

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan selama sembilan bulan, dimulai pada bulan Februari 2017 sampai bulan Oktober 2017. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap yaitu tahap aplikasi dan tahap analisis hasil. Tahap aplikasi yang dilaksanakan di lahan pesawahan Desa Tanjung Kerta Kecamatan Pagerageung, Tasikmalaya dengan sampel tanaman padi IR-64. Tahapan analisis dibagi menjadi dua yaitu perhitungan kadar klorofil yang dilaksanakan di Laboratorium Riset FPMIPA UPI, Bandung dan analisis ukuran stomata pada daun tanaman padi yang dilaksanakan di laboratorium instrumen ITB, Bandung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama penelitian sebagai berikut: *hand sprayer* (penyemprot pupuk), timbangan, gelas ukur 100 ml, botol vial 20 mL, gelas kimia 100 mL, batang pengaduk, spatula, *cooler*, *Scanning Electronic Microscopy* (SEM) tipe JSM-6360 LA, spektrofotometri UV-Vis tipe Shimadzu UVmini 1200.

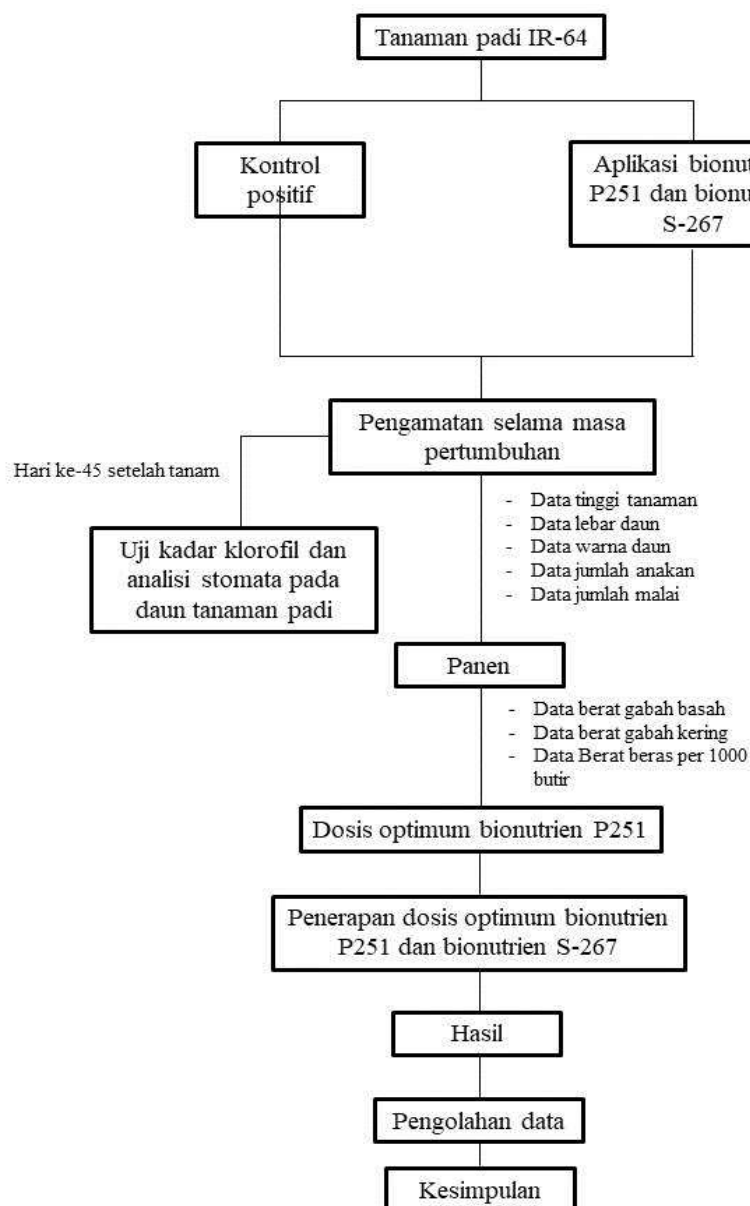
Bahan atau zat-zat kimia yang digunakan yaitu Bionutrien P251, Bionutrien S-267 (sudah disediakan oleh Tim Kimia Lingkungan FPMIPA UPI), aquades, metanol, dan sampel daun tanaman padi.

3.3. Alur Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam dua tahap selama dua kali masa panen. Tahap pertama dilakukan aplikasi bionutrien P251 dan bionutrien S-267 kepada tanaman padi IR-64 untuk mengetahui dosis optimum bionutrien P251. Dosis bionutrien P251 yang dipakai pada saat aplikasi

diantaranya 0,5 Kg, 0,75 Kg, 1 Kg, 1,25 Kg, dan 1,5 Kg. Dosis bionutrien S-267 yang digunakan adalah 5 mL/L di semua variasi dosis bionutrien P251. Sedangkan untuk kontrol diperlakukan tanpa adanya pemberian bionutrien.

Selanjutnya, dilakukan analisis hasil percobaan yaitu penentuan kadar klorofil tanaman padi pada tiap dosis dan menghitung panjang dan lebar pembukaan stomata pada daun. Pada tahap kedua, dilakukan aplikasi dosis optimum bionutrien P251 dan bionutrien S-267 yang diperoleh dari tahap sebelumnya. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Bagan alir penelitian

3.3.1. Tahap Aplikasi Bionutrien P251 pada Tanaman Padi

Tahap aplikasi bionutrien pada tanaman padi dilakukan di lahan pesawahan Pondok Pesantren Suryalaya, Tasikmalaya. Aplikasi bionutrien diterapkan pada lima kelompok tanaman padi. Tahap aplikasi bionutrien dilakukan dengan pemberian bionutrien P251 pada beberapa variasi dosis, yaitu 0,5 Kg, 0,75 Kg, 1 Kg, 1.25 Kg, dan 1,5 Kg dengan tambahan bionutrien S-267 pada masing-masing dosis sebanyak 5 mL/L. Sebagai pembanding disiapkan kelompok tanaman kontrol positif yang diaplikasikan pupuk urea 1 Kg. Aplikasi bionutrien P251 dilakukan sebanyak dua kali selama masa tanam. Untuk aplikasi bionutrien P251 dilakukan dengan cara disebarakan seperti aplikasi pupuk pada umumnya. Sedangkan, untuk aplikasi bionutrien S-267 dilakukan dengan cara disemprotkan pada daun tanaman padi. Pengamatan dilakukan dua minggu sekali selama masa tanam sampai panen. Adapun variabel yang diamati pada tanaman padi adalah sebagai berikut:

1. Tinggi tanaman
2. Lebar daun
3. Jumlah anakan
4. Jumlah anakan produktif
5. Berat gabah basah
6. Berat gabah kering
7. Berat beras per 1000 butir.

Selanjutnya, dosis optimum bionutrien P251 dan bionutrien S-267 yang diperoleh diaplikasikan kembali pada tanaman padi IR-64 untuk mengetahui pengaruh dosis optimum terhadap pertumbuhan dan hasil panen tanaman padi.

3.3.2. Uji Kadar Klorofil

Penentuan kadar klorofil dari tanaman padi dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam, yaitu pada masa produktif dari tanaman padi. Penentuan kadar klorofil menggunakan sampel daun tanaman padi dari tiap kelompok tanaman yang diaplikasikan bionutrien dan kelompok tanaman kontrol. Metode penentuan kadar klorofil dilakukan dengan teknik pendekatan spektroskopi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Sampel daun tanaman padi yang akan digunakan untuk uji kadar klorofil disimpan dalam *cooler* sebelum diuji untuk mempertahankan kesegaran dari daun tanaman padi. Klorofil dari daun tanaman padi diekstraksi dengan pelarut metanol. Kemudian ekstrak klorofil diuji kadarnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 649 nm dan 665 nm dengan larutan blanko metanol.

Perhitungan penentuan kadar klorofil:

$$\text{Klorofil a} = (13.7 \times A_{665}) - (5.76 \times A_{649})$$

$$\text{Klorofil b} = (25.8 \times A_{649}) - (7.7 \times A_{665})$$

(Winstermans dan Mots. 1995 dalam Nurzaman. Mohamad 2016)

3.3.3. Uji Stomata pada Daun Tanaman Padi.

Pada tahanan ini dilakukan uji stomata daun tanaman padi untuk mengetahui perbedaan permukaan daun antara kelompok tanaman kontrol dan kelompok tanaman yang diaplikasikan bionutrien. Tahap pengujian dilakukan dengan mengambil sampel daun dari kelompok tanaman kontrol dan kelompok tanaman yang diaplikasikan bionutrien. Pengambilan sampel dilakukan pagi hari saat kondisi stomata daun sedang terbuka. Kemudian daun dipreparasi untuk dilakukan uji morfologi menggunakan instrumen SEM. Bagian daun yang diuji merupakan bagian bawah dari helaian (lamina) dengan mengabaikan tulang anak daun (midrib).

Sampel daun yang akan diuji terlebih dahulu dikeringkan didalam desikator selama 1 jam. Kemudian sampel daun disimpan dalam wadah sampel untuk kemudian diletakan pada alat *fine coater* agar dilakukan proses *coating* dengan lapisan tipis *gold-paladium* selama 4 menit dengan ketebalan 200-400 Å. Sampel kemudian diuji bentuk morfologinya menggunakan alat

SEM type JSM-6360 LA dengan metode *Energy Dispersive X-Ray* (EDX). Prinsip kerja alat ini yaitu penembakan anoda dengan elektron yang dihasilkan dari katoda yang dibangkitkan oleh alat transformator *step-up* dari input tegangan 24 Volt DC dinaikkan menjadi 15 kV, sehingga menghasilkan beda potensial yang sangat tinggi dan juga menghasilkan berkas *electron beam*.