III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2010 hingga Oktober 2011.

Ekstraksi, analisis sifat kimia ekstrak campuran bahan organik dan analisis kandungan asam humat dan asam fulvat dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah tanah Ultisol di Politeknik Negeri Lampung, limbah kulit kakao, limbah kulit kopi, limbah jerami bekas media jamur, limbah kepala udang, pupuk kandang sapi (Pukan), kotoran cacing (Kascing), air destilata, asam asetat 0,01 N, dan bahan-bahan kimia untuk analisis C-organik, N-total, asam humat dan asam fulvat tanah.

Alat yang digunakan adalah kantong pelastik tahan panas, cangkul, ayakan 2mm, erlenmayer, corong, tabung ukur, aluminium foil, kertas saring whatman 42, shaker, spektrofotometer, sentrifius, touch mixer, dan alat-alat gelas untuk analisis tanah.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial (8 x 2) dengan 3 kelompok, secara keseluruhan penelitian ini terdiri dari 48 satuan percobaan.

Faktor I : Ekstrak Campuran Bahan organi dan Limbah Agroindustri (O), yang terdiri dari :

 O_1 = Pupuk kandang + kulit kopi

 O_2 = Pupuk kandang + kulit kakao

 O_3 = Pupuk kandang + jerami bekas media jamur

 O_4 = Pupuk kandang + kepala udang

 $O_5 = Kascing + kulit kopi$

 $O_6 = Kascing + kulit kakao$

 $O_7 = Kascing + jerami bekas media jamur$

 $O_8 = Kascing + kepala udang$

Faktor II: Jenis Pengekastrak (E), yang terdiri dari:

 $E_1 = Air Destilata (H2O)$

 $E_2 = Asam Asetat (CH3COOH) 0,01 N$

Data yang diperoleh akan dirata-ratakan berdasarkan kelompoknya, setelah itu data yang diperoleh kemudian diuji homogenistas dengan Uji Bartlett dan aditivitas dengan Uji Tukey. Selanjutnya dilakukan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan perbedaan perlakuan diuji dengan uji BNT pada taraf 5%.

3.4 pelaksanaan penelitian

3.4.1 Cara Pengambilan Contoh Tanah

Contoh tanah yang digunakan pada penelitian ini berasal dari lahan yang belum pernah diolah yang hanya ditanami rumput di Politeknik Negeri Lampung. Pengambilan sampel tanah diawali dengan menentukan titik koordinat dengan menggunakan GPS (*Geographic Positioning System*) pada titik koordinat 050 21' 19,7" LS dan 1050 13' 41,5" BT. Contoh tanah dikelompokkan menjadi 3 berdasarkan kesuburan tanahnya contoh tanah diambil sebanyak 5 titik setiap ulangan, hingga kedalaman 20 cm disetiap titik. Kemudian contoh tanah yang diambil pada setiap titik dikompositkan berdasarkan ulangan. Selanjutnya contoh tanah lembab diayak degan menggunakan ayakan 2 mm. Tujuan dari pengayakan adalah untuk memisahkan tanah dari akar-akar halus tanaman, dan butiran-butiran tanah yang digunakan lebih halus. Sebagian contoh tanah di kering udarakan untuk dilakukan analisis pH, C-organik, dan N-total.

3.4.2 Pencampuran Limbah dan Bahan Organik

Limbah yang digunakan didapat dengan cara membeli langsung ke pusat pengadaan limbah. Untuk kepala udang didapat dari peternakan udang di PT Central Pertiwi Bahari, kulit kakao dan kulit kopi didapat dari perkebunan rakyat, sedangkan untuk jerami bekas media jamur didapat dari tempat budidaya jamur. Sedangkan pupuk kandang sapi didapat dari peternakan sapi dan kascing didapat dengan membeli langsung ke peternakan cacing tanah di Bandung.

Masing-masing dari limbah agroindustri dipotong-potong hingga berukuran kecil (1-2 cm) kemudian dicampurkan dengan pupuk kandang atau kascing dengan perbandingan 2:1 dengan aplikasi 5 kg limbah agroindustri dicampurkan 2,5 kg bahan organik, kemudian campuran bahan organik dan limbah agroindustri tersebut dimasukkan kedalam kantong pelastik hitam besar dan di inkubasi selama ± 2 minggu atau hingga C/N kurang dari 20. Setelah itu dilakukan ekstraksi terhadap campuran bahan organik dan limbah agroindustri tersebut. Proses dekomposisi masing-masing limbah agroindustri tidak terjadi secara bersamaan, sehingga di perlukan *refrigenerator* untuk menyimpan bahan-bahan yang telah mencapai C/N kurang dari 20.

3.4.3 Ekstraksi Limbah Agroindustri dan Bahan Organik

Ekstrak bahan organik dan limbah agroindustri dilakukan dengan sedikit memodifikasi metode yang dilakukan oleh Gogliotti, dkk. (2005). Campuran bahan organik diekstrak dengan menggunakan air destilata dan asam asetat (CH₃COOH) 0,01 N, dengan perbandingan berdasarkan volume (B:E) 1:5 yaitu 20 gr limbah ditambahkan dengan 100 ml air destilata atau asam asetat 0,01 N untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Campuran akan dikocok selama 2 x 24 jam dengan kecepatan 190rpm. Kemudian disentrifius selama 30 menit dengan kecepatan 3000rpm dan disaring dengan menggunakan kertas saring whatman 42, setelah itu ekstrak dianalisis sifat kimianya.

3.4.4 Tata Pelaksanaan Penelitian

Analisis tanah awal C-organik, N-total, dan pH tanah dilakukan pada sampel tanah yang diambil. Tanah yang diaplikasi sebanyak 3,26 kg berat basah, masing-masing dimasukkan kedalam polibag berlubang dan ditutup rapat kemudian simpan dalam ruangan dengan suhu kamar. Selanjutnya tanah dikondisikan pada kelembaban 75% kapasitas lapang dengan cara seminggu sekali ditimbang dan ditambahkan air bila diperlukan. Kadar air 75% kapasitas lapang karena kondisi tersebut yang paling optimum untuk proses dekomposisi bahan organik.

Untuk setiap contoh tanah dikeluarkan dari polibag kemudian diaplikasikan masing-masing ekstrak campuran bahan organik dan limbah agroindustri dengan dosis 10 % dari berat tanah yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan 3,26 kg tanah sehingga dosis ekstrak yang diaplikasikan adalah 326 ml dengan konsentrasi 60%. Kemudian 60% ekstrak disiramkan pada tanah dan diaduk merata diatas plastik berukuran besar, setelah itu dimasukkan kembali kedalam polibag. Kadar air dikembalikan pada kondisi 75% kapasitas lapang dengan cara ditimbang. Pengambilan contoh tanah untuk pengamatan terhadap kadar asam humat dan asam fulvat dilakukan pada hari ke-0, 7, 15, dan 30 setelah inkubasi. Setelah hari ke-30 contoh tanah diambil untuk dilakukan analisis terhadap pH-tanah, C-organik, dan N-total tanah.

3.4.7 Pengamatan

1. Variabel Utama

Variabel utama yang diamati adalah kadar asam humat dan asam fulvat dengan metode ekstraksi wanatabe dan Kuatsuka pada hari ke-0, ke-7, ke-15, dan ke-30 setelah aplikasi

a. Analisis Asam Humat dan Fulvat

Tanah yang mengandung sekitar 100 mg C dimasukkan ke dalam tabung sentrifius 125 ml, kemudian ditambah 30 ml 0,01 N NaOH. Segera ke dalam tabung tersebut dialiri gas N₂, setelah itu ditutup rapat, dan biarkan selama 48 jam dengan sekali-kali dikocok selama 3 menit dengan selang waktu 3 jam. Setelah itu ditambahkan 0,9 g Na₂SO₄, dan disentrifius pada 5000 rpm selama 20 menit. Larutan beningnya dituangkan pada labu ukur 100 ml. Ekstraksi diulang sekali lagi dengan cara yang sama dan larutan beningnya disatukan dengan yang pertama. Kemudian larutan tersebut diasamkan dengan H₂SO₄ pekat hingga pHnya 1,0 dan biarkan larutan berkoagulasi selama 24 jam. Setelah itu pisahkan endapannya dengan menyentrifius pada 3000 rpm selama 10 menit. Larutan beningnya (Asam Fulvat) dituangkan pada labu ukur 100 ml. Endapannya dilarutkan kembali dengan 30 ml NaOH 0,1 N, kemudian asamkan kembali larutan tersebut hingga pH 1,0 dengan menambahkan asam sulfat pekat. Biarkan selama 24 jam agar berkoagulasi. Endapannya dipisahkan kembali dengan menyentrifius pada 3000 rpm selama 10 menit. Larutan beningnya disatukan dengan yang pertama dan ditepatkan sampai tanda tera dengan NaOH 0,1 N.

Endapan asam Humat dilarutkan kembali dengan NaOH 0,1 N dan tuangkan dalam labu ukur 25 ml dan tepatkan pada tanda tera.

b. Penetapan Larutan Standar

Sebanyak 437,5 mg sukrose dilarutkan dalam labu ukur 50 ml dengan air suling. Masing-masing sebanyak 1, 2, 3, 4, 5 ml dari larutan tersebut diambil dan dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dan ditetapkan sampai tanda tera dengan air suling. Larutan ini disimpan didalam lemari es (refrigenerator) konsentrasi larutan yang digunakan 140, 280, 420, 560, dan 700 ppm C.

c. Penetapan Kadar C pada Asam Humat dan Asam Fulvat

Penetapan kadar C pada asam humat dan asam fulvat dilakukan dengan metode Tatsukawa (1966) sebagai berikut : dimasukkan 2 ml larutan contoh tanah ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 4 ml larutan K₂CrO₇ 0,5 N dalam asam sulfat pekat dan segera aduk dengan menggunakan touch mixer. Setelah temperaturnya turun sama dengan suhu kamar, absorbance diukur pada panjang gelombang 645 nm. Perhitungan kadar C pada asam humat dan asam fulvat dilakukan dengan kalibrasi larutan standar.

2. Variabel Pendukung

Variabel pendukung yang diamati pada awal dan akhir penelitian adalah :

- Analisis tanah awal (sebelum) perlakuan dan di akhir waktu inkubasi yaitu pH,
 C-organik, N-total, dan kadar air tanah.
- 2. Analisis C-organik (metode Walkley dan Black) dan N-total (metode Kjeldahl) dan C/N ratio bahan organik dan limbah agroindustri.