

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada rentang waktu Maret 2025 hingga Juli 2025. Penelitian ini terdiri dari tahap ekstraksi daun kelor, tahap aplikasi campuran ekstrak daun kelor dan bionutrien S-367B, tahap pengamatan pertumbuhan tanaman brokoli dan tahap karakterisasi ekstrak daun kelor. Tahapan ekstraksi dan karakterisasi daun kelor dilakukan di Laboratorium Riset Kimia FPMIPA UPI, sedangkan untuk aplikasi komposit ekstrak daun kelor dan bionutrien S-367B serta pengamatan pertumbuhan tanaman brokoli dilakukan di perkebunan yang berada di daerah Cigugur Girang, Kecamatan Parongpong, Kabupaten Bandung Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain wadah plastik bertutup (5L), gelas kimia (100 mL, 600 mL, 1000 mL), gelas ukur (10 mL, 100 mL dan 1000 mL), labu ukur (10 mL, 100 mL, dan 500 mL), labu dasar bulat 500 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume 10 mL, pipet ukur, mikropipet, pipet tetes, corong kaca, botol timbang, batang pengaduk, spatula, botol semprot, neraca analitik, set alat *rotary evaporator*, pompa, blender, kertas saring, spatula, botol agro/plastik, alat semprot pestisida 2 L, *chiller*, pH meter, spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer Fourier-Transform Infrared (FTIR).

3.2.2 Bahan

Pada penelitian ini digunakan sampel daun kelor segar (± 3 kg) yang berasal dari Kecamatan Lembang, Bandung Barat yang dikumpulkan pada bulan Maret 2025. Bahan kimia yang digunakan antara lain pelarut etanol teknis 96% dan aquades. Adapun reagen yang digunakan untuk Uji Total *Phenolic*

Syifa Aulia Rahmawati, 2025

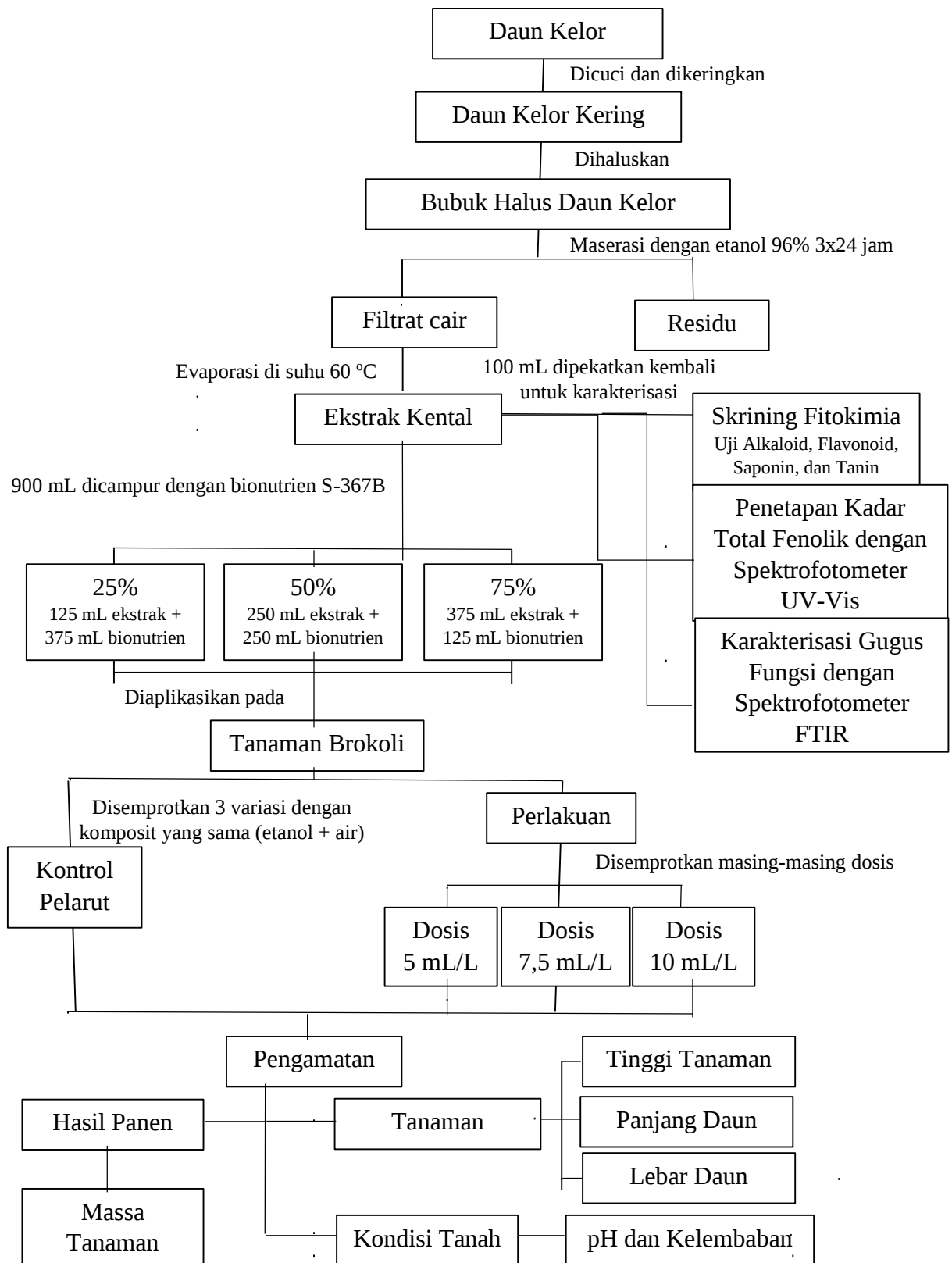
APLIKASI KOMPOSIT BIOPESTISIDA EKSTRAK DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*. L) DENGAN BIONUTRIEN S-367B PADA TANAMAN BROKOLI (*BRASSICA OLERACEA*. L)

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

Compound meliputi larutan asam galat, Fenol *Folin-Ciocalteu* 10%, dan Natrium Karbonat (Na_2CO_3). Selain itu, pereaksi yang digunakan untuk uji fitokimia antara lain, pereaksi Dragendroff, ferri klorida (FeCl_2), serbuk magnesium (Mg), dan HCl pekat, serta bahan yang digunakan untuk pembuatan komposit adalah bionutrien S-367B dan air.

3.3 Bagan Alir dan Tahap Penelitian

Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahapan, yaitu ekstraksi daun kelor, karakterisasi ekstrak daun kelor, aplikasi campuran ekstrak daun kelor dan bionutrien S-367B, serta tahap pengamatan pertumbuhan tanaman brokoli. Tahap ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol teknis dan penguapan dengan *rotary evaporator*. Tahap karakterisasi berupa uji fitokimia, uji fenolik menggunakan UV-Vis dan uji gugus fungsi menggunakan FTIR. Pada tahap aplikasi, divariasikan dosis campuran ekstrak daun kelor dan bionutrien S-367B yaitu kadar 25%, 50%, dan 75% dengan masing-masing kadar akan diaplikasikan pada dosis 5 mL, 7,5 mL, dan 10 mL yang kemudian diaplikasikan ke tanaman brokoli, serta pengaplikasian aquades dan etanol kepada tanaman kontrol pelarut. Pada tahap pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman, panjang daun, lebar daun, dan massa hasil panen serta kondisi lingkungan seperti pH dan kelembaban tanah seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

Syifa Aulia Rat

APLIKASI KOMPOSIT BIOPESTISIDA EKSTRAK DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA. L*) DENGAN BIONUTRIEN S-367B PADA TANAMAN BROKOLI (*BRASSICA OLERACEA. L*)

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

3.4 Tahapan Penelitian

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

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Pada tahap ini, daun kelor segar, berwarna hijau dan utuh sebanyak 3.000 gram dicuci dan dikeringkan pada suhu ruang selama 14 hari. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi, dimana daun kelor yang telah menjadi serbuk halus direndam dalam pelarut etanol teknis 96% selama 3 x 24 jam. Dilakukan penyaringan pada ekstrak hasil maserasi, lalu filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C hingga diperoleh 1000 mL ekstrak kental.

Selanjutnya, sebanyak 100 mL ekstrak kental daun kelor dipekatkan kembali menggunakan *rotary evaporator* untuk selanjutnya dilakukan karakterisasi berupa uji fitokimia, kadar total fenol menggunakan UV-Vis, dan analisis gugus fungsi menggunakan FTIR. Karakterisasi ini digunakan untuk menentukan golongan dari senyawa yang terdapat pada daun kelor dan diduga aktif berpotensi sebagai biopestisida. Kemudian, sebanyak 900 mL ekstrak kental daun kelor digunakan untuk membuat komposit biopestisida dan bionutrien dengan berbagai variasi konsentrasi.

3.4.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kelor

Analisis fitokimia dilakukan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin.

3.4.2.1 Uji Alkaloid

Ekstrak kental daun kelor ditambahkan 0,1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 hingga 3 tetes pereaksi Dragendoff. Terbentuknya endapan berwarna merah jingga menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.2.2 Uji Flavonoid

Ekstrak kental daun kelor ditambahkan sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan sedikit serbuk 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 kelor ditambahkan sebanyak 0,1 mL 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 kelor ditambahkan sebanyak 0,1 mL dan 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 et al., 2012)

3.4.3 Penetapan Kadar Total Fenol dengan Metode Folin-Ciocalteu

Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

1) Pembuatan Pereaksi Fenol Folin-Ciocalteu 10%

Pereaksi Fenol Folin-Ciocalteu 10% dibuat dengan mengencerkan 10 mL pereaksi ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas, lalu dihomogenkan.

2) Pembuatan Larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 7,5%

Larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 7,5% dibuat dengan melarutkan $37,50 \pm 0,01$ gram Na_2CO_3 anhidrat ke dalam 500 mL labu ukur dan ditambahkan aquades lalu dihomogenkan.

3) Pembuatan Larutan Baku Standar Asam Galat 1000 ppm

Larutan baku standar asam galat dibuat dengan melarutkan 0,1 gr asam galat monohidrat dengan aquades ke dalam labu ukur 100 mL.

4) Pembuatan Larutan Standar Asam Galat 100 ppm

Syifa Aulia Rahmawati, 2025

APLIKASI KOMPOSIT BIOPESTISIDA EKSTRAK DAUN KELOR (MORINGA OLEIFERA. L) DENGAN BIONUTRIEN S-367B PADA TANAMAN BROKOLI (BRASSICA OLERACEA. L)

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

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.

5) Pembuatan Deret Standar 10, 20, 30, 40, 50 ppm

Larutan deret standar asam galat dibuat dengan memipet 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL larutan baku 100 ppm, lalu diencerkan hingga 10 mL dengan aquades untuk mendapatkan konsentrasi (10, 20, 30, 40, dan 50) ppm.

Masing masing larutan standar asam galat diambil 0,1 mL ke dalam tabung reaksi dan dibuat juga larutan blanko (0,1 mL aquades). Ke dalam masing- masing tabung (standar dan blanko) ditambahkan 5 mL pereaksi Fenol Folin-Ciocalteu, didiamkan 8 menit, lalu ditambahkan 4 mL larutan natrium karbonat, dan didiamkan 50 menit. Absorbansi diukur pada 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kupina et al., 2019)

6) Penentuan kadar sampel

Sampel kering ekstrak daun kelor ditimbang sebesar 0.01 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas. Diambil 0,1 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 50 menit. Absorbansi sampel diukur pada 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kupina et al., 2019)

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).

Kadar total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier dari asam galat, $y = ax + b$. Kandungan total fenol dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (Gallic Acid Equivalent), yaitu jumlah kesetaraan asam galat dalam 1 gram sampel.

3.4.4 Karakterisasi Gugus Fungsi dengan Spektrofotometer FTIR

Sampel ekstrak kental daun kelor ditimbang sebanyak ± 1 gr dan dimasukkan ke dalam botol timbang tertutup dan diberi label, lalu dilakukan uji FTIR. Prinsip kerja dari spektrofotometer FTIR didasarkan pada penyerapan dan pemancaran radiasi inframerah dari suatu zat padat, cair, atau gas. Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi khas yang terdapat dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*. L). Sampel dipindai pada rentang bilangan gelombang 4000 hingga 400 cm^{-1} dan akan diperoleh nilai puncak dari hasil serapan FTIR (Maheshwari et al., 2023).

3.4.5 Penomoran Sampel

Terdapat kelompok perlakuan dan kontrol pelarut untuk pengamatan tanaman brokoli yang dilakukan. Kelompok perlakuan diberikan komposit ekstrak daun kelor dan bionutrien S-367B dengan jumlah tanaman brokoli sebanyak 108 tanaman yang dibagi kepada 9 variasi dosis komposit dengan masing-masing dosis komposit memiliki 12 tanaman. Kontrol pelarut diberikan campuran larutan etanol 96% dan air dengan jumlah tanaman brokoli sebanyak 27 tanaman yang dibagi kepada 9 variasi dosis dengan masing-masing dosis kontrol pelarut memiliki 3 tanaman. Untuk kebutuhan data penelitian, hanya diamati 3 tanaman per variasi konsentrasi kelompok perlakuan dan kontrol pelarut.

Tanaman Perlakuan Biopestisida dan Bionutrien											
25%			50%			75%					
5mL	7.5 mL	10mL	5 mL	7.5 mL	10 mL	5 mL	7.5 mL	10 mL			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72
73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108
109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132
133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144
145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156
157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168
169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204
205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216
217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228
229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240
241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252
253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264
265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276
277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288
289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300
301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312
313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324
325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336
337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348
349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360
361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372
373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384
385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396
397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408
409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420
421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432
433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444
445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456
457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468
469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480
481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492
493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504
505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516
517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528
529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540
541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552
553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564
565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576
577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588
589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600
601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612
613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624
625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636
637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648
649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660
661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672
673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684
685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696
697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708
709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720
721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732
733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744
745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756
757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768
769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780
781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792
793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804
805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816
817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828
829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840
841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852
853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864
865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876
877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888
889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900
901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912
913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924
925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936
937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948
949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960
961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972
973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984
985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996
997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008
1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020
1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032
1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044
1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056
1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068
1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080
1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092
1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104
1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116
1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128
1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140
1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152
1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164
1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176
1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188
1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200
1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212
1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224
1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236
1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248
1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260
1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272
1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284
1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296
1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308
1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320
1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332
1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344
1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356
1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368
1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375					

Masing masing konsentrasi, disemprotkan pada tanaman brokoli dengan dosis 5 mL; 7,5 mL; dan 10 mL yang dilarutkan dalam 1 L air. Tanaman brokoli kontrol hanya diberikan aquades dan etanol sesuai dengan variasi komposit yaitu:

- 1) 25% (125 mL etanol + 375 mL air)
- 2) 50% (250 mL etanol + 250 mL air)
- 3) 75% (375 mL etanol + 125 mL air)

Penyemprotan dilakukan setiap seminggu sekali hingga panen pada pagi hari. Pengamatan dilakukan terhadap tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun, lalu pH tanah, kelembaban tanah dan juga massa hasil panen.

a) Pengukuran Panjang Daun dan Tinggi Tanaman Brokoli

Panjang daun, lebar daun, dan tinggi tanaman brokoli dilakukan pengukuran pertumbuhan disetiap minggunya. Pengamatan dilakukan hingga waktu panen dengan alat pengukuran pertumbuhan tanaman brokoli berupa penggaris dan alat tulis. Pengukuran dilakukan hanya pada 3 tanaman di setiap masing - masing dosis tanaman perlakuan dan kontrol.

b) Pengukuran pH dan Kelembaban Tanah

Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan pada tanah kelompok-kelompok perlakuan komposit (ekstrak daun kelor + bionutrien S-367B) dan kelompok kontrol pelarut (etanol + aquades). Pengukuran dilakukan menggunakan alat pH meter analog ETP306 3in1 yang diukur setiap seminggu sekali.

c) Hasil Panen

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