

BAB IV

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal (umur tanaman kunci pepet) dengan lima taraf perlakuan yaitu tanaman berumur 30 hari (P1), 45 hari (P2), 60 hari (P3), 75 hari (P4), dan 90 hari (P5). Masing-masing perlakuan dengan tiga ulangan.

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2000 sampai dengan bulan Februari 2001 di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan serta Laboratorium Kimia Bahan Alam F MIPA UNDIP.

B. Bahan dan Alat

1. Bahan

- a) Rimpang kunci pepet untuk bibit diperoleh dari Kelurahan Tembalang
- b) Tanah, pupuk kandang, pasir, arang sekam.
- c) Pupuk urea, TSP, KCl
- d) Bahan untuk analisa kuantitatif.

2. Alat

- a) Nampan plastik ukuran 40 x 25 cm
- b) Polibag hitam (40 x 35 cm)
- c) Mikroskop

- d) Neraca O'Haus, penggaris, termometer, mikropipet 50 μ l dan 10 μ l, gelas ukur,
- e) Perangkat destilator air *ChP*, corong pisah, dan *rotary evaporator*.

C. Cara Kerja

1. Persiapan Bibit

- a. Pembuatan media pembibitan dilakukan dengan mencampur pupuk kandang, arang sekam dan pasir dengan perbandingan 1:1:1 lalu diisikan pada nampan plastik (Utami, 1994).
- b. Rimpang kunci pepet dipilih yang sudah tua (bertekstur keras dan berbuku-buku), mempunyai 2 mata tunas, panjang 3-4 cm, dengan berat antara 30-50 g (Ashari, 1995) yang telah dicuci dan dikering-anginkan kemudian diletakkan pada media pembibitan dengan jarak antarrimpang 5 x 5 cm lalu ditutup dengan media pembibitan untuk ditumbuhkan pada lingkungan lembab selama \pm 7 hari sampai tumbuh tunas.

2. Penanaman dan Pemeliharaan

a. Persiapan Media Tanam

Pembuatan media tanam dilakukan dengan mencampur tanah, pupuk kandang, dan pasir dengan perbandingan 1:1:1 lalu diisikan sampai 2/3 tinggi polibag.

b. Penanaman dan pemeliharaan

- 1) Bibit yang sudah siap lalu ditanam pada media tanam dalam polibag; penanaman dilakukan mulai dari umur 90 hari, penanaman berikutnya dilakukan dengan selang waktu 15 hari untuk umur 75, 60, 45, dan 30 hari, sehingga dicapai waktu panen yang bersamaan.
- 2) Tanaman dipupuk dengan urea sebanyak 0,75 g; KCl 0,75 g dan TSP 1 g ditambahkan pada saat penanaman (Muhlisah, 1999).
- 3) Penyiraman dengan air dilakukan setiap hari, jika terdapat tanaman pengganggu dilakukan penyiangan dan untuk mencegah hama maka sekitar rumah kaca ditutup dengan kasa plastik.

3. Parameter

a. Rendemen Minyak Atsiri (dalam %)

1) Pengambilan Sampel

Setelah tanaman berumur 30, 45, 60, 75, dan 90 hari (dihitung dari mulai penanaman) dilakukan pengambilan sampel, yaitu tiga urutan daun terbawah lalu daun dicuci dengan air dan dikering-anginkan selama semalam.

2) Isolasi Minyak Atsiri (Rekomendasi *ChP/Chemical Pharmacopoeias*)

- a) Sampel daun kunci pepet ditimbang beratnya lalu didestilasi menggunakan air sebanyak 500 ml selama lima jam dihitung dari tetesan pertama destilat yang keluar (Wagner, Bladt dan Zgainski, 1984; Zhi-cen, 1980).

- b) Destilat yang diperoleh kemudian dilarutkan dengan pelarut n-heksana, setelah itu diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan minyak atsiri dari daun kunci pepet.
 - c) Minyak atsiri yang diperoleh dari penguapan pelarut diukur dengan menggunakan mikropipet lalu dihitung dalam mililiter minyak per-100 g bahan (Zhi-cen, 1980).
- b. Tinggi Tanaman (dalam cm)
- Tinggi tanaman diukur mulai dari pangkal daun terbawah sampai ujung daun teratas yang disatukan ke atas.
- c. Berat Basah Daun (dalam g)
- Semua daun ditimbang mulai dari daun pertama (terbawah) sampai dengan daun paling atas.
- d. Jumlah Helaian Daun
- Jumlah helaian daun dihitung mulai daun pertama (terbawah) sampai dengan daun paling atas.
- e. Jumlah Trikoma Daun (per mm bidang pandang) (Zhi-cen, 1980)
- 1) Daun yang akan dihitung trikomanya adalah daun ke dua dari bawah.
 - 2) Bagian yang akan diamati adalah bagian tengah helaian daun dan dipotong melintang sepanjang 6 mm.
 - 3) Sampel diamati dengan mikrometer dengan perbesaran 10 x 40.
 - 4) Jumlah trikoma daun yang diamati dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah trikoma} = \frac{\text{Jumlah trikoma yang teramati}}{\text{Jumlah skala okuler bidang pandang}} \times \frac{1}{K}$$

dengan K : faktor kalibrasi (0,0024 mm).

- f. Berat Basah Rimpang beserta Akarnya (dalam g)

Rimpang beserta akarnya ditimbang mulai dari bagian perbatasan pangkal akar sampai ujung akar.

- g. Jumlah Umbi Akar

Umbi akar yang dihitung adalah akar yang mengalami penggelembungan pada ujung akarnya.

- h. Suhu Mingguan Rumah Kaca (dalam °C)

Suhu rumah kaca diukur setiap minggu pada waktu siang hari.

D. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) pada taraf signifikansi 0,01 dan 0,05; apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan Uji Wilayah Berganda Duncan pada taraf signifikansi 0,01 dan 0,05.