

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Pengambilan Sampel, Waktu, dan Tempat Penelitian

Sampel yang diambil merupakan tanaman PBT dan lokasi pengambilan sampel yaitu sekitar Margahayu Selatan Kabupaten Bandung. Sedangkan tanaman uji yang digunakan adalah tanaman padi yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB Padi) Sukamandi Subang. Penelitian berlangsung selama 12 bulan dari bulan Agustus 2013 sampai bulan Agustus 2014. Penelitian dibagi menjadi empat tahap, yaitu tahap preparasi, analisis, karakterisasi dan tahap aplikasi.

Tahap preparasi dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI Bandung. Tahap analisis dilakukan di Laboratorium Pengujian Balai Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA) Jl. Tangkuban Perahu No. 517 Bandung Barat. Tahap karakterisasi dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen (LKI) UPI Bandung. Sedangkan untuk aplikasi dilakukan di lingkungan gedung FPMIPA UPI.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

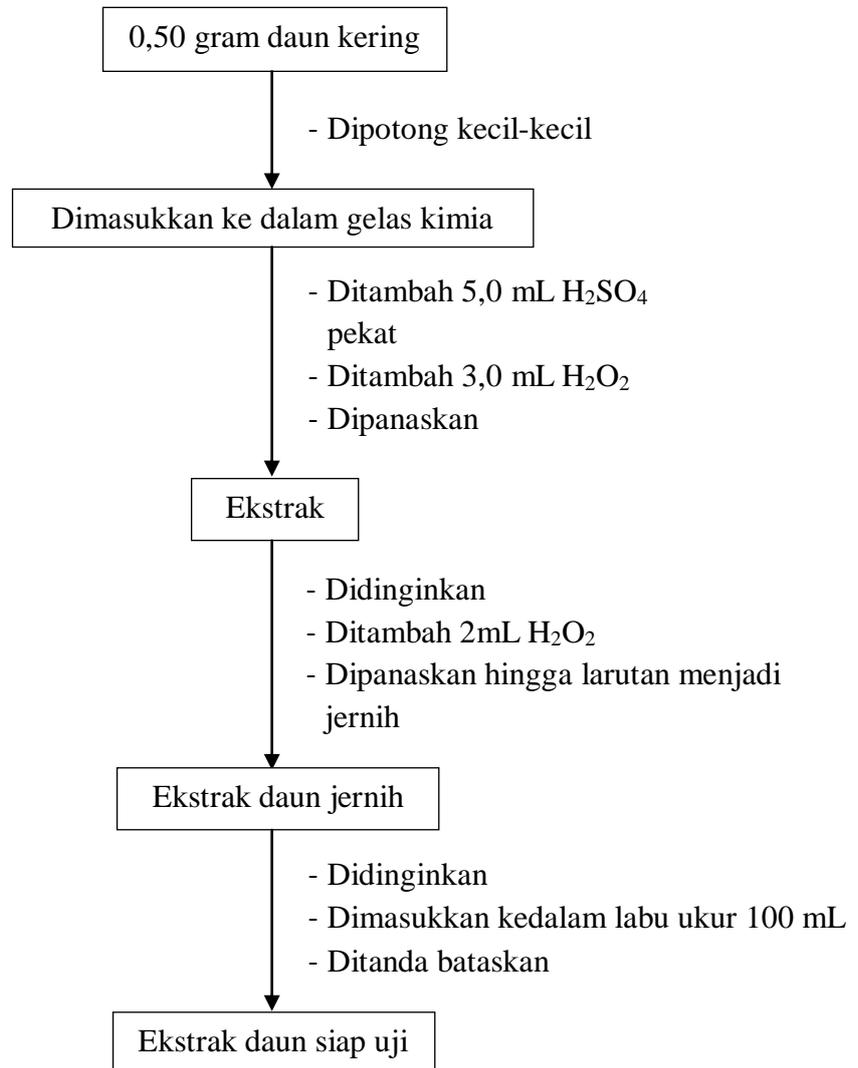
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, saringan, oven, labu kjehdal, satu alat titrasi, gunting, pisau, botol sampel, neraca analitik, pemanas listrik (*heater*), gelas ukur 250, gelas kimia (1 L), labu erlenmeyer berpenghisap, mistar, kertas label, kertas saring, spatula, corong pendek, batang pengaduk, pipet tetes, plastik wrap, botol vial 100 mL, evaporator, penyaring Buchner, pipet tetes, kaca arloji, botol semprot, , takemura *soil tester* tipe DM-15, kertas label, penggaris, meteran, aluminium *foil*, plastik *wrap*, dan plastik *ziplock* dan set alat AAS.

3.2.2 Bahan

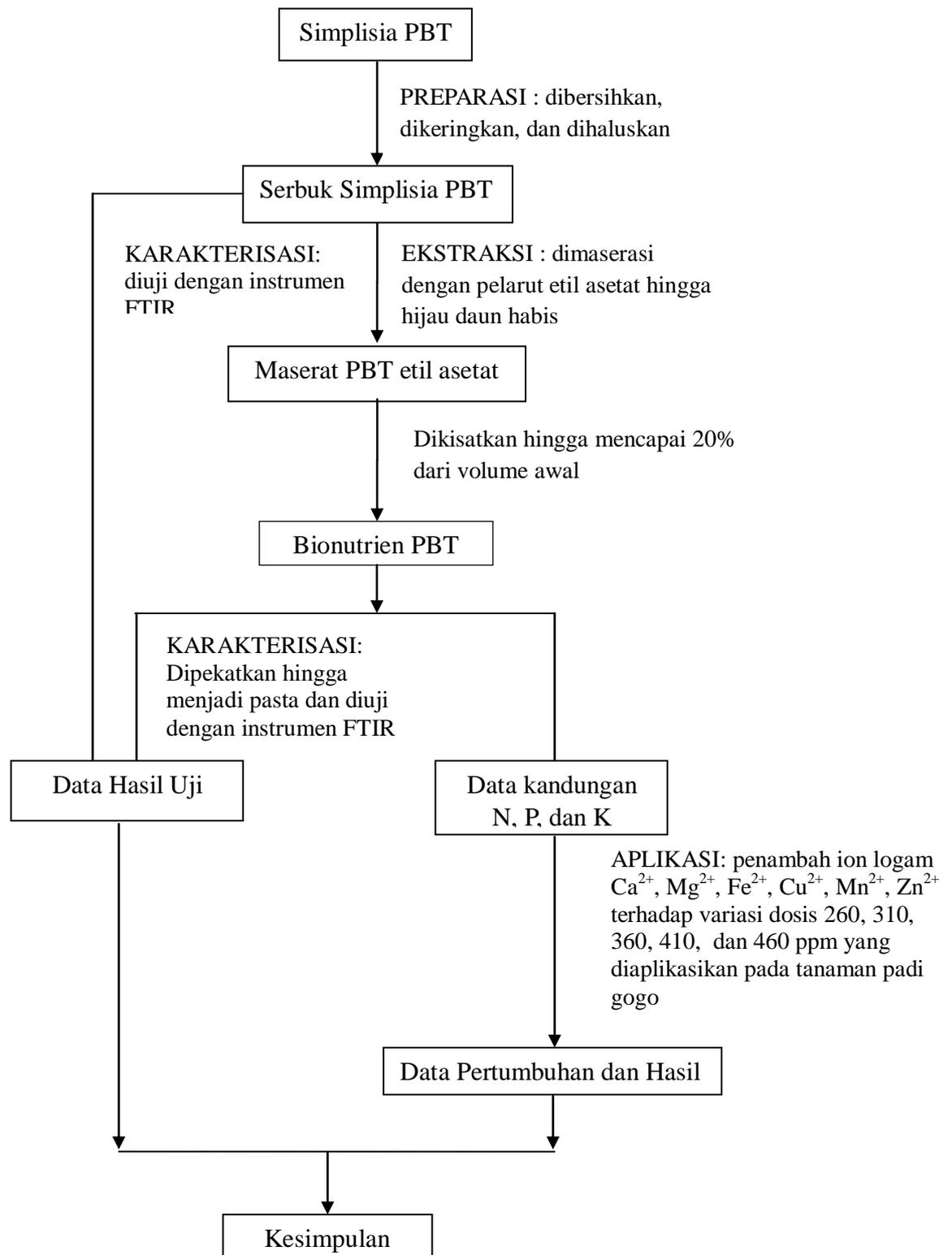
Bahan atau zat-zat kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : sampel tanaman PBT , H₂SO₄ pekat, H₂O₂, aquadest, etil asetat, Ca(NO₃)₂, MgSO₄, NH₄Fe(SO₄)₂.6H₂O, CuSO₄.5H₂O, MnSO₄.H₂O, Zn(NO₃)₂, KCl, NaH₂PO₄, pupuk KCl, pupuk TSP, pupuk urea, tanah, dan air keran.

3.3 Alur Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan menjadi enam tahap. Tahap pertama adalah uji pendahuluan, yaitu dengan cara destruksi tanaman PBT segar untuk dilakukan uji kandungan N, P, dan K. Tahap kedua adalah preparasi sampel tanaman PBT. Tahap ketiga tahap ekstraksi yaitu dengan cara mengekstraksi secara organik dengan metode maserasi menggunakan larutan etil asetat, kemudian hasil maserasi disaring dan dikisatkan sampai volume 20 % dari volume awal untuk analisis kandungan N, P, dan K. Tahap keempat dilakukan analisis N, P, dan K dari hasil ekstrak bionutrien PBT. Selanjutnya tahap kelima adalah tahap karakterisasi dengan spektroskopi FTIR. Tahap terakhir adalah aplikasi bionutrien PBT yang ditambah ion logam Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, dan Zn²⁺ terhadap tanaman padi gogo (*Oryza sativa* L.) untuk mengetahui pengaruhnya pada pertumbuhan dan hasil panen tanaman padi gogo. Untuk lebih jelasnya, alur penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada gambar 3.1 dan 3.2.



Gambar 3.1 Bagan Alur Uji Pendahuluan



Gambar 3.2 Bagan Alur Penelitian

3.3.1 Preparasi Sampel Simplisia PBT

Sampel bionutrien yang digunakan adalah simplisia PBT. Simplisia PBT terlebih dahulu dibersihkan dari pengotor seperti debu dan tanah. Setelah itu, daun dikeringkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari selama ± 5 minggu (hingga benar-benar kering). Selanjutnya simplisia PBT dihaluskan menjadi serbuk kemudian diayak untuk memperoleh serbuk yang berukuran homogen dan halus sebelum diekstraksi.

3.3.2 Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan dilakukan proses destruksi terhadap daun yang berasal dari tanaman PBT. Sebanyak 0,50 gram daun kering dimasukkan kedalam gelas kimia 100 mL kemudian ditambahkan 2,0 mL H_2SO_4 pekat dan 3,0 mL H_2O_2 . Kemudian dipanaskan hingga daun terlarut. Setelah daun terlarut, dinginkan ekstrak daun kemudian ditambahkan 2mL H_2O_2 dan dipanaskan kembali hingga ekstrak menjadi jernih. Setelah ekstrak jernih, dinginkan ekstrak dan pindahkan dalam labu ukur 100mL kemudian tanda bataskan.

3.3.3 Optimasi Massa Simplisia PBT

Tahapan ini dilakukan ketika saat larutan mengekstraksi bionutrien dari tanaman PBT dengan cara memvariasikan massa tanaman PBT dengan menggunakan variabel pelarut tetap. Variasi massanya antara lain: 20, 40, 60, 80, dan 100 gram. Perbandingan massa tanaman dengan pelarut yaitu 1:5 setiap harinya. Waktu yang digunakan dalam proses maserasi yaitu sampai warna larutan tidak berubah warna.

3.3.4 Pengukuran Kadar Nitrogen (N)

Metode Kjeldhal merupakan salah satu cara yang dapat digunakan dalam menentukan kadar nitrogen (N) yang terdapat dalam suatu sampel. Adapun prinsip dasar dalam metode Kjeldahl meliputi destruksi, destilasi dan titrasi. Langkah kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut : mula-mula 2mL

destruat dimasukkan kedalam labu Kjedhl 300mL lalu ditambahkan larutan buffer borat dan NaOH 6N sampai pH 9,5 kemudian dididihkan (destilasi) dengan menggunakan alat Kjeltac 2200 sampai volumenya berkurang. Hal ini dilakukan supaya semua amonia menguap.

Hasil destilasi ditampung ke dalam Labu Erlenmeyer yang berisi 20mL asam borat yang telah ditambahkan indikator hijau brom kresol (HBK) dan metil merah (MM). Kemudian dititrasi dengan H_2SO_4 0,02 N menggunakan alat automatic titrimetri III Fisher. Volume H_2SO_4 yang digunakan sebanding dengan kadar N yang terkandung dalam destruat.

3.3.5 Pengukuran Kadar Fosfor (P)

Pada pengujian kadar fosfor dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV. Fitrat sebanyak 0,1 mL dipipet kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 10 mL pereaksi (H_2SO_4 5N, larutan molibdat 4%, asam askorbat dan K-antiloil tartat), larutan diaduk dan didiamkan selama 20 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Scunco SUV 2120 dengan menggunakan larutan deret standar kalium dihidrogen fosfat: 0-10-20-30-40-50 ppm. Kemudian presentase fosfor dapat ditentukan dengan menggunakan absorbansi sampel terhadap kurva kalibrasi fosfor maka didapatkan kadar fosfor dalam destruat.

3.3.6 Pengukuran Kadar Kalium (K)

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk penentuan kadar kalium (K) pada penelitian ini menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS). Pada penentuan kalium dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom, langkah kerja yang dilakukan adalah: 0,5 mL destruat dimasukkan kedalam tabung reaksi yang masing-masing berisi 5 mL larutan deret standar kalium nitrat (0; 50; 100; 150; 200; dan 250 ppm) dan 4,5 mL aquades pada masing-masing tabung reaksi yang telah diisi destruat selanjutnya dilakukan

pengukuran kalium dengan spektrofotometer serapan atom, sehingga didapatkan kadar kalium destruat.

3.3.7 Karakterisasi Simplisia PBT serta Bionutrien PBT

Karakterisasi yang dilakukan terhadap sampel adalah dengan menggunakan spektroskopi FTIR. Langkah kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut:

3.3.7.1 Karakterisasi Simplisia PBT dengan Spektroskopi FTIR

Simplisia PBT dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang ada pada senyawa dalam simplisia PBT. Sebelum bionutrien dikarakterisasi, simplisia PBT dikeringkan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Selanjutnya, masing-masing simplisia dihaluskan hingga berbentuk serbuk. Setelah itu, masing-masing serbuk dicampurkan dengan KBr murni. Setelah dicampurkan, masing-masing campuran ini dibentuk menjadi pellet. Kemudian, Pellet KBr-PBT dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Alat spektroskopi FTIR yang digunakan adalah FT-IR Shimadzu 8400.

3.3.7.2 Karakterisasi Bionutrien PBT dengan Spektroskopi FTIR

Karakterisasi gugus fungsi yang ada pada senyawa dalam bionutrien PBT dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Sebelum kedua bionutrien ini dikarakterisasi, bionutrien PBT masing-masing dipekatkan hingga berbentuk pasta. Selanjutnya, masing-masing bionutrien dicampurkan dengan KBr murni. Setelah itu, masing-masing campuran dibentuk menjadi pellet. Kemudian, Pellet KBr-Bionutrien PBT dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR. Alat spektroskopi FTIR yang digunakan adalah FT-IR Shimadzu 8400.

3.3.8 Tahap Aplikasi

Tahap aplikasi dilakukan pada bulan Maret sampai dengan Juli 2014. Aplikasi bionutrien PBT yang ditambah ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} ,

Mn^{2+} , dan Zn^{2+} terhadap tanaman padi gogo (*Oryza sativa* L.) bertujuan untuk mengetahui pengaruhnya pada pertumbuhan dan hasil panen tanaman padi gogo. Tahap aplikasi ini dilakukan di Kebun Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI.

3.3.8.1 Tahap Persiapan Aplikasi Bionutrien PBT dengan Penambahan Ion Logam pada Tanaman Padi Gogo

Benih padi gogo yang digunakan adalah padi gogo varietas Towuti. Tahap persiapan benih padi gogo untuk aplikasi meliputi tahap penyortiran, persiapan media tanam, dan penanaman. Sebelum pembenihan, biji padi disortir terlebih dahulu untuk memperoleh biji padi yang memiliki kualitas baik. Penyortiran biji padi tersebut dilakukan dengan cara merendam biji padi di dalam air selama ± 12 jam. Biji yang digunakan adalah biji yang tenggelam karena mengindikasikan kualitas biji yang baik. Setelah itu, biji padi dikeringkan untuk siap ditanam pada media tanam.

Media tanam yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu untuk penanaman. Media yang digunakan untuk penanaman adalah tanah. Media tanam tersebut dimasukkan kedalam pot. Kemudian biji padi yang telah disortir dimasukkan kedalam media tanam sebanyak 5-9 biji dengan kedalaman 3 cm. Setelah 1 minggu biji tumbuh menjadi bibit padi, dilakukan pemilihan bibit padi. Pemilihan bibit padi yang baik dengan cara dipilih satu bibit padi yang memiliki tinggi relatif seragam.

3.3.8.2 Tahap Aplikasi Bionutrien PBT dengan Penambahan Ion Logam pada Tanaman Padi Gogo

Pada tahap aplikasi, dilakukan pengelompokkan tanaman yang masing-masing terdiri dari tiga tanaman. Setiap kelompok tanaman diberi perlakuan bionutrien PBT_1 dan PBT_2 dengan variasi dosis yaitu 260, 310, 360, 410, dan 460 ppm. Setiap dosis bionutrien ini ditambahkan ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} . Ke-enam ion logam ini dibuat dalam bentuk

larutan induk senyawa logam yang mudah larut dalam air. Setiap larutan induk senyawa logam ditambahkan pada setiap variasi dosis bionutrien PBT konsentrasi seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Ion Logam yang Ditambahkan pada Setiap Dosis Bionutrien PBT Saat Aplikasi

Ion Logam	Senyawa Induk	Massa yang ditimbang (gram)	Volume (mL)	Konsentrasi untuk aplikasi (mg/L)
Ca ²⁺	Ca(NO ₃) ₂	1,0250	250	1
Mg ²⁺	MgSO ₄	1,2377	250	2
Cu ²⁺	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,9610	250	1
Fe ²⁺	(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ .6H ₂ O	0,1750	100	2
Mn ²⁺	MnSO ₄ .H ₂ O	0,7681	250	1
Zn ²⁺	Zn(NO ₃) ₂	0,7242	250	1

Untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam, penambahan kalsium, fosfor dan ion logam terhadap bionutrien PBT pada pertumbuhan dan hasil tanaman padi, maka dibuat 12 kelompok tanaman yang diberi perlakuan yang berbeda. Perlakuan yang berbeda terhadap 12 kelompok tanaman padi ditunjukkan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Pembagian kelompok tanaman dan perlakuan

Kelompok Tanaman	Jenis Treatment	
T1	Bionutrien PBT ₁ 260 ppm	Ca ²⁺ 1 ppm
T2	Bionutrien PBT ₁ 310 ppm	
T3	Bionutrien PBT ₁ 360 ppm	Mg ²⁺ 2 ppm
T4	Bionutrien PBT ₁ 410 ppm	Fe ²⁺ 2 ppm
T5	Bionutrien PBT ₁ 460 ppm	Cu ²⁺ 1 ppm
T6	Bionutrien PBT ₂ 260 ppm	Mn ²⁺ 1 ppm
T7	Bionutrien PBT ₂ 310 ppm	
T8	Bionutrien PBT ₂ 360 ppm	Zn ²⁺ 1 ppm
T9	Bionutrien PBT ₂ 410 ppm	

T10	Bionutrien PBT ₂ 460 ppm
T11	Blanko etil asetat teknis dosis 1%
T12	Kontrol: KCl, Urea, TSP

Kelompok tanaman yang diberi blanko etil asetat bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut yang digunakan. Sedangkan kelompok tanaman kontrol yang diberi perlakuan pupuk KCl, urea, TSP dan pestisida “Regent” bertujuan untuk mengetahui pola pertumbuhan tanaman yang diberikan perlakuan seperti oleh petani. Tanaman yang diberi perlakuan bionutrien PBT dan blanko etil asetat tidak diberi pestisida untuk melihat ketahanan tanaman terhadap penyakit dan hama.

Tanaman padi gogo mulai diberikan perlakuan saat berumur 2 minggu setelah tanam (MST). Pemupukan bionutrien pada tanaman dilakukan dengan selang waktu satu minggu sekali dengan cara disemprot dan disiram di pagi hari. Pengamatan terhadap tanaman dilakukan setiap minggu hingga tanaman dipanen, variabel pengamatan terhadap tanaman ditunjukkan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Variabel dan Metode Pengamatan

No	Variabel	Metode Pengamatan
1.	Tinggi Tanaman	Pengukuran tinggi tanaman padi dilakukan setiap satu minggu sekali. Pengukuran pada tanaman padi dilakukan pada minggu ke-1 setelah diberi bionutrien. Pengukuran pertumbuhan tinggi tanaman dilakukan dengan menggunakan alat meteran.
2.	Jumlah anakan	Pengukuran tinggi tanaman padi dilakukan setiap satu minggu sekali. Pengukuran pada tanaman padi dilakukan pada minggu ke-1 setelah diberi bionutrien. Jumlah anakan dihitung per rumpun dari tanaman sampel yang telah ditetapkan.
3.	Jumlah Anakan Produktif	Jumlah anakan produktif dihitung pada saat panen, yang dihitung hanya anakan yang memiliki malai. Jumlah anakan dihitung per rumpun dari tanaman sampel yang telah ditetapkan.
4.	Bobot Basah Gabah per Dosis	Pengamatan bobot basah gabah per dosis dihitung pada saat panen. Gabah dipisahkan dari malainya.
5.	Bobot Kering Gabah per Dosis	Pengamatan bobot kering gabah per dosis dihitung pada saat panen. Gabah dipisahkan dari malainya dan kemudian dikeringkan dengan cara dijemur.
6.	Bobot 1000 butir	Pengamatan bobot per 1000 butir dilakukan dengan cara

	gabah kering	memisahkan 1000 butir gabah kering dari setiap dosis kemudian dilakukan penimbangan
--	--------------	---