

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Lokasi Pengambilan Sampel, Waktu, dan Tempat Penelitian**

Lokasi pengambilan sampel bertempat di daerah Cibarunai, Kelurahan Sarijadi, Bandung. Sampel yang diambil berupa tanaman ARH. Penelitian berlangsung sekitar 9 bulan, yaitu dari bulan Maret 2012 sampai November 2012. Penelitian dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap penyiapan sampel, tahap analisis, dan tahap aplikasi. Semua tahapan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset (Bioflokulan) Kimia FPMIPA UPI Bandung.

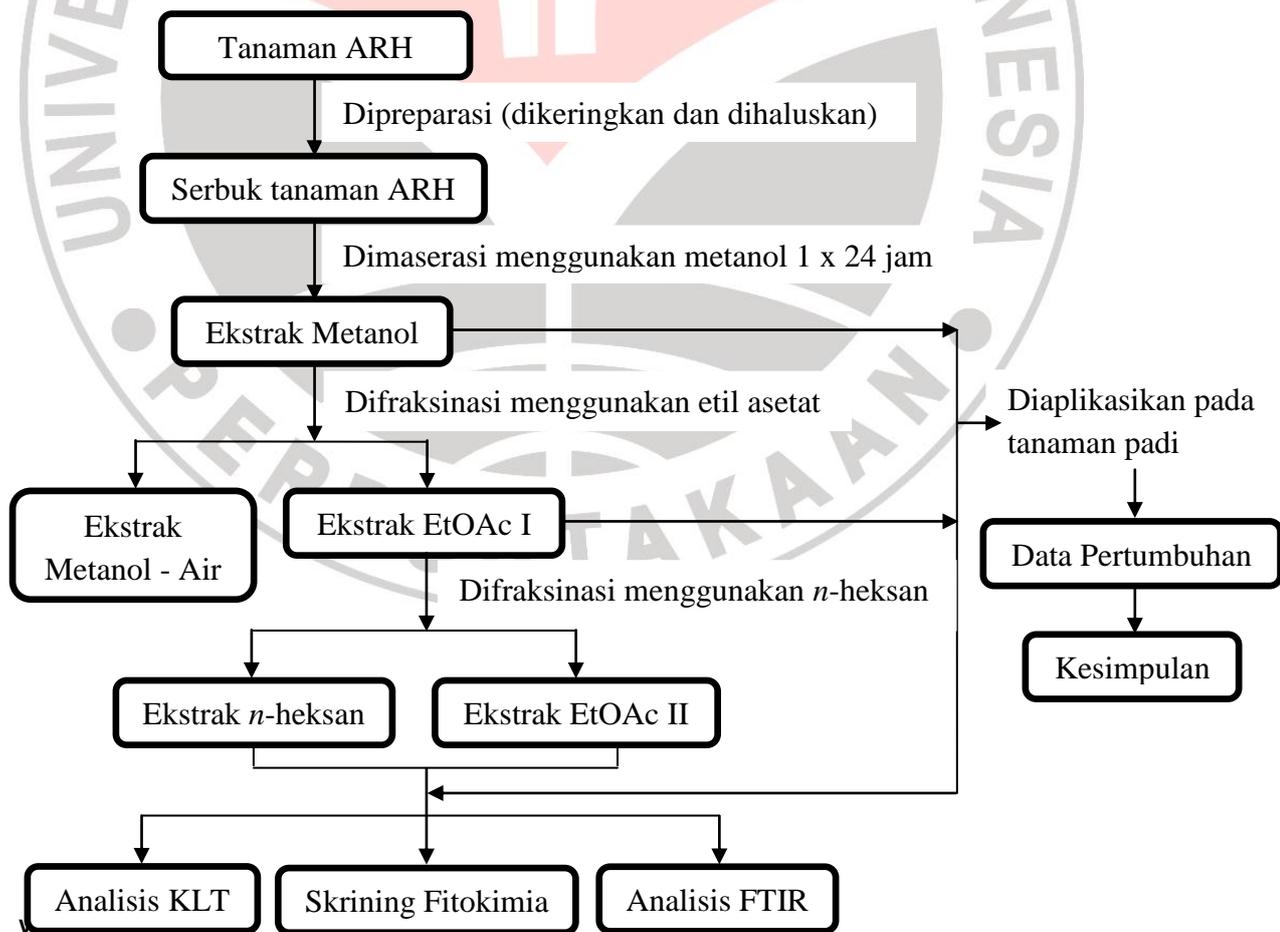
#### **3.2. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : gunting, neraca analitik, gelas kimia (100 mL dan 1000 mL), gelas ukur 100 mL, corong pendek, kertas saring, batang pengaduk, pipet tetes, botol semprot, corong pisah 500 mL, klem, statif ring, set alat evaporator, plastik wrap, kertas label, mistar, jerigen (5 L), dan plastik ziplock.

Bahan atau zat-zat kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : pupuk NPK ponska, pupuk kandang, air suling (aquades), Metanol, Etil Asetat, n-Heksan, dan Diklorometan, pereaksi Mayer, HCl pekat, HCl 1 M, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, kloroform, CH<sub>3</sub>COOH glacial, FeCl<sub>3</sub> 1%, dan serbuk Mg.

### 3.3. Alur Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan tiga tahapan. Tahap pertama yaitu preparasi sampel tanaman ARH. Tahap kedua adalah tahap analisis maserat menggunakan : Kromatografi Lapis Tipis, Skrining Fitokimia, dan Karakterisasi FTIR. Selanjutnya tahap ketiga, maserat bionutrien ARH diaplikasikan untuk mengetahui pola kecenderungan laju pertumbuhan terhadap tanaman padi (*Oryza sativa* L.). Bagan alur penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Kajian Potensi Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Bionutrien ARH Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Padi (*Oryza Sativa* L.)

### **Gambar 3.1** Bagan alir penelitian

#### **3.3.1. Maserasi**

Tahap maserasi dilakukan dengan langkah kerja sebagai berikut : Sampel dikeringkan di udara terbuka tetapi tidak boleh terkena cahaya matahari secara langsung. Pengeringan ini dilakukan selama  $\pm$  3-4 minggu sampai tumbuhan benar-benar kering. Setelah kering, tanaman ARH dihaluskan dan kemudian ditimbang. Setelah itu, serbuk tanaman ARH yang sudah ditimbang ditambahkan metanol dan didiamkan selama 24 jam, kemudian disaring untuk mendapatkan ekstraknya. Ekstrak yang diperoleh kemudian digunakan untuk tahap pemisahan selanjutnya yaitu fraksinasi.

#### **3.3.2. Tahap Karakterisasi Bionutrien ARH**

Sampel tanaman ARH dianalisis gugus fungsional yang terkandung di dalamnya dengan menggunakan spektrofotometri infra merah yang dilakukan di Laboratorium Instrumen Kimia FPMIPA UPI Bandung, dan metabolit sekundernya dengan menggunakan metode skrining fitokimia serta kromatografi lapis tipis. Metode ini digunakan untuk mengetahui senyawa bioaktif potensi tanaman ARH sebagai bionutrien. Analisis ini dilakukan di Laboratorium Riset (Bioflokulan) Kimia FPMIPA UPI Bandung.

##### **3.3.2.1. Uji Screening Fitokimia**

Wuruk Deputri, 2013

Kajian Potensi Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Bionutrien ARH Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Padi (*Oryza Sativa L.*)

Uji *screening* fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam ekstrak bionutrien ARH. Adapun uji yang dilakukan meliputi:

1. Uji Alkaloid

Ekstrak ARH sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid.

2. Uji Flavonoid

Ekstrak ARH sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 g serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat. Terbentuknya warna kuning menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

3. Uji Tannin

Ekstrak ARH sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna biru tua menunjukkan adanya senyawa golongan tannin (fenolik).

4. Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak ARH sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL asam asetat glasial dan 1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa golongan terpenoid, sedangkan

**Wuruk Deputri, 2013**

Kajian Potensi Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Bionutrien ARH Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Padi (*Oryza Sativa* L.)

terbentuknya warna biru tua atau ungu menunjukkan adanya senyawa golongan steroid.

#### 5. Uji Saponin

Ekstrak ARH sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan air suling dan dipanaskan selama 2-3 menit. Kemudian didinginkan lalu dikocok secara vertical selama 30 detik. Terbentuknya busa menunjukkan adanya senyawa golongan saponin.

#### 3.3.2.2. Analisis Spektroskopi FTIR

Pemeriksaan FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat didalam ekstrak ARH. Sebelum dianalisis, dibuat pellet KBr terlebih dahulu dengan cara mencampurkan ekstrak ARH dengan KBr murni, kemudian pellet KBr tersebut dianalisis menggunakan spektroskopi FTIR tipe Shimadzu FTIR-8400.

#### 3.3.3. Aplikasi

Setelah tahap ekstraksi dan pengujian selesai dilakukan, tahap selanjutnya yaitu tahap aplikasi. Pada tahap ini dilakukan aplikasi terhadap tanaman padi yang bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemberian bionutrien. Aplikasi dilakukan pada bulan Juli 2012 sampai dengan Desember 2012. Untuk mengetahui pengaruh pemberian bionutrien pada tanaman padi, maka dibuat 13 kelompok tanaman yang pada aplikasinya diberi perlakuan yang berbeda. Perlakuan yang berbeda dari ke-13 kelompok tanaman tersebut adalah sebagai berikut :

**Wuruk Deputri, 2013**

Kajian Potensi Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Bionutrien ARH Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Padi (*Oryza Sativa L.*)

- Kelompok tanaman pertama (H1), diberi bionutrien ARH metanol 2,5 mL/L.
- Kelompok tanaman kedua (H2), diberi bionutrien ARH metanol 5,0 mL/L.
- Kelompok tanaman ketiga (H3), diberi bionutrien ARH metanol 10,0 mL/L.
- Kelompok tanaman keempat (H4), diberi bionutrien ARH metanol 12,5 mL/L.
- Kelompok tanaman kelima (H5), diberi bionutrien ARH metanol 15,0 mL/L.
- Kelompok tanaman keenam (H6), diberi larutan blanko methanol 10,0 mL/L.
- Kelompok tanaman ketujuh (H7), diberi bionutrien ARH etil asetat (hasil fraksinasi) 2,5 mL/L.
- Kelompok tanaman kedelapan (H8), diberi bionutrien ARH etil asetat (hasil fraksinasi) 5,0 mL/L.
- Kelompok tanaman kesembilan (H9), diberi bionutrien ARH etil asetat (hasil fraksinasi) 10,0 mL/L.
- Kelompok tanaman kesepuluh (H10), diberi bionutrien ARH etil asetat (hasil fraksinasi) 12,5 mL/L.
- Kelompok tanaman kesebelas (H11), diberi bionutrien ARH etil asetat (hasil fraksinasi) 15,0 mL/L.

**Wuruk Deputri, 2013**

Kajian Potensi Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Bionutrien ARH Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Padi (*Oryza Sativa L.*)

- Kelompok tanaman keduabelas (H12), diberi larutan blanko etil asetat 10,0 mL/L.
- Kelompok tanaman ketigabelas (H13), kontrol (+).

Untuk tanaman ketigabelas, kontrol (+), diberikan pupuk sesuai dengan kebiasaan yang dilakukan petani pada umumnya. Aplikasi dan pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali sampai tanaman siap panen. Variabel pengamatan terhadap tanaman meliputi :

1. Tinggi tanaman, diukur dari mulai pangkal akar sampai ujung daun paling tinggi.
2. Jumlah anakan, dihitung per rumpun dari masing-masing kelompok tanaman.
3. Jumlah anakan produktif, dihitung pada saat panen. Anakan produktif adalah anakan padi yang memiliki malai.
4. Bobot basah.
5. Bobot kering.

Wuruk Deputri, 2013

Kajian Potensi Ekstrak Metanol Dan Etil Asetat Bionutrien ARH Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Padi (*Oryza Sativa L.*)