III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Maret—Juni 2012 bertempat di Bendungan Batu Tegi Kabupaten Tanggamus dan Laboratorium Nutrisi Ternak Perah Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tepung Kiambang. Peralatan yang digunakan untuk analisa unsur Ca, P, Mg dan Zn adalah neraca analitik empat desimal, tabung *digestion*, blok *digestion*, pengocok tabung, dispenser, tabung reaksi, Spektrofotometer dan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Analisis dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ternak Perah Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Pengukuran unsur Ca, Mg dan Zn pada Kiambang (*Salvinia molesta*) menggunakan SSA, sedangkan unsur P menggunakan Spektrofotometer.

C. Metode Penelitian

1. Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 2 ulangan. Perlakuannya sebagai berikut.

P1: Seluruh bagian Kiambang

P2: Daun muda Kiambang

P3: Daun tua Kiambang

P4: Akar muda Kiambang

P5: Akar tua Kiambang

2. Analisis data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan atau 1%. Apabila hasil analisis ragam diperoleh peubah yang nyata atau sangat nyata, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda nyata terkecil).

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Sampel

Penelitian ini dimulai dari persiapan tepung Kiambang (*Salvinia molesta*) yang diperoleh dari Bendungan Batu Tegi, Kabupaten Tanggamus. Kiambang diambil secara acak dalam bendungan kemudian dibersihkan dari kotoran dan menimbang (masing-masing) sesuai dengan tempat pengambilannya. Selanjutnya, Kiambang dipotong-potong sepanjang ± 2 cm agar proses pengeringan lebih cepat atau di oven pada suhu 60 ^{o}C. Kiambang yang sudah kering kemudian digiling dengan mesin penggiling yang menggunakan *filter* kehalusan 0,5 mm. Kiambang yang sudah menjadi tepung disimpan rapat-rapat dan diberi nama.

2. Cara Kerja Membuat Pereaksi

a. Standar 0 (nol): Memasukkan 1 ml $HClO_4$ Pekat (60%) ke dalam labu ukur 100 ml yang telah berisi air bebas ion hingga 50 ml, goyangkan dan tambahkan air bebas ion hingga tepat 100 ml (pengenceran 100 kali).

b. Pereaksi P: Melarutkan 12 g $(NH_4)_6$ $MO_7O_{24}.4H_2O$ dalam 100 ml air bebas ion. Tambahkan 140 ml H_2SO_4 pekat, 0,227 g $K(SbO)C_4H_4O_6.0,5$ H_2O dan air bebas ion hingga 1l.

c. Pereaksi pewarna P: Mencampurkan 1,06 g asam askorbat dan dan 100 ml pereksi P, kemudian dijadikan 1l dengan air bebas ion

d. Standar induk PO_4 200 ppm: Memasukkan 50 ml standar induk PO_4 1000 ppm Titrisol ke dalam labu ukur 250 ml. Tambahkan air bebas ion sampai dengan tanda garis, lalu dikocok hingga homogen.

e. Deret standar PO_4 (0 – 200 ppm): Masukkan berturut-turut 0; 1; 2; 4; 6; 8; dan 10 ml larutan standar 200 ppm PO_4 ke dalam tabung reaksi. Tambahkan stardar 0 (nol), sehingga volume masing-masing tabung reaksi menjadi 10 ml. Deret standar ini memiliki kepekatan 0; 20; 40; 80; 120; 160; dan 200 ppm $P0_4$.

f. Larutan asam campur: Memasukkan secara berurutan ke dalam labu ukur 1l 50 ml CH_3COOH pekat (100%), 20 ml HCl pekat (37%), dan 20 ml H_3PO_4 pekat (70%) Tambahkan dengan air bebas ion hingga 1l.

g. Standar 5 ppm Mg dan 250 ppm Ca: Masukkan masing-masing 1,0 ml standar pokok 1000 ppm Mg dan 25,0 ml standar pokok ppm Ca ke dalam labu ukur 100 ml, ditambahkan perlahan-lahan 1 ml $HClO_4$ pekat, kemudian ditambah air bebas ion hingga tepat 100 ml.

h. Deret standar Mg (0 – 10 ppm) dan Ca (0 – 250 ppm): Memasukkan standar campur sebanyak 0; 1; 2; 4; 6; 8; dan 10 ml, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dijadikan 10 ml dengan larutan 0 (nol). Deret standar campur akan memiliki kepekatan:

S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
0	1	2	4	6	8	10	ppm Mg
0	25	50	100	150	200	250	ppm Ca

i. Larutan La 2,5%: Menimbang 44,14 g LaCl3, dilarutkan dengan air bebas ion hingga 1 l.

j. Larutan La 0,25% : Larutan La 2,5% diencerkan 10 kali dengan air bebas ion.

k. Standar 2,5 ppm Zn: Masukkan 2,5 ml standar pokok 1000 ppm Zn ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan perlahan-lahan 1 ml $HClO_4$ pekat, kemudian ditambah air bebas ion hingga tepat 100 ml.

l. Deret standar Zn (0-2,5 ppm): Masukkan standar campur sebanyak 0; 1; 2; 4; 6; 8; dan 10 ml ke dalam masing-masing tabung reaksi dan dijadikan 10 ml dengan larutan 0 (nol). Deret standar ini akan memiliki kepekatan 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ppm Zn (Balai Penelitian Tanah, 2009).

3. Cara Kerja Pembuatan Ektrak Kiambang

Menimbang 0,5 gr Kiambang kemudian dimasukkan kedalam tabung *digest*, lalu ditambahkan 5 ml asam nitrat pekat (p.a) dan 0,5ml asam perklorat pekat , didiamkan selama satu malam. Esok harinya, dipanaskan pada suhu 100 ^{o}C selama 1 jam 30 menit, kemudian suhu ditingkatkan menjadi 130 ^{o}C selama 1 jam, suhu ditingkatkan lagi menjadi 150 ^{o}C selama 2 jam 30 menit (sampai uap kuning habis, bila masih ada uap kuning maka pemanasan diperpanjang), setelah uap kuning habis suhu ditingkatkan menjadi 200 ^{o}C selama 1 jam (hingga

terbentuk uap putih). Destruksi selesai dengan terbentuknya endapan jernih atau sisa larutan jernih sekitar 0,5 ml. Ekstrak Kiambang didinginkan kemudian diencerkan dengan air bebas ion menjadi 50 ml, lalu dikocok hingga homogen, didiamkan satu malam (Balai Penelitian Tanah, 2009).

a. Pengukuran P

Pipet masing-masing 1 ml ektrak Kiambang dan deret standar 0-200 ppm PO_4 ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 9 ml air bebas ion dan kocok. Dipipet masing-masing 1 ml ekstrak Kiambang dan deret standar P ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 ml pereaksi pewarna P, kocok dengan pengocok tabung hingga homogen dan biarkan 30 menit. Unsur P dalam larutan diukur dengan alat Spektrofotometer pada panjang gelombang 889 nm (Balai Penelitian Tanah, 2009). Untuk mengetahui persentase kadar P pada Kiambang dapat menggunakan persamaan sebagai berikut.

P (%) = ppm kurva x 0,01 x 31/95 x fk

Keterangan:

ppm kurva = kadar *sampel* yang didapat dari kurva hubungan antara kadar deret standar dengan pembacaannya setelah dikoreksi blanko.

fk = faktor koreksi kadar air = 100/(100-% kadar air)

b. Pengukuran Ca dan Mg

Pipet 1 ml ekstrak Kiambang dan deret standar masing-masing kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 9 ml larutan La 0,25% (khusus untuk Mg, ekstrak diencerkan terlebih dahulu dengan standar nol sebanyak 5 kali sebelum dipipet). Kocok dengan menggunakan pengocok tabung sampai homogen. Unsur Ca dan Mg diukur dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang 442.7 nm pada unsur Ca dan 285.2 nm pada unsur Mg (Balai Penelitian Tanah, 2009). Untuk mengetahui persentase kadar Ca dan Mg pada Kiambang dapat menggunakan persamaan sebagai berikut.

Ca (%) = ppm kurva x 0,01 x fk

Mg (%) = ppm kurva x 0,5 x fk

Keterangan:

ppm kurva = kadar *sampel* yang didapat dari kurva hubungan antara kadar deret standar dengan pembacaannya setelah dikoreksi blanko.

fk = faktor koreksi kadar air = 100/(100-% kadar air)

c. Pengukuran Zn

Unsur Zn diukur langsung dari ekstrak Kiambang menggunakan SSA dengan panjang gelombang 213.9 nm (Balai Penelitian Tanah, 2009). Deret standar digunakan sebagai pembanding. Unsur Zn menggunakan nyala campuran gas udara –*asetilen.* Untuk mengetahui persentase kadar Zn pada Kiambang dapat menggunakan persamaan sebagai berikut.

Zn (%) = ppm kurva x 100 x fk

Keterangan:

ppm kurva = kadar *sampel* yang didapat dari kurva hubungan antara kadar deret standar dengan pembacaannya setelah dikoreksi blanko.

100 = faktor konversi ke persen

fk = faktor koreksi kadar air = 100/(100-% kadar air)

E. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati yaitu persentase kandungan Kalsium (Ca), Fosfor (P), Magnesium (Mg) dan Seng (Zn) pada daun muda, daun tua, akar tua, akar muda dan tanaman utuh Kiambang (*Salvinia molesta*) yang ada di Bendungan Batu Tegi, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung.