

## IV. METODA PENELITIAN

### A. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Balai Penelitian Karet Getas Salatiga, dan dilanjutkan di Balai Industri Semarang pada bulan Januari sampai bulan Maret 1995.

### B. Bahan Dan Alat Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Daun karet (*Hevea brasiliensis*) klon RRIC 110, AVROS 2037, dan PR 261.
2. Cat kuku warna bening.
3. Gelas benda.
4. Gelas penutup.
5. Mikroskop.
6. Mikrometer.
7. Bahan-bahan kimia untuk analisis proksimat.
8. Seperangkat alat untuk analisis proksimat.

### C. Cara Kerja

#### C.1. Pengambilan Sampel

Setiap klon yang diamati diwakili oleh empat buah pohon yang dipilih secara acak. Pada tiap pohon diambil tiga sampel daun dari tiga bagian yang berbeda, yaitu bagian ujung, bagian tengah, dan bagian pangkal. Ulangan pada tiap pohon dilakukan sebanyak lima kali.

Daun-daun tersebut dihitung jumlah stomatanya dan dilakukan uji proksimat.

### C.2. Pembuatan Preparat untuk Menghitung Jumlah Stomata

Pembuatan preparat stomata ini dilakukan dengan mengoleskan cat kuku bening pada permukaan daun karet bagian bawah, ditunggu sampai cat kuku mengering. Kemudian dengan hati-hati cat kuku bening yang telah mengering tersebut dipisahkan dari daun dan diletakkan di atas gelas benda, ditetesi sedikit air, ditutup dengan gelas penutup. Preparat tersebut kemudian diamati di bawah mikroskop.

Adapun cara menghitung jumlah stomatanya dengan menggunakan mikrometer. Kotak mikrometer yang digunakan mempunyai luas  $1 \text{ mm}^2$ . Maka banyaknya stomata yang terdapat pada kotak, yang terlihat dengan pengamatan mikroskop tersebut merupakan jumlah stomata per  $\text{mm}^2$  dari daun yang diamati.

### C.3. Analisa Proksimat

#### C.3.a. Analisa Kadar Air

Botol timbang dicuci, kemudian dikeringkan dalam oven selama satu jam pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$ , dan dimasukkan dalam eksikator selama 15 menit. Selanjutnya beratnya ditimbang, misalnya beratnya x gr. Sejumlah sampel ditimbang dan dikeringkan

dalam oven selama 4 - 6 jam pada keadaan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$ , kemudian didinginkan dalam eksikator selama 15 menit. Lalu ditimbang beratnya, misal beratnya  $z$  gr. Pengeringan ini diulangi sampai 3 x 1 jam, sampai sampel konstan.

Perhitungan kadar air :

$$\frac{x + y + z}{y} \times 100 \%$$

#### C.3.b. Analisa Kadar Abu

Cawan porselin dicuci bersih dengan air, kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  selama satu jam, selanjutnya didinginkan dalam eksikator selama satu jam dan ditimbang beratnya, misal  $x$  gr. Sejumlah sampel ditimbang, misal beratnya  $y$  gr, penimbangan dengan menggunakan cawan porselin sebagai tempatnya. Kemudian dipijarkan dalam tanur listrik pada suhu  $400^{\circ}\text{C}$  -  $600^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 4 - 6 jam sampai menjadi abu putih semua. Cawan porselin selanjutnya diangkat dari tanur listrik, didinginkan sebentar sampai suhu sekitar  $120^{\circ}\text{C}$ . Selanjutnya didinginkan dalam eksikator selama 1 jam, ditimbang beratnya, misal  $z$  gr.

Perhitungan kadar abu :

$$\frac{z - x}{y} \times 100 \%$$

### C.3.c. Analisa Kadar Serat Kasar

Labu erlenmeyer dimasukkan ke dalam oven pada temperatur  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  selama satu jam, dan didinginkan dalam eksikator selama satu jam dan ditimbang. Sampel dimasukkan dalam erlenmeyer, ditimbang, misal beratnya x gr. Ke dalam labu erlenmeyer dimasukkan 50 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,3 N dan dimasak hingga mendidih selama 30 menit. Kemudian cairan tersebut disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kertas saring yang telah dipasang pada corong Buchner. Kertas saring terlebih dahulu dikeringkan dalam oven pada keadaan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  selama satu jam. Selanjutnya didinginkan dalam eksikator selama satu jam, ditimbang beratnya, misal a gr. Penyaringan dilakukan dalam labu penghisap. Selanjutnya dicuci berturut-turut dengan 50 ml air panas, 50 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,3 N, 25 ml aceton. Kertas saring dan isinya dimasukkan dalam cawan porselin lalu dikeringkan dalam oven pada keadaan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  selama satu jam. Setelah itu didinginkan dalam eksikator

selama satu jam, kemudian ditimbang beratnya, misal y gr.

Perhitungan kadar serat kasar :

$$\frac{y - z - a}{x} \times 100 \%$$

#### C.3.d. Analisa Kadar Lemak

Pembersihan semua alat, kemudian dicuci lalu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C - 110°C selama satu jam. Kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama satu jam, ditimbang berat lalu penyari yang akan digunakan misal a gr. Penimbangan kertas saring yang sebelumnya telah dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C - 110°C selama satu jam, dan selanjutnya dimasukkan ke dalam eksikator selama satu jam, misal b gr. Selanjutnya sampel bersama dengan kertas saring ditimbang, misal berat c gr. Jadi berat sampel : (b-c) gr, misal x gr. Sampel kemudian dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam soxhlet yang telah terpasang dalam water bath, kemudian dituangkan diethyl eter. Kemudian dipasang alat pendingin tegak yang dialiri air dengan dingin. Setelah semua siap, maka penyaringan dilakukan sampai diethyl eter di dalam

soxhlet menjadi jernih (3-4) jam. Labu penyari yang berisi lemak dan diethyl eter dimasukkan ke dalam oven pada keadaan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  selama satu jam.

Kemudian labu penyari dan lemak ditimbang, misal untuk beratnya d gr.

Perhitungan kadar serat kasar :

$$\frac{d - a}{x} \times 100 \%$$

#### C.3.e. Analisa Kadar Protein

Pencucian labu destruksi, kemudian dioven pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  selama satu jam. Selanjutnya dimasukkan ke dalam eksikator selama satu jam, ditimbang misal beratnya a gr. Masukkan sampel ke dalam labu destruksi dan ditimbang, misal beratnya b gr. Sehingga nantinya didapatkan berat sampel (b - a) gr = x gr. Ke dalam labu destruksi dimasukkan 3 gr  $\text{KHSO}_4$  ditambah 1 gr  $\text{CuSO}_4$  serta ditambahkan 25 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan dicampur.

Semua bahan yang ada di dalam labu destruksi dipanaskan secara perlahan-lahan dalam almari asam, mula-mula dengan nyala api kecil sampai tidak berasap atau tidak berbuih lagi, baru kemudian nyala api diperbesar

selama 2 jam. Pendidihan (destruksi) bahan dalam labu Kjeldahl terus dilakukan sampai terjadi perubahan warna larutan menjadi hijau jernih. Setelah itu labu didinginkan, baru kemudian hasil dari destruksi dimasukkan ke dalam labu distalasi yang telah dipasang pada rangkaian alat distalasi. Lalu digojog dengan 100 ml air panas, kemudian ditambahkan 100 ml NaOH 33 %. Hasil sulingan ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi  $H_2SO_4$  0,3 N, 50 ml dan ditambah indikator campuran MR sebanyak 2 tetes.

Penyulingan diteruskan hingga diharapkan semua N dari larutan dapat ditangkap oleh  $H_2SO_4$  0,3 N dan berakhir jika air dalam labu tinggal 1/3 bagian. Hasil sulingan tersebut diambil dan dititir dengan NaOH 0,3 N sampai terjadi perubahan warna yang semula ungu berubah menjadi hijau. Jumlah titar untuk titrasi distilasi misal z ml.

Selanjutnya dibuat larutan blanko dari  $H_2SO_4$  0,3 N sebanyak 50 ml ditambah indikator campuran MR dan MB sebanyak 2 tetes. Jumlah titar untuk pelaksanaan titrasi blanko misal y ml. NaOH 0,3 N sebelum digunakan terlebih dahulu distandarisasi dengan asam oksalat 0,3N untuk mengetahui normaliteitnya.

Standarisasi dengan asam oksalat karena tidak dapat dibuat NaOH 0,3 N tepat, sebab sifat kristal NaOH yang higroskopis.

Normalitas NaOH inilah nantinya yang akan digunakan dalam perhitungan analisis kadar protein.

Perhitungan kadar protein :

$$\frac{(y-z) \times N \text{ NaOH} \times 0,014 \times 6,25}{x} \times 100 \%$$

#### D. Analisa Data

Setelah data diperoleh dilakukan analisis varian dari rancangan percobaan acak lengkap pada taraf uji 5%. Kemudian dilanjutkan dengan uji regresi dan korelasi untuk mengetahui hubungan antara jumlah stomata dengan kandungan hasil metabolisme daun. Uji tersebut secara matematis dirumuskan sebagai berikut :

- Regresi

$$y = a + bx$$

dimana y = kandungan hasil  
metabolisme

a = intersep

b = koefisien regresi

x = jumlah stomata



- Korelasi

$$r = \frac{\Sigma xy - (\Sigma x \Sigma y / n)}{\sqrt{(\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2/n)(\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2/n)}}$$

dimana  $r$  = koefisien korelasi

$x$  = jumlah stomata

$y$  = kandungan hasil metabolisme

$n$  = banyaknya pasangan peubah

(Scheffler, 1987)

