

BAB III : METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian mulai dilakukan pada bulan Maret 2025 hingga Juli 2025. Penelitian ini terdiri dari empat tahapan, yaitu tahap ekstraksi daun kemangi, tahap analisis ekstrak daun kemangi, tahap aplikasi komposit ekstrak daun kemangi dan bionutrien S-367B pada tanaman brokoli, serta tahap pengamatan pertumbuhan dan hasil panen tanaman brokoli. Tahapan ekstraksi dan analisis ekstrak daun kemangi dilakukan di Laboratorium Riset Kimia FPMIPA UPI, sedangkan tahapan aplikasi komposit ekstrak daun kemangi dan bionutrien S-367B pada tanaman brokoli, serta tahapan pengamatan pertumbuhan tanaman hingga masa panen tanaman brokoli berlokasi di perkebunan yang berada di daerah Cigugur Girang, Kecamatan Parongpong, Kabupaten Bandung Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Pada penelitian ini, peralatan yang digunakan meliputi blender, corong kaca, gelas kimia (50 mL, 100 mL, 500 mL, dan 1 L), statif dan klem, batang pengaduk, kertas saring, gunting, penggaris, tisu, gelas ukur (100 mL dan 1 L), set alat *rotary vacuum evaporator*, labu dasar bulat 500 mL, spatula, neraca analitik, botol vial, botol semprot, alat penyiram, *syringe*, alat ukur pH dan kelembaban tanah, mikropipet 1000 μ L, buret 100 mL, rak tabung reaksi, tabung reaksi, labu ukur (10 mL, 100 mL, 1 L), *chiller*, kuvet, spektrofotometer UV-Vis UV-2700, spektrofotometer *Fourier-Transform Infrared* (FTIR).

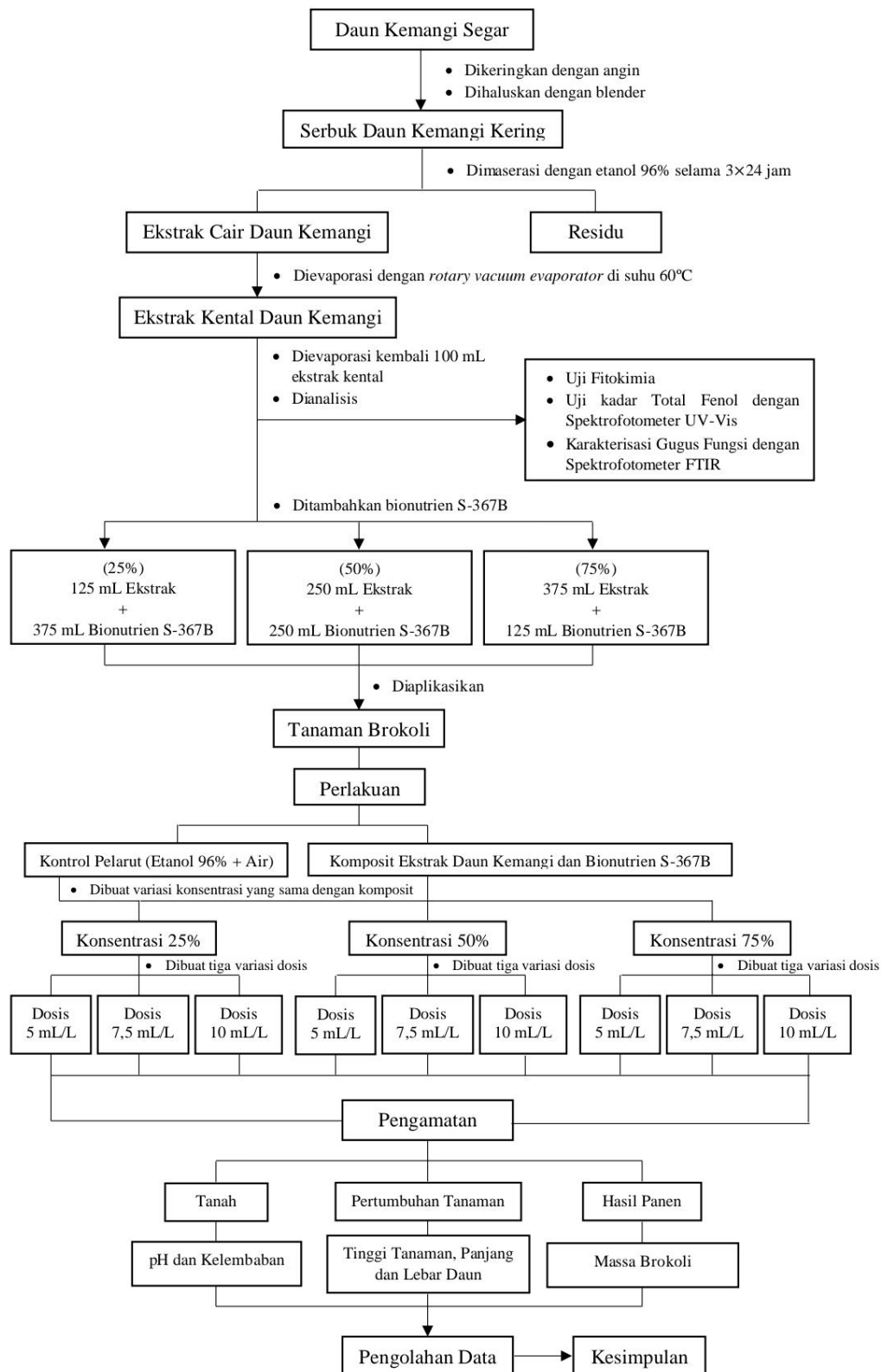
3.2.2 Bahan

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa daun kemangi segar yang diperoleh dari Daerah Cibodas, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat pada tanggal 9 Maret 2025 sebanyak $\pm$ 5 kg. Bahan kimia yang digunakan sebagai pelarut, yaitu etanol 96% (teknis) dan aquades.

Adapun *reagen* yang digunakan pada Uji *Total Phenolic Compound* meliputi larutan Asam Galat, *Follin-Ciocalteu* 10%, Natrium karbonat (Na_2CO_3) 7%. Selain itu pereaksi yang digunakan pada uji fitokimia antara lain, pereaksi dragendoff, pita magnesium (Mg), larutan HCl pekat, dan larutan FeCl_3 5%. Bahan lainnya, yaitu bionutrien S-367B dan air.

3.3. Bagan Alir dan Tahap Penelitian

Penelitian ini terbagi menjadi empat tahapan, yaitu tahap ekstraksi dari daun kemangi, tahap analisis ekstrak daun kemangi meliputi uji fitokimia, uji total fenolik, dan karakterisasi gugus fungsi dengan spektrofotometri FTIR, tahap aplikasi komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B, tahap pengamatan pertumbuhan tanaman brokoli. Pada tahap ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3×24 jam dan penguapan dengan *rotatory vacuum evaporator*. Pada tahap aplikasi, divariasikan konsentrasi komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B menjadi tiga konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 75% dengan masing-masing konsentrasi akan diaplikasikan pada tanaman brokoli dengan dosis 5 mL; 7,5 mL; dan 10 mL, sedangkan pada tanaman brokoli perlakuan kontrol pelarut diaplikasikan campuran etanol dan air. Pada tahap pengamatan pertumbuhan tanaman brokoli dilakukan pengukuran terhadap panjang daun, lebar daun, tinggi tanaman, pH dan kelembaban tanah, serta massa hasil panen. Pada tahap analisis ekstrak daun kemangi melibatkan uji fitokimia, uji kadar total fenol menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan spektrofotometer UV-Vis, dan analisis gugus fungsi dengan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*). Bagan alir tahapan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3. 1**.



Gambar 3. 1 Bagan Alir Tahapan Penelitian

3.3.1 Tahap Ekstraksi Daun Kemangi

Lokasi daun kemangi yang akan diekstraksi berasal dari Daerah Cibodas, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat. Sebanyak $\pm$ 5 kg daun kemangi segar dicuci dan dikeringkan terlebih dahulu dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang selama 15 hari hingga daun berubah warna menjadi coklat dan bentuknya sedikit mengkerut. Daun kemangi yang sudah kering, kemudian dipilih yang memiliki kualitas baik dan dihaluskan dengan blender hingga diperoleh $\pm$ 500 gr serbuk daun kemangi. Serbuk daun kemangi kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 L (per hari) di dalam wadah selama 3×24 jam. Filtrat hasil maserasi dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C hingga diperoleh 1 L ekstrak daun kemangi. Sebanyak 900 mL ekstrak daun kemangi kemudian bagi menjadi 3 konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 75% dalam 1000 mL yang dikompositkan dengan bionutrien S-367B. Sedangkan, 100 mL lainnya dievaporasi kembali menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga kental, lalu ditimbang.

3.3.2 Tahap Analisis Ekstrak Daun Kemangi

3.3.2.1 Uji Fitokimia

Ekstrak kental daun kemangi yang telah melewati proses maserasi dilakukan analisis berupa uji fitokimia. Analisis dilakukan terhadap keberadaan senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin. Prosedur uji fitokimia ini mengacu pada penelitian (Chen et al., 2022), yaitu:

a. Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak daun kemangi dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 hingga 5 tetes reagen Dragendoff. Jika terbentuk endapan merah oranye, maka terdapat senyawa alkaloid pada sampel.

b. Flavonoid

Pada 1 mL ekstrak daun kemangi ditambahkan sedikit pita magnesium. Kemudian, dimasukkan HCl pekat setetes demi tetes hingga terjadi perubahan warna merah tua yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

c. Saponin

Sekitar 1 mL ekstrak daun kemangi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL akuades, lalu kocok dengan kuat. Buih yang bertahan selama ± 15 menit menunjukkan adanya senyawa saponin.

d. Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak daun kemangi dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 hingga 3 tetes larutan FeCl_3 5%. Perubahan warna hijau kehitaman atau kebiruan menunjukkan adanya senyawa tanin.

3.3.2.2 Penentuan Kadar Total Fenol dengan Spektrofotometer UV-Vis

Penentuan konsentrasi gugus hidroksil fenolik dalam ekstrak tanaman dapat dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prinsip metode ini, adanya kompleks berwarna biru yang terjadi akibat reaksi senyawa fenolik yang terdapat pada sampel dengan reagen *Folin-Ciocalteu* setelah penambahan natrium karbonat. Intensitas warna biru sebanding dengan jumlah senyawa fenolik reaktif dalam sampel (Kupina et al., 2019). Kandungan total fenol dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*), yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam 1 gram sampel (Gheldof et al., 2002). Kadar total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier

dari asam galat, $y = ax + b$. Tahapasn pengujian kadar total fenol, sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan baku standar 1000 ppm

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

2. Pembuatan 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 ke dalam labu ukur 10 mL.

Hasil deret standar dipipet masing masing 0.1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda, serta siapkan 1 mL aquades ke dalam tabung reaksi lain untuk blanko. Sebanyak 5 mL pereaksi *Follin-Ciocalteu* ditambahkan lalu dikocok hingga homogen, setelah 8 menit dilanjutkan dengan penambahan pereaksi natrium karbonat (Na_2CO_3) 7,5% sebanyak 4 mL. Kemudian diamkan pada suhu ruang selama 1 jam.

4. Penentuan kadar sampel

Sampel ekstrak daun kemangi sebanyak 0,1 mL 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 4 mL. Diamkan pada suhu ruang selama 1 jam.

Diukur absorbansi larutan deret standar asam galat terlebih dahulu untuk mengetahui panjang gelombang yang sebenarnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Setelah mendapatkan panjang gelombang pada pengukuran larutan deret standar asam galat, kemudian ukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang hasil pengukuran hingga diketahui persamaan kurva dan nilai regresi $>0,9900$.

Spektrofotometri UV merupakan suatu teknik analisis spektroskopi yang menggunakan sumber cahaya untuk menerangi sampel dengan cahaya melintasi UV hingga rentang panjang gelombang tampak (biasanya 190–900 nm). Instrumen kemudian mengukur cahaya yang diserap, ditransmisikan, atau dipantulkan oleh sampel pada setiap panjang gelombang (Agilent Technologies, 2021).

3.3.2.3 Karakteristik Gugus Fungsi dengan Spektrofotometer FTIR

Penentuan gugus fungsi ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dilakukan 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 atau transmisi energi tertentu (Nandiyanto et al., 2023). Hasil

analisis gugus fungsi FTIR ditampilkan dalam bentuk grafik atau kurva transmisi relatif (%) terhadap bilangan gelombang (cm^{-1}). Puncak grafik tersebut mewakili ikatan molekul yang ditemukan dalam sampel ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*).

3.3.3 Tahap Aplikasi Pada Tanaman Brokoli

3.3.3.1 Variasi Konsentrasi dan Dosis

Komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B diaplikasikan dengan cara disemprotkan pada bagian atas dan bawah daun tanaman brokoli setiap satu minggu sekali di pagi hari. Pada tanaman brokoli kelompok perlakuan komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B dibuat dosis yang bervariasi, yaitu 5 mL/L; 7,5 mL/L; dan 10 mL/L. Setiap dosis terdiri dari variasi konsentrasi sebagai berikut:

1. Komposit ekstrak daun kemangi dan bionutrien S-367B 25%, terdiri dari 125 mL ekstrak daun kemangi dan 375 mL bionutrien S-367B
2. Komposit ekstrak daun kemangi dan bionutrien S-367B 50%, terdiri dari 250 mL ekstrak daun kemangi dan 250 mL bionutrien S-367B
3. Komposit ekstrak daun kemangi dan bionutrien S-367B 75%, terdiri dari 375 mL ekstrak daun kemangi dan 125 mL bionutrien S-367B

Pada penelitian ini digunakan perlakuan kontrol pelarut sebagai variabel kontrol. Tanaman brokoli kontrol pelarut diberi perlakuan dengan memvariasikan konsentrasi dan dosis yang sama dengan perlakuan komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B, tetapi berisi campuran etanol 96% dan air.

3.3.3.2 Penomoran Sampel Tanaman Brokoli

Terdapat kelompok perlakuan komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B dan kontrol pelarut untuk pengamatan tanaman brokoli yang dilakukan. Pada perlakuan komposit, jumlah tanaman brokoli sebanyak 108 tanaman yang dibagi untuk 9 variasi dosis komposit dengan masing-masing dosis komposit memiliki 12 tanaman. Sedangkan pada perlakuan kontrol pelarut diberikan campuran larutan etanol 96% dan air dengan jumlah tanaman brokoli sebanyak 27 tanaman yang dibagi untuk 9 variasi dosis dengan masing-masing dosis kontrol pelarut memiliki 3 tanaman. Untuk kebutuhan data penelitian, tanaman brokoli hanya diamati 3 per variasi konsentrasi kelompok perlakuan komposit dan kontrol pelarut. Pengamatan dilakukan dengan memilih secara acak salah satu baris yang terdiri atas tiga tanaman brokoli menggunakan aplikasi *random picker*. Brokoli yang diamati, diberi penanda menggunakan patahan bambu dan gambaran visual yang telah dibuat menggunakan *Microsoft excel* seperti pada **Gambar 3.2**.

Perlakuan (Komposit Ekstrak Daun Kemangi dengan Bionutrien S-367B)														
Variasi Konsentrasi														

Keterangan:

	Tanah pembatas
	Kelompok tanaman perlakuan
	Kelompok tanaman kontrol pelarut
	Tanaman brokoli yang diamati

Gambar 3. 2 Penomoran Sampel Tanaman Brokoli.

3.3.4 Tahap Pengamatan Pertumbuhan Tanaman Brokoli

3.3.4.1 pH dan Kelembaban Tanah

Pengukuran pH dan kelembaban tanah sebagai parameter kondisi tanah dilakukan di waktu yang bersamaan dengan pengukuran pertumbuhan tanaman. Pengukuran dilakukan pada tanah kelompok tanaman brokoli kontrol pelarut dan tanah kelompok perlakuan komposit ekstrak daun kemangi dengan bionutrien S-367B yang diukur menggunakan ETP306 3 in 1 soil pH meter.

3.3.4.2 Tinggi Tanaman, Panjang Daun, dan Lebar Daun

Pertumbuhan tanaman seperti tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun perlu diamati setiap sekali dalam seminggu di pagi hari dengan mengukur tanaman brokoli menggunakan penggaris atau meteran dan alat tulis. Pengukuran dilakukan hanya pada 3 tanaman di setiap masing-masing dosis kelompok perlakuan komposit dan kontrol pelarut.

3.3.4.3 Massa Hasil Panen Tanaman Brokoli

Sekitar $\pm$ 60 hari setelah penanaman dan ketika sudah terbentuk kepala brokoli yang sempurna (padat, berwarna hijau tua dengan kuncup rapat dan belum mulai membuka), maka brokoli siap dipanen segar di pagi hari. Setelah dipanen, dilakukan penimbangan hasil panen pada setiap dosis tanaman brokoli yang diamati proses pertumbuhannya.