

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada rentang waktu 1 Maret 2024 hingga 14 Juli 2024. Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahapan, yaitu tahap ekstraksi dari daun tembelean, tahap karakterisasi ekstrak daun tembelean, tahap aplikasi campuran ekstrak daun tembelean dengan bionutrien S-367B, dan tahap pengamatan pertumbuhan tanaman kailan. Tahapan ekstraksi daun tembelean dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI; tahapan karakterisasi dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI; tahapan aplikasi campuran ekstrak daun tembelean dengan 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

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini anatar lain: alat semprot, gunting, neraca analitik, set alat rotary vacum evaporator, pH meter tanah, 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, botol semprot, corong kaca, chiller, mikropipet, statif dan kelm, spatula, kertas saring, termometer, botol vial, instrumentasi Spektrofotometer UV-Vis, dan instrumentasi Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red (FTIR).

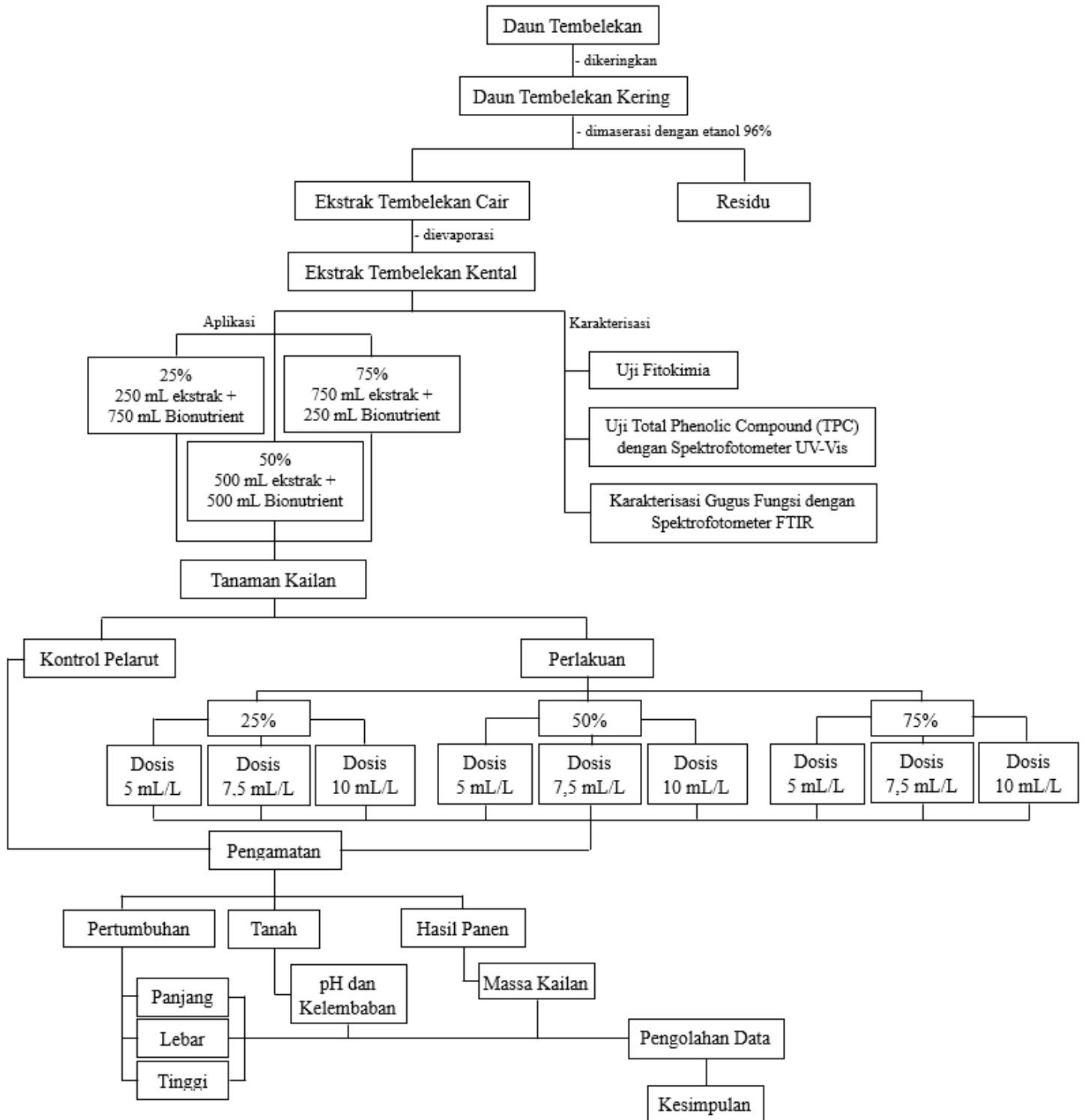
3.1.2 Bahan

Sampel yang digunakan berupa daun tembelean (*Lantana Camara*) yang berasal dari daerah Dago, Kota Bandung yang dikumpulkan pada bulan Maret 2024. Bahan kimia yang digunakan sebagai pelarut organik sampel berupa etanol 96% teknis dan aquades. Pereaksi yang digunakan dalam uji skrining fitokimia antara lain pereaksi dragendoff, pita magnesium, HCl pekat, FeCl₃ 5%, dan Aquades. Adapun pereaksi yang digunakan dalam analisis Uji Total *Phenolic Compound* meliputi larutan Asam Galat, *Follin-Ciocalteu* 10%, Na₂CO₃ 7%.

Muhamad Rivaldi, 2024

**KOMPOSIT BIOPESTISIDA EKSTRAK DAUN TEMBELEKAN (*Lantana Camara*) DENGAN
BIONUTRIEN S-367B PADA TANAMAN KAILAN (*Brassica oleracea* var. *Alboglabra*)**
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.2 Bagan Alir dan Tahapan Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

Muhamad Rivaldi, 2024

KOMPOSIT BIOPESTISIDA EKSTRAK DAUN TEMBELEKAN (*Lantana Camara*) DENGAN BIONUTRIEN S-367B PADA TANAMAN KAILAN (*Brassica oleracea* var. *Alboglabra*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Tahap-tahap penelitian antara lain tahap ekstraksi, tahap aplikasi, pengamatan pertumbuhan, dan tahap karakterisasi ekstrak daun tembelean. Tahap ekstraksi menggunakan pelarut etanol untuk pengaplikasian pada tanaman kailan dan karakterisasi daun tembelean. Pada tahap aplikasi digunakan ekstrak daun tembelean dan kontrol pelarut. Tahap pengamatan tanaman kailan dilakukan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman, panjang daun, lebar daun, massa hasil panen tanaman kailan, pH tanah, kelembaban tanah, dan ketinggian area perkebunan. Pada tahap karakterisasi ekstrak daun tembelean meliputi uji fitokimia, analisis kadar total fenolik menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan spektrofotometer UV-Vis, serta analisis gugus fungsi dengan FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*).

3.3 Tahap Ekstraksi

Penelitian ini diawal dengan proses pengeringan daun tembelean yang telah diperoleh. Proses pengeringan dilakukan selama 20 hari di udara terbuka. Daun tembelean kering kemudian dihaluskan dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% untuk melarutkan senyawa organik yang terkandung didalam daun tembelean. Penggunaan etanol sebagai pelarut dikarenakan etanol mudah didapat, bersifat polar, universal, dan lebih mudah menembus dinding sel ekstrak sehingga menghasilkan ekstrak kental (Markham, K. R., 1998). Proses maserasi dilakukan pada daun tembelean halus sebanyak 500 gram dalam 1,5 liter pelarut etanol 96% selama 24 jam. Setelah 24 jam, campuran kemudian disaring, yang mana filtrat ditampung sedangkan residunya ditambahkan kembali pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 liter dan dilakukan kembali maserasi selama 24 jam. Proses maserasi tersebut diulangi sebanyak 3 kali. Setelah dilakukan maserasi, filtrat hasil maserasi dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun tembelean yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.4 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Tembelean

3.4.1 Uji Flavonoid

Ekstrak kental daun tembelean sebanyak 4 mL dalam tabung reaksi ditambahkan sepotong pita magnesium kemudian ditambahkan 1 mL HCl pekat. Apabila terjadi perubahan warna dari jingga menjadi merah menunjukkan adanya

flavon, sedangkan jika perubahan warna dari merah menjadi merah tua menunjukkan adanya flavonoid.

3.4.2 Uji Alkaloid

Ekstrak kental daun tembelean sebanyak 0.1 mL dalam tabung reaksi ditambahkan 2 hingga 3 tetes Reagen Dragendoff. Terbentuk endapan berwarna merah jingga menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.3 Uji Tanin

Ekstrak kental daun tembelean sebanyak 0,5 gram diencerkan dengan aquades dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 hingga 3 tetes larutan Besi Klorida (FeCl_3) 5%. Perubahan larutan menjadi warna hijau-hitam atau biru menunjukkan adanya tanin.

3.4.4 Uji Saponin

Ekstrak kental daun tembelean sebanyak 0,5 gram di dalam tabung reaksi ditambahkan sedikit aquades, kemudian diaduk dengan cepat. Adanya buih yang bertahan selama sekitar 15 menit menunjukkan adanya saponin. (Bhuvanewari & Giri, 2018).

3.5 Penetapan Kadar Total Fenolik dengan Metode Folin-Ciocalteu Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

1) Pembuatan larutan baku standar 1000 ppm

Padatan Asam Galat ditimbang sebanyak 0,1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades, lalu ditambahkan aquades hingga tanda batas.

2) Pembuatan larutan standar 100 ppm

Pembuatan larutan standar 100 ppm dilakukan dengan mengencerkan larutan baku standar 1000 ppm menjadi 100 ppm dengan cara 10 mL larutan baku standar 1000 ppm dipipet, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades, lalu ditambahkan dengan aquades hingga tanda batas.

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

Larutan baku standar 100 ppm yang telah dibuat, diencerkan untuk membuat 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.

Masing-masing deret standar dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda, kemudian ditambahkan dengan 1 mL aquades ke dalam tabung reaksi lain sebagai larutan blanko. Sebanyak 5 mL pereaksi Follin-Ciocalteu ditambahkan lalu dihomogenkan, kemudian didiamkan 8 menit. Setelah itu ditambahkan pereaksi Na_2CO_3 7,5% sebanyak 4 mL dan diamkan pada suhu ruang selama 1 jam.

4) Preparasi sampel

Sampel ekstrak daun tembelean ditimbang sebesar 0.1 gram, kemudian dilarutkan dengan etanol hingga larut, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan aquades hingga tanda batas, lalu dihomogenkan. Larutan sampel dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 5 mL pereaksi Follin-Ciocalteu ditambahkan lalu dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 8 menit. Setelah itu ditambahkan pereaksi Na_2CO_3 7,5% sebanyak 4 mL dan diamkan pada suhu ruang selama 1 jam.

Setelah semua larutan disiapkan dalam tabung reaksi, selanjutnya dilakukan pengukuran dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk melakukan spektrofotometri. Spektrofotometri adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Pengukuran biasanya dilakukan pada rentang panjang gelombang 160-900 nm. Penetapan kadar total fenolik pada daun tembelean ini dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 760 nm.

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

Untuk menentukan gugus fungsi pada ekstrak daun tembelean dilakukan dengan menggunakan Fourier Transform Infra Red (FTIR). Analisis gugus fungsi menggunakan FTIR dilakukan dengan melewatkan sinar inframerah pada sampel melalui interferometer. Sinar inframerah yang terserap oleh sampel akan menghasilkan getaran pada atom molekul pada sampel tersebut (Khan et al., 2018). Getaran atom molekul sampel tersebut menghasilkan penyerapan transmisi energi tertentu (Kirk & Othmer, 1953). Hasil dari analisis dengan FTIR berupa grafik antara panjang gelombang (λ) pada sumbu x dan jumlah cahaya yang terpantulkan atau presentase (%) transmittan pada sumbu y. Hasil analisis FTIR dianalisa dengan melihat puncak (peak) spesifik pada panjang gelombang tertentu. Setiap puncak spesifik menunjukkan jenis ikatan molekul yang teridentifikasi pada sampel (Sari, 2010).

3.7 Penomoran Sampel Tanaman Kailan

Sebelum dilakukan pengaplikasian ekstrak daun tembelean pada tanaman kailan, dilakukan terlebih dahulu penomoran sampel pada sampel tanaman kailan yang akan diamati. Sampel tanaman kailan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol pelarut (etanol + aquades), dan kelompok perlakuan (ekstrak daun tembelean + bionutrien S-367B). Penanaman kailan dilakukan pada 180 tanaman yang diantaranya 135 tanaman dilakukan perlakuan (ekstrak daun tembelean + bionutrien S-367B) yang terbagi atas 9 baris dengan masing-masing baris diberi konsentrasi dan dosis yang berbeda, 45 tanaman kelompok kontrol pelarut (etanol + aquades). Tanaman kailan yang diamati diberikan tanda pada setiap barisnya. Rincian penomoran sampel tanaman kailan ditunjukkan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Penomoran Sampel Tanaman Kailan

Kontrol Pelarut	Perlakuan (Komposit Ekstrak Daun Tembelean 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

Keterangan:

- Kelompok Kontrol Pelarut
- Kelompok Tanaman Tidak Ada Perlakuan
- Kelompok Tanaman Perlakuan
- Tanaman Kailan yang diamati

3.8 Tahap Aplikasi

Pada tahap aplikasi ini, tanaman kailan pada kelompok tanaman perlakuan, dilakukan perlakuan berupa penyemprotan campuran ekstrak daun tembelean dengan bionutrien S-367B. Sebelum dilakukan perlakuan pada tanaman kailan, ekstrak daun tembelean dicampurkan dengan bionutrien S-367B dengan variasi konsentrasi yang berbeda, yaitu:

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

Setelah dicampurkan, campuran ekstrak dan bionutrien diaplikasikan ke tanaman kailan dengan dosis 5 mL, 7,5 mL, dan 10 mL dalam 1000 mL air pada masing-masing konsentrasi campuran. Pengaplikasian dilakukan secara rutin setiap tujuh hari sekali. Begitu juga pada kelompok kontrol pelarut, dilakukan pengaplikasian secara rutin setiap tujuh hari sekali berupa pelarut (etanol + aquades), Pertumbuhan dari tanaman kailan pada setiap kelompok tanaman diamati yang diantaranya panjang daun, lebar daun, dan tinggi tanaman kailan. Tidak hanya pertumbuhan tanaman kailan, pH dan kelembaban tanah setiap kelompok tanaman pun diamati.

3.8.1 Pengukuran Panjang Daun, Lebar Daun dan Tinggi Tanaman Kailan

Panjang daun, lebar daun dan tinggi tanaman kailan dilakukan pengukuran pertumbuhan disetiap minggunya. Pengamatan dilakukan hingga waktu panen dengan alat pengukuran pertumbuhan tanaman kailan berupa penggaris dan alat tulis.

3.8.2 Pengukuran pH dan Kelembaban Tanah

Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan pada tanah dikelompok kelompok perlakuan campuran (ekstrak daun tembelean + bionutrien S-367B), kelompok kontrol pelarut (etanol + aquades). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat pH meter analog ETP306 3in1 yang diukur setiap satu minggu sekali.

3.8.3 Hasil Panen

Hasil panen dari tanaman dicatat dan ditimbang massa yang diperoleh dari masing-masing kelompok tanaman yang diamati. Proses penimbangan tanaman kailan hasil panen menggunakan alat timbang digital. Waktu panen tanaman kailan dilakukan pada pagi hari dan saat cuaca cerah.