

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai pada bulan Februari 2018 sampai dengan bulan Agustus 2018. Lokasi penelitian dilakukan di tiga tempat, yaitu :

- a. Tahap aplikasi dosis optimum bionutrien S267 dilakukan di Pangalengan
- b. Tahap pengujian kandungan klorofil, uji KLT dan kadar kafein dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- c. Tahap pengujian kandungan nitrogen dilakukan di laboratorium Terpadu Balai Tanaman dan Sayuran (BALITSA)

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

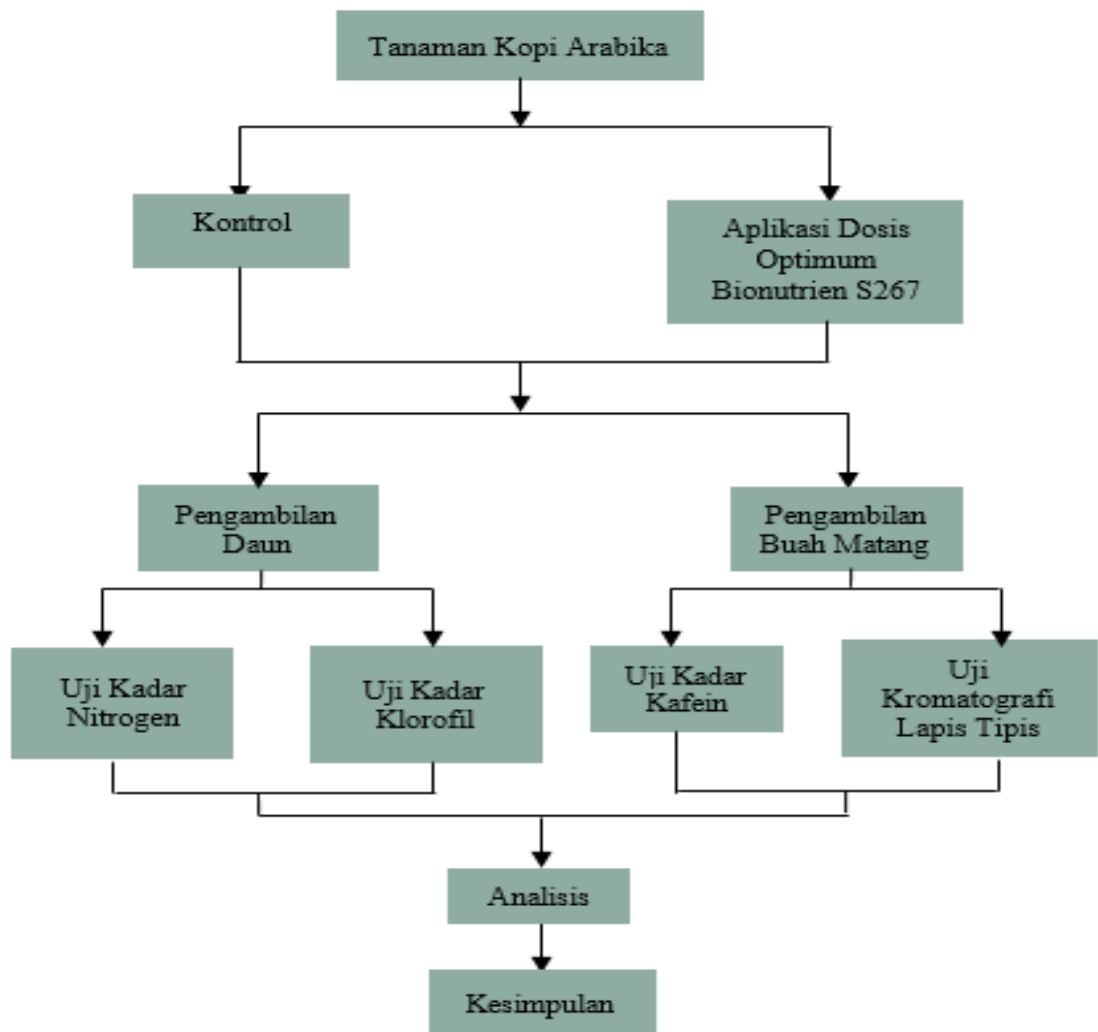
Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya set alat semprot, yaitu 10 buah jerigen isi 20 liter, selang sepanjang 50 meter, *genset*, pompa, tong isi 50 liter, box es, plastik, sarung tangan, alat laboratorium yaitu neraca analitik, pemanas listrik, gelas kimia 250 ml dan 100 ml, corong kaca, botol vial 50 ml, lumpang alu, aluminium foil, gunting, penggaris, spatula, pengaduk, gelas ukur 100 ml, *crusher*, set alat soxhlet, set alat kromatografi lapis tipis, hotplate, HPLC D-7000 Hitachi.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya bionutrien S267, metanol 96%, kertas saring, membran PTFE, air, n-heksana, etil asetat, sampel daun tanaman kopi dan Biji kopi.

3.3 Alur Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan tiga tahap, yaitu tahap pertama adalah aplikasi dosis optimum bionutrien S267, tahap kedua pengujian kandungan Nitrogen dan Klorofil, serta tahap ketiga pengujian Kadar Kafein. Alur penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

3.4 Tahap Aplikasi Dosis Optimum Bionutrien S267

Dosis optimum bionutrien S267 yang dipakai yaitu dosis optimum pada penelitian tanaman kopi sebelumnya sebanyak 3 mL/L. Pada tahap aplikasi dosis optimum bionutrien S267 ini dilakukan pada dua kelompok tanaman, yaitu tanaman kontrol dan tanaman dengan pemberian bionutrien S267 dosis optimum. Tahap aplikasi dosis optimum dilakukan mulai pada bulan Februari 2018 sampai dengan bulan Agustus 2018. Pengamatan dilakukan dua minggu sekali sampai tanaman panen.

Tahap aplikasi dilakukan dengan menyemprot bionutrien S267 pada 2 kelompok tanaman dengan dosis optimum bionutrien menggunakan alat semprot

Dinar Anugrah, 2019

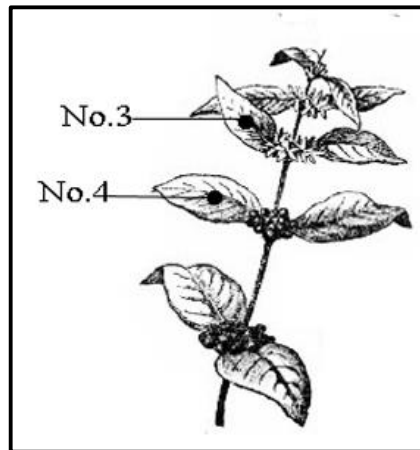
APLIKASI BIONUTRIEN S267 TERHADAP FISILOGI DAUN DAN PRODUKTIVITAS TANAMAN KOPI ARABIKA

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

sedangkan kelompok kontrol tidak ada perlakuan. Penyemprotan dilakukan dengan teknik.

3.5 Pengambilan Daun

Daun yang dewasa dicirikan dengan adanya perubahan warna dan bentuk daun yang telah stabil (Prabowo, 2011). Cara pengambilan sampel daun ditunjukkan pada Gambar 3.2 dibawah ini



Gambar 3.2 Posisi daun yang diamati pada cabang kopi merupakan daun nomer 3 atau 4 dari bagian pucuk.

(Sumber: Ristiawan, 2011)

Daun yang digunakan sebagai sampel adalah daun yang sudah berkembang penuh yaitu daun nomor 3 atau 4 dari ujung ranting yang daunnya sudah berukuran 5 cm.

3.5.1 Uji Kadar Nitrogen pada Daun

Uji kadar nitrogen ini menggunakan metode kjehdal. Sampel digestion dengan penambahan H_2SO_4 lalu dipanaskan. Kemudian ditambah $NaOH$ untuk menetralkan dan dilakukan proses destilasi. Lalu ditambah asam borat berlebih pada sampel. Sisa asam borat dititrasi dengan Na_2CO_3 .

% nitrogen =

$$\frac{(V \text{ titran sampel} - V \text{ titran blanko}) \times 14,007 \times N \text{ titran}}{mg \text{ sampel}} \times 100\%$$

3.5.2 Uji Kandungan Klorofil Daun

Analisis kadar klorofil menggunakan instrumen spektrometer Shimadzu Uvmini 1200. Sampel daun yang akan diuji dipotong lalu digerus menggunakan lumpang alu. Sampel yang telah halus ditimbang sebanyak 0,3 gram dan diekstrak dengan 30 mL metanol 96%. Kemudian sampel disaring dan dimasukkan kedalam botol vial yang terbungkus aluminium foil. Pengukuran serapan untuk tiap sampel dilakukan triplet (tiga kali pengukuran). Panjang gelombang untuk pengujian kadar klorofil adalah 649 nm dan 665 nm. (Anggriani, 2017)

Perhitungan untuk menentukan kadar klorofil a dan klorofil b adalah sebagai berikut.

$$\text{Klorofil a (mg/L)} = (13,7 \times A_{665}) - (5,76 \times A_{649})$$

$$\text{Klorofil b (mg/L)} = (25,8 \times A_{649}) - (7,7 \times A_{665})$$

(Wintermans dan Mots, 1995 *dalam* Nurzaman, Mohamad 2016)

3.6 Pengambilan Buah Matang

Buah kopi yang sudah matang, dikupas bagian kulit dan dagingnya. Kemudian dicuci untuk menghilangkan lender pada biji kopi. Biji kopi kemudian dijemur dan dikupas bagian kulit biji kopi. Biji kopi yang telah terlepas dari kulitnya berwarna hijau. Sebagian biji kopi hijau disangrai selama 40 menit. Biji kopi hijau dan biji sangrai kemudian diblender sampai halus. Bubuk kopi hijau dan sangrai diekstraksi dengan methanol menggunakan alat soxhlet pada suhu 70°C selama 6 jam dalam 5 siklus. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali untuk setiap sampel sehingga diperoleh dua ekstrak (tidak digabung). Ekstraksi pertama, 45 gram biji kopi halus diekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan 250 ml metanol pada suhu 70° begitu juga untuk ekstraksi kedua. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan rotary-evaporator untuk mendapatkan ekstrak pekat. Selanjutnya dilakukan uji KLT dan uji HPLC.

3.6.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis adanya komponen senyawa kafein pada ekstrak metanol biji kopi arabika dilakukan dengan KLT menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat.

Ekstrak dilarutkan dalam metanol, kemudian ditotolkan pada plat KLT berukuran 5 cm x 5 cm menggunakan pipa kapiler yang sudah diberi tanda batas bawah dan batas atas serta batas untuk masing-masing sampel. Untuk pembanding, ditotolkan juga standar kafein yang telah dilarutkan dalam methanol. Lalu dimasukkan dalam *chamber* tertutup yang sudah diberi campuran eluen n-heksan:etil asetat dengan berbagai perbandingan 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, dan 7:3, dengan posisi berdiri, dimana sebelumnya *chamber* telah dijenuhkan dengan cara memasukkan kertas saring hingga kertas saring terelusi seluruhnya oleh eluen. Setelah itu divisualisasi dengan sinar UV 254 nm untuk diamati pergerakan noda pada plat. Lalu dihitung nilai Rf nya untuk masing-masing noda standar dan sampel.

3.6.2 Uji Kadar Kafein

Analisis kafein dilakukan dengan menguji kadar kafein pada biji kopi menggunakan HPLC. Pengujian diawali dengan pembuatan larutan standar kafein 500 ppm. Standar kafein berbentuk bubuk putih, kemudian ditimbang sebanyak 25 mg. Selanjutnya standar kafein dilarutkan dalam fasa gerak air : metanol (90:10) pada labu takar 50 ml. Kemudian larutan dihomogenkan selama 3 menit dengan bantuan ultrasonic vibrator. Larutan induk dari standar kafein diencerkan untuk pembuatan larutan deret standar 14 ppm, 20 ppm, 24 ppm, 30 ppm, dan 34 ppm. Selanjutnya larutan deret standar diuji dengan alat HPLC. Pada penyiapan sampel, ditimbang masing-masing sampel sebanyak 2 tetes pipet ke dalam labu takar 10 ml. Kemudian dilarutkan dalam fasa gerak dan dihomogenkan selama 3 menit dengan bantuan ultrasonic vibrator. Sebelum diuji, sampel disaring terlebih dahulu menggunakan membran PTFE. Selanjutnya sampel diuji dengan HPLC.

