penomoran Tanaman Kailan yang Digunakan dalam Penelitian

Pada penelitian ini, tanaman kailan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok perlakuan (ekstrak daun pepaya + bionutrient S-367B) dan kelompok perlakuan kontrol pelarut (etanol + aquades). Terdapat 225 tanaman diantaranya 135 tanaman dilakukan perlakuan (ekstrak daun pepaya + bionutrient S-367B) yang terbagi menjadi 9 baris dan 45 tanaman dilakukan perlakuan kelompok kontrol pelarut (etanol + aquades). Tanaman kailan yang diamati diberi tanda pada setiap barisnya. Berikut penomoran tanaman kailan yang diperoleh ditunjukkan pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1. Penomoran sampel tanaman kailan.

	Perlakuan (Komposit Ekstrak Daun Pepaya dan Bionutrien S-367B)									
		25%			50%			75%		
		5 mL/L	7,5 mL/L	10 mL/L	5 mL/L	7,5 mL/L	10 mL/L	5 mL/L	7,5 mL/L	10 mL/L
P E L A R U T										

	kelompok tanaman perlakuan kontrol pelarut (etanol + aquades)
	Kelompok tanaman perlakuan (ekstrak daun pepaya + bionutrient S-367B)
	Tanaman kailan yang diamati
	Kelompok tanaman tidak ada perlakuan

3.4.6 Pengukuran pH dan kelembaban tanah

Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan dengan alat pH meter analog ETP306 3in1 tujuh hari sekali. Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan pada daerah kelompok perlakuan (ekstrak daun pepaya + bionutrient S-367B) dan kelompok perlakuan kontrol pelarut (etanol + aquades).

3.4.7 Aplikasi dan Pengamatan terhadap Tanaman Kailan

Pada tahap aplikasi, tanaman kailan pada kelompok tanaman perlakuan ekstrak daun pepaya + bionutrient S-367B dengan dosis 5 mL; 7,5 mL; dan 10 mL dalam 1000 mL air. Pengaplikasian dilakukan rutin dalam waktu tujuh hari sekali dengan cara disemprotkan pada tanaman kailan. Setiap dosis terdiri pada masing masing konsentrasi antara ekstrak daun pepaya dan bionutrient S-367B antara lain:

1. Komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrient S-367B 25% (ekstrak daun pepaya 500 mL + bionutrient S-367B 1500 mL)
2. Komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrient S-367B 50% (ekstrak daun pepaya 1000 mL + bionutrient S-367B 1000 mL)
3. Komposit ekstrak daun pepaya dan bionutrient S-367B 75% (ekstrak daun pepaya 1500 mL + bionutrient S-367B 500 mL)

Begitu juga pengaplikasian dilakukan rutin dalam waktu tujuh hari sekali pada tanaman perlakuan kelompok kontrol pelarut (etanol + aquades).

3.4.8 Pengukuran Tinggi, Panjang, dan Lebar Daun Tanaman

Pengukuran tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun pada tanaman kailan diamati pertambahannya setiap minggu selama proses pengamatan. Alat bantu yang digunakan dalam pengukuran pertumbuhan tanaman ini adalah penggaris dan alat tulis.