

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian mulai dilakukan pada bulan akhir Januari 2019 di Lembang, Jawa Barat. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini terdiri dari empat tahapan, yaitu tahap analisis dan karakterisasi bionutrien S-367B, tahap aplikasi, tahap pengamatan pertumbuhan, dan tahap uji laboratorium hasil panen.

Lokasi pada tahapan aplikasi dan pengamatan pertumbuhan dilakukan di perkebunan selada di daerah Lembang, Jawa Barat. Untuk tahapan uji laboratorium hasil panen dilakukan di Laboratorium Pengujian Balai Penelitian Tanaman dan Sayuran Bandung. Pengujian karakterisasi bionutrien dilakukan di laboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech Bogor.

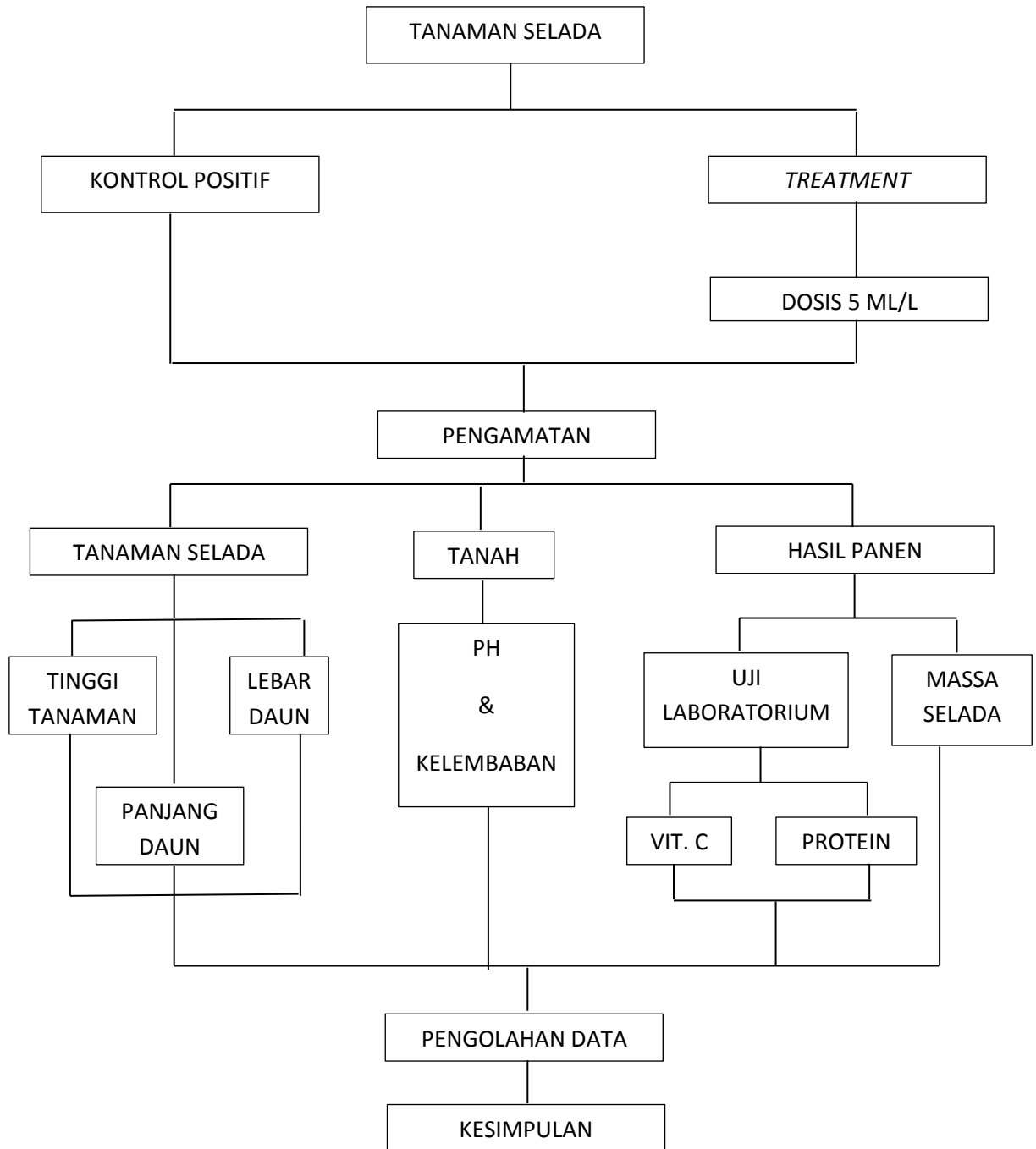
#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

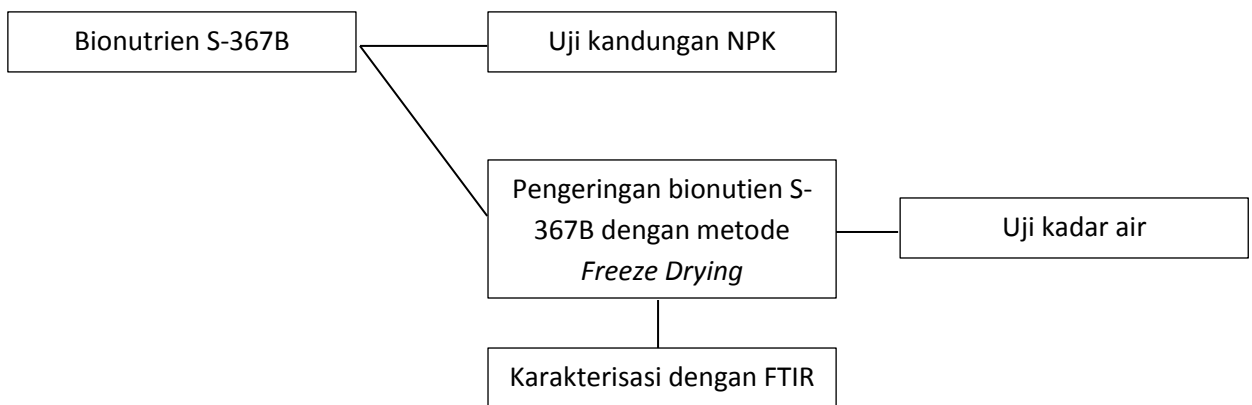
Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: alat penyiram, pompa, neraca analitik, gunting, pemanas listrik, batu didih, gelas kimia (50mL, 100 mL, 250 mL dan 1 L), gelas ukur 100 mL, *stirer*, labu erlenmeyer, statif dan klem, labu ukur (50 mL, 100 mL, 250 mL, dan 500 mL), labu kjehldal, lumpang alu, corong pendek, tabung reaksi, pipet gondok (10 mL dan 25 mL), ball pipet, kuvet, instrumentasi ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy*), botol semprot, kertas saring, *plastic wrap*, aluminium *foil*, spatula, batang pengaduk, set alat destilasi, aplikasi altimeter, dan pH meter tanah.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Bionutrien S-367B, pupuk NPK Mutiara, aquades, air,  $\text{KIO}_3$  0,1 N,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , larutan amilum 1%, larutan  $\text{I}_2$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NaOH}$  40%,  $\text{H}_3\text{BO}_4$ , indikator BCG-MR,  $\text{HCl}$  0,1 M,  $\text{H}_2\text{O}_2$  30 %, kertas saring Whatman No. 40, larutan Ammonium molibda 4%, larutan asam askorbat 0,1 N, kalium antimoniltatrat, larutan  $\text{CsCl}$ , fungisida, insektisida, pupuk daun, dan pupuk kalsium .



**Gambar 3.1** Bagan alir penelitian tanaman selada



**Gambar 3.2** Bagan alir analisis dan karakterisasi bionutrien S-367B

### 3.3 Bagan Alir dan Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dalam empat tahapan, yaitu tahap analisis dan karakterisasi bionutrien S-367B, tahap aplikasi, pengamatan pertumbuhan, dan uji laboratorium hasil panen tanaman. Pada tahap analisis NPK bionutrien S-367B menggunakan metode Kjeldahl untuk uji nitrogen, ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy*) untuk uji Fosfor dan Kalium. Tahap karakterisasi bionutrien S-367B menggunakan spektrofotometer FTIR. Pada tahap aplikasi digunakan bionutrien S-367B dan kontrol positif. Pengamatan tanaman selada dilakukan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman, panjang daun, lebar daun, massa hasil panen tanaman selada, pH tanah, kelembaban tanah, dan ketinggian area perkebunan. Selanjutnya dilakukan analisis hasil panen tanaman selada, yaitu analisis kadar vitamin C dan protein pada daun selada.

#### 3.3.1 Uji NPK Bionutrien S-367B dengan Metode Kjeldahl dan *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Plasma (ICP-OES)*

Bionutrien S-367B diuji dengan menggunakan metode Kjeldahl untuk uji kadar Nitrogen (N), dan *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES)* untuk uji kadar Fosfor dan Kalium (P dan K) dalam bionutrien S-367B.

##### 3.3.1.1. Penentuan Kadar N

Penentuan kadar nitrogen (N) menggunakan instrumentasi kjeldahl yaitu sebuah alat destilasi yang mana larutan NaOH ditambahkan melalui sistem, destilat yang dihasilkan ditampung pada tabung destilat kemudian dititrasi menggunakan larutan HCl.

### 3.3.1.2. Penentuan Kadar P dan K

Mengacu pada Aizaki, M, *et al.* (2016) sebagai komite teknis dari Japan Incorporated Administrative Agency Food and Agriculture Materials Inspection Center mengenai metode pengujian untuk pupuk, penentuan kadar P menggunakan ICP-OES merupakan metode pengukuran asam fosfat yang larut dalam air ( $P_2O_5$ ) yang memiliki panjang gelombang 178.287 nm. Sedangkan untuk kadar K yang terukur merupakan kalium dalam senyawa  $K_2O$  yang memiliki panjang gelombang 766.491 nm.

Tahapan pengujian kadar P menggunakan instrumentasi ICP-OES disiapkan dengan menyesuaikan panjang gelombang 178.287 nm, disiapkan kurva kalibrasi larutan standar  $P_2O_5$  dengan cara membuat larutan  $P_2O_5$  20  $\mu\text{g/mL}$  hingga 0.4 mg/mL, ditambahkan 25 mL larutan HCl. Tahapan pengujian sampel sejumlah yang telah ditentukan dalam rentang konsentrasi 20  $\mu\text{g/mL}$  hingga 0.4 mg/mL dan menambahkan 25 mL larutan HCl, sehingga diperoleh kadar P pada pupuk dengan cara memploting hasilnya terhadap kurva kalibrasi standar.

Tahapan pengujian kadar P sama dengan tahapan pengujian P, hanya saja rentang konsentrasi yang digunakan 20  $\mu\text{g/mL}$  hingga 0.16 mg/mL, dengan larutan standar  $K_2O$  dan panjang gelombang 766.491 nm.

### 3.3.2 Penentuan Kadar Air dengan Metode Pengeringan Beku (*Freeze Drying*)

Pengeringan beku (*freeze drying*) adalah salah satu metode pengeringan yang mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, khususnya untuk produk-produk yang sensitif terhadap panas. Prinsip dasar pengeringan beku (*freeze drying*) adalah proses menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan atau produk yang telah beku (es) tanpa melalui fase cair terlebih dahulu.

Tahapan penentuan kadar air dengan freeze dryer diawali dengan penimbangan massa bionutrien S-367B sebanyak 921 gram. Bionutrien S-367B disusun dalam ruang pengering, ditutup rapat ruang pengering, dihidupkan sistem refrigerasi, dihidupkan pompa vakum, ditunggu proses sublimasi (pengeringan) selesai, ditimbang massa bionutrien S-367B kering, dihitung kadar air bionutrien S-367B yang hilang.

### 3.3.3 Karakterisasi Gugus Fungsi dengan Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Penentuan gugus fungsi bionutrien S-367B menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung pada bionutrien S-367B. Tahapan pengujian dilakukan dengan memadatkan ekstrak bionutrien S-367B menjadi palet KBr dengan perbandingan 1 mg bionutrien S-367B dan 200 mg KBr. Kemudian palet disimpan dalam wadah palet dan dimasukkan pada instrumentasi FTIR untuk dilakukan analisis hingga dihasilkan spektra FTIR bionutrien S-367B.

### 3.3.4 Penomoran Sampel Tanaman Selada yang Digunakan dalam Penelitian

Pada penelitian ini tanaman selada dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu, kelompok *treatment* (bionutrien S-367B) dan kontrol positif. Tanaman selada dihitung seluruhnya pada baris kedua dan ketiga untuk pengamatan tanaman kelompok *treatment* dan baris kedelapan dan kesembilan untuk pengamatan tanaman kelompok kontrol positif. Tidak semua tanaman selada dilakukan pengamatan untuk data penelitian, hanya 20% dari total tanaman selada per baris yaitu sebanyak 13 tanaman dengan total 26 tanaman pada setiap kelompok yang diteliti

Tanaman yang diamati diberi nomor setiap kelompok. Penomoran dilakukan secara acak dengan menggunakan aplikasi *random sampling* yang diunduh di aplikasi playstore. Setelah itu tanaman diberi tanda menggunakan bendera plastik berwarna hitam pada setiap kelompok tanaman agar memudahkan pengamatan. Berikut penomoran tanaman selada yang diperoleh ditunjukkan pada tabel 3.1:

**Tabel 3.1** Penomoran sampel tanaman selada

Treatment		Kontrol	
Baris 2	Baris 3	Baris 8	Baris 9
2, 4, 6, 10, 22, 30, 31, 40, 42, 47, 51, 57, dan 61	4, 6, 15, 17, 25, 30, 31, 39, 47, 53, 58, 65, dan 67	3, 9, 10, 15, 26, 34, 43, 47, 51, 56, 61, 67, dan 76	10, 20, 26, 41, 50, 57, 64, 66, 69, 73, 74, 79, dan 81



### **3.3.5 Aplikasi dan Pengamatan**

Pada tahap aplikasi, tanaman selada pada kelompok *treatment* diberikan bionutrien S-367B menggunakan dosis 5 mL/L. Pemberian bionutrien S-367B dilakukan dengan menyemprotkan campuran bionutrien S-367B sebanyak 100 mL dan air sebanyak 20 L dengan menggunakan alat semprot. Penyemprotan dilakukan selama seminggu sekali di pagi hari. Lalu dilakukan pengecoran ke dalam tanah dengan campuran bionutrien S-367B sebanyak 100 mL, air sebanyak 20 L, dan pupuk NPK Mutiara sebanyak 0,5 kg selama dua minggu sekali. Pada tanaman kontrol positif juga dilakukan pengecoran dengan campuran NPK Mutiara sebanyak 0,5 kg dan air sebanyak 20 L selama dua minggu sekali serta dilakukan penyemprotan obat tanaman setiap seminggu sekali dengan campuran fungisida, insektisida, dan pupuk daun yang diselingi pupuk kalsium pada selada kelompok kontrol positif.

Adapun pengamatan yang dilakukan sebagai berikut:

#### **3.3.3.1. Tinggi Tanaman, Panjang Daun, dan Lebar Daun**

Tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun diamati pertambahan ukuran tanaman setiap minggu selama masa pengamatan. Pengukuran tanaman selada dilakukan dengan alat penggaris dengan mengamati pertambahan ukuran tanaman dari minggu ke minggu sampai tanaman selada membentuk krop (bulat). Pengukuran tinggi tanaman diukur dari dasar tanaman sampai ujung daun, pengukuran panjang daun diukur seluruh panjang daunnya sampai ujung daun, dan pengukuran lebar daun diukur secara melebar. Setelah tanaman selada membentuk krop pengamatan tinggi tanaman, panjang daun, dan lebar daun dihentikan.

#### **3.3.3.2. Massa Hasil Panen Selada**

Pengukuran massa hasil panen selada dilakukan setelah selesai proses panen selada. Selada langsung dilakukan pengukuran dengan alat timbangan digital 3 digit agar selada masih dalam keadaan segar dan tidak terjadi kehilangan massa.

#### **3.3.3.3. pH dan Kelembaban Tanah**

pH dan kelembaban tanah diukur setiap seminggu sekali selama masa pengamatan. Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan pada daerah *baseline*, tanah baris ketiga (*treatment*) dan tanah baris kesembilan (kontrol

positif). Pengukuran pH dan kelembaban tanah dilakukan pada barisan depan, tengah, dan belakang setiap kelompok tanaman yang diamati. Alat yang digunakan untuk mengukur pH dan kelembaban adalah pH meter dengan merek ETP306 3in1 soil pH meter.

#### **3.3.3.4. Ketinggian Area Perkebunan**

Ketinggian area perkebunan diukur menggunakan aplikasi altimeter yang diunduh dari aplikasi playstore.

### **3.3.6 Tahap Uji Laboratorium Hasil Panen**

#### **3.3.4.1. Uji Kadar Vitamin C**

Pengujian kadar Vitamin C dilakukan di laboratorium pengujian BALITSA dengan menggunakan metode titrasi iodometri. Pada umumnya uji titrasi iodometri dilakukan dengan beberapa tahap. Pertama, larutan  $\text{KIO}_3$  0,1 N distandarisasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Kemudian dititrasi dengan penambahan indikator amilum 1% hingga larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  tak menjadi berwarna. Kedua, 10 ml larutan iodium distandarisasi dengan menggunakan larutan  $\text{KIO}_3$  yang sudah distandarisasi. Ketiga, buah yang dianalisis kemudian diambil filtratnya. 10 ml filtrat diencerkan dengan aquades hingga 100 mL yang kemudian ditambahkan 6 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N dan beberapa tetes indikator amilum 2%. Kemudian dititrasi dengan larutan  $\text{I}_2$  yang sudah distandarisasi dan dicatat hasil akhirnya.

#### **3.3.4.2. Uji Kadar Protein**

Pengujian kadar protein dilakukan di laboratorium pengujian BALITSA dengan menggunakan metode kjeldahl. Metode ini terdiri dari tahap destruksi, destilasi, dan titrasi.

Sebanyak 100 gr selada dicuci dengan aquades lalu dikeringkan pada suhu  $650^\circ\text{C}$ . Pada tahap destruksi, selada yang telah dikeringkan dengan massa 1 g ditambahkan  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ , dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  lalu dipanaskan hingga larutan berwarna hijau. Larutan dibiarkan hingga dingin. Lalu ditambahkan 25 mL aquades, 50 mL  $\text{NaOH}$  40%, 30 mL  $\text{H}_3\text{BO}_4$ , dan 3 tetes indikator BCG-MR untuk destilasi. Destilat kemudian dititrasi dengan  $\text{HCl}$  0,1 M.