

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektronik Genesis II (Milton Roy Company, USA nomor katalog 4001/4), Sentrifuga SED 5 (United Kingdom), *handtractor* dan alat-alat di laboratorium Biokimia yang sesuai prosedur kerja.

Bahan kimia yang digunakan adalah reagen Folin Cioucalteau, iodium, asam galat, asam sitrat, FeCl_2 , Na_2CO_3 , KSCN, KI, EM-4 produksi PT. Songgolangit, benih sawi produksi PT. East West Seed Indonesia dan bahan-bahan kimia lain yang diperlukan.

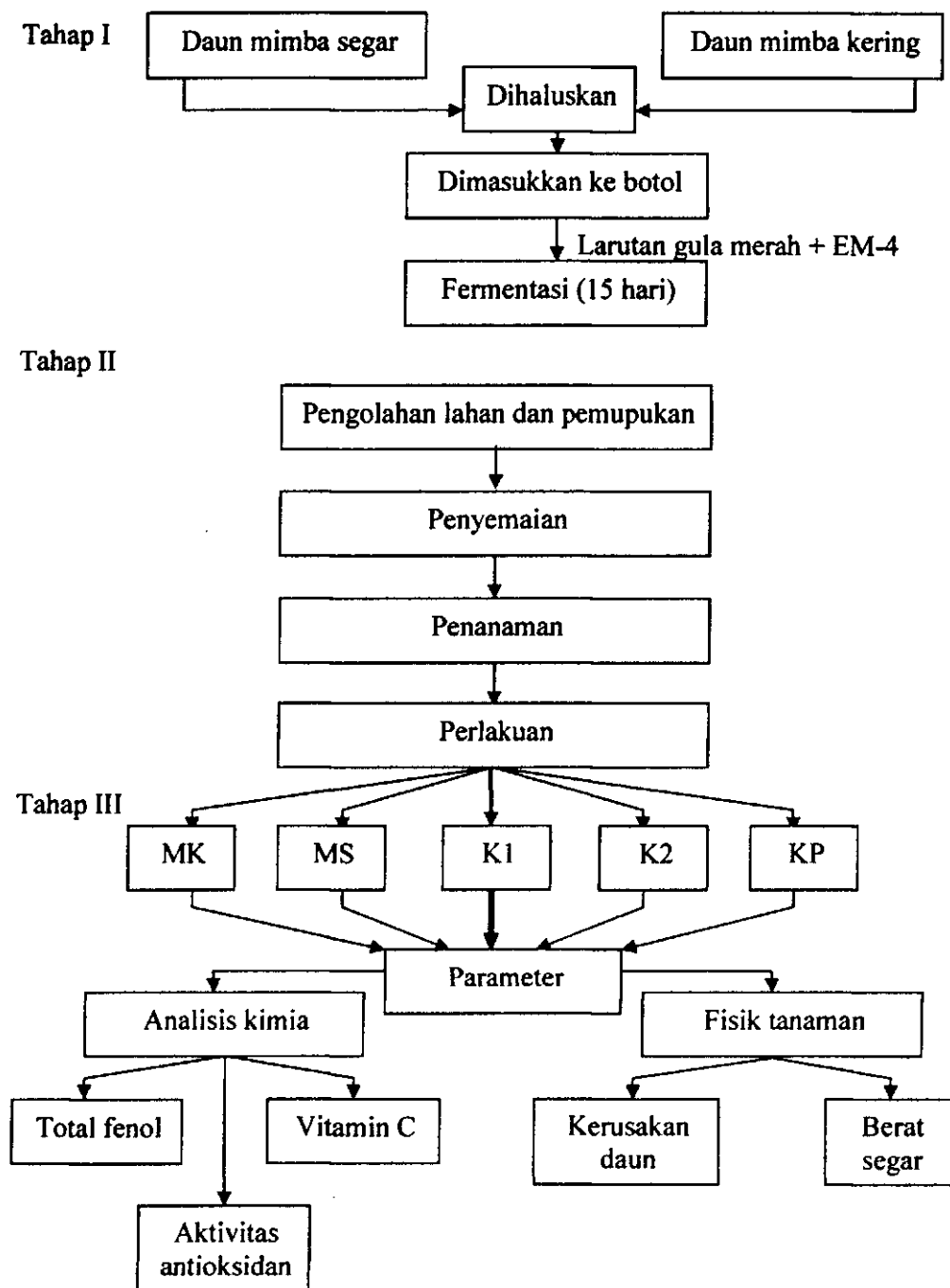
3.2. Rancangan Penelitian

Sawi (*Brassica chinensis*) ditanam dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali pengulangan. Perlakuan tersebut adalah :

- MS = Bokashi + ETT daun mimba segar
- MK = Bokashi + ETT daun mimba kering
- K1 = Kontrol dengan Bokashi
- K2 = Kontrol tanpa bokashi
- KP = Kontrol yang dibeli dari Pasar Pagi Arengka

Penelitian ini terdiri dari 3 tahap, tahap I adalah pembuatan ekstrak tanaman terfermentasi (ETT) untuk pengendalian hama. Tahap II adalah persiapan sampel, dimulai dari pengolahan lahan hingga pemberian perlakuan. Tahap III adalah pengamatan parameter fisik (berat segar, dan persentase kerusakan daun) dan kimia (vitamin C, total fenol, dan aktivitas antioksidan).

Unit percobaan berjumlah 12 plot, masing-masing plot terdapat 32 tanaman. Setiap plot dipilih 10 tanaman sampel secara acak untuk diamati sesuai dengan parameter yang ditetapkan.



Gambar 5. Rancangan penelitian

Keterangan : MK = ETT daun mimba kering, MS = ETT daun mimba segar, K1 = kontrol dengan bokashi, K2 = kontrol tanpa bokashi, KP = kontrol dari Pasar Pagi Arengka.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pembuatan ekstrak tanaman terfermentasi (ETT)

Ekstrak tanaman terfermentasi (ETT) dibuat sebanyak 1 liter untuk tiap-tiap bahan . Sebanyak 250 g daun mimba dikeringanginkan untuk membuat ETT I. ETT II dibuat dari 250 g daun mimba segar. Bahan tersebut dirajang halus dan dimasukkan ke dalam masing-masing botol plastik dan ditambahkan air 900 ml, larutan gula merah 50 ml, dan EM4 50 ml lalu dikocok. Botol plastik ditutup rapat dan disimpan ditempat yang tidak terkena cahaya matahari. Tutup botol dibuka secara berkala untuk mengeluarkan gas yang dihasilkan. ETT dapat digunakan apabila tidak mengeluarkan gas lagi.

3.3.2. Pembuatan pupuk bokashi

Sekam padi, serbuk gergaji, dan pupuk kandang dicampur menjadi satu dengan perbandingan 2:1:1. Larutan EM-4 aktif (1%) dituangkan perlahan dan diaduk rata. Campuran ditempatkan diatas terpal dan ditutup rapat agar terhindar dari sinar matahari dan air hujan. Fermentasi berlangsung selama 3-4 hari dan siap digunakan bila memberikan aroma yang khas dan ditumbuhi jamur putih.

3.3.3. Persiapan lahan

Lahan dibersihkan dari gulma dan dimasukkan ke dalam bedengan, kemudian ditaburi dengan bokashi. Lahan diolah dengan menggunakan *handtractor*. Plot dibuat dengan ukuran 1x 2 m sebanyak 12 plot. Pupuk bokashi diberikan sebanyak 2 kg untuk setiap plot (kecuali kontrol).

3.3.4. Persemaian

Benih direndam dengan larutan EM-4 aktif 1:100 selama 15 menit dan dikeringanginkan. Benih disemaikan pada bedengan berukuran 1x1 m yang telah diberi pupuk. Efek butiran hujan dan cahaya matahari dikurangi dengan menggunakan *polynet*. Persemaian berlangsung selama 21 hari.

3.3.5. Penanaman

Penanaman dilakukan pada sore hari, dengan jarak tanam 20 x 20 cm, kemudian tanah disekitar perakaran dipadatkan. Setiap plot berisi 32 tanaman. Label dipasang untuk tiap plot sesuai dengan perlakuan.

3.3.6. Penyiraman

Penyiraman dengan perlakuan Ekstrak Tanaman Terfermentasi (ETT) dimulai pada hari ketiga setelah penanaman. Penyiraman dilakukan sebanyak 3 kali dalam seminggu, pada hari ke 1, 4, dan 7. Sedangkan pada hari 2, 3, 5 dan 6 penyiraman dengan air. Perbandingan ETT dan air yang digunakan adalah sebesar 1 : 500 ml. Plot kontrol hanya disiram dengan air. Penyiraman dilakukan pada sore hari antara pukul 16.00-17.00 WIB.

3.3.7. Pemanenan

Pemanenan dilakukan setelah tanaman berumur 60 hari. Setiap plot diambil 10 tanaman secara acak, kemudian dibersihkan dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel.

3.3.8. Pengamatan secara fisik

Pengamatan tingkat kerusakan daun akibat serangan hama, berat segar sawi dilakukan pada saat panen. Persentase kerusakan dihitung dengan menjumlahkan seluruh daun yang rusak dibagi dengan jumlah daun keseluruhan pada setiap tanaman sampel dikalikan dengan 100%. Penghitungan jumlah daun yang rusak didasarkan pada standar ekspor. Daun dianggap rusak apabila terdapat kerusakan walau hanya lubang kecil. Berat segar (gram) diukur dengan menimbang tanaman bersama akarnya setelah dibersihkan.

3.3.9. Analisis total fenol

Total fenol diukur dengan menggunakan metoda Folin-Ciocalteu (Chaovanaliikit dan Wrolstad, 2004). Sebanyak 100 g daun sawi dihomogenisasi dengan menggunakan lumpang dalam 300 ml aquadest selama 10 menit. Supernatan (0,5 ml) dan larutan asam galat standar (0, 40, 80, 120, 160 dan 200 ppm) dicampurkan

dengan 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan 7,5 ml aquadest. Campuran diaduk pada temperatur kamar selama 10 menit sebelum penambahan 1,5 ml larutan natrium karbonat 20%. Campuran dipanaskan pada temperatur 40°C selama 20 menit, kemudian didinginkan. Pengukuran absorban dilakukan pada panjang gelombang 755 nm. Kadar total fenol dapat ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier dari larutan standar asam galat dimana tiap mg larutan standar asam galat equivalen 100 g berat sampel segar sawi.

3.3.10. Analisis vitamin C

Sawi dipotong-potong (20g) dan digerus dengan menggunakan lumpang hingga membentuk homogenat. Homogenat dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan ditambah aquadest hingga tanda batas, lalu disentrifuga selama 1 menit pada 4000 rpm. Sebanyak 20 ml larutan yang telah disentrifuse ditambah 2 ml larutan amilum 1% dan 20 ml aquadest, lalu dititrasasi dengan 0,01 N standar Yodium. Satu mililiter yodium setara dengan 0,88 miligram vitamin C (Soedarmadji dkk, 1997).

3.3.11. Penentuan aktivitas antioksidan

Sampel sebanyak 5 g digerus, lalu dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas. Asam linoleat (50 µl) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml etanol. Ekstrak sawi (50 µl) ditambahkan ke dalam larutan, lalu divortex. Larutan didiamkan dalam tempat gelap pada suhu 25°C selama 24 jam. Sebanyak 100 µl FeCl₂ 0,014 M dan KSCN 30% sebanyak 100 µl ditambahkan pada masing-masing tabung. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 500 nm.

Absorban blanko diukur pada waktu 0 dan setelah 24 jam. Blanko ekstrak sawi adalah sawi itu sendiri ditambahkan FeCl₂ dan KSCN (Lindsey dkk, 2002).

$$\% \text{Hambatan} = \left[1 - \frac{(A S t_{24} - A B E t_{24} - A S t_0)}{A B t_{24} - A B t_0} \right] \times 100 \%$$

Keterangan ; A = absorbansi

B = blanko

E = ekstrak

S = sampel

t = waktu

3.3.12. Analisis data

Data dianalisis untuk melihat apakah dengan perlakuan 3 ekstrak tanaman terfermentasi (ETT) dan 2 kontrol akan memberikan perbedaan antara aktivitas antioksidan, total fenol dan vitamin C pada tanaman sawi. Penelitian ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Data tinggi tanaman, berat segar, persentase kerusakan daun, aktivitas antioksidan, total fenol dan vitamin C akan dianalisis secara statistik dengan metoda ANOVA. Jika signifikan akan diuji selanjutnya dengan metode Duncan jarak berganda.