III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2016 sampai dengan bulan April 2016 di Rumah Kaca Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Analisis kualitas tanah dan tanaman dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan ialah (1) gembor, (2) peralatan laboratorium, (3) timbangan analitik. Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi (1) Benih *B. juncea, B. oleracea, dan B. rapa*, (2) Tanah Andisol lapisan atas (kedalaman 0-30 cm) yang akan ditambahkan sebanyak 1 kg per polybag diperoleh dari daerah Bumiaji, Kota Batu, (3) polybag ukuran 1 kg (4) kontaminan Timbal (Pb) dalam bentuk Timbal (II) nitrat (Pb(NO₃)₂) yang didapat dari Laboratorium Kimia an-organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Brawijaya.

3.3. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kaca dengan menanam tanaman fitoekstraktor (Famili *Brassicaceae*) *B. juncea*, *B. oleracea*, dan *B. rapa* pada berbagai konsentrasi cemaran Timbal (Pb) yang berbeda. Tanaman *B. juncea*, *B. oleracea*, dan *B. rapa* yang digunakan dalam bentuk bibit yang sudah disemai sebelumnya. Setiap polybag akan ditanam sejumlah 1 bibit per tanaman. Perlakuan yang akan diuji coba terdiri dari kombinasi tiga spesies tanaman (*B. rapa*, *B. juncea*, *B. oleracea*), dan empat konsentrasi Pb (0, 100, 200, 300, mg kg⁻¹). Dua belas perlakuan (3 species tanaman dan 4 konsentrasi Pb) disusun dalam Rancangan Acak Kelompok dengan tiga ulangan. Kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan

Perlakuan	Keterangan
F1T0	Tanaman Brassica juncea dengan penambahan Timbal 0 mg kg ⁻¹
F1T1	Tanaman Brassica juncea dengan penambahan Timbal 100 mg kg ⁻¹
F1T2	Tanaman Brassica juncea dengan penambahan Timbal 200 mg kg ⁻¹
F1T3	Tanaman Brassica juncea dengan penambahan Timbal 300 mg kg ⁻¹
F2T0	Tanaman Brassica oleracea dengan penambahan Timbal 0 mg kg ⁻¹
F2T1	Tanaman Brassica oleracea dengan penambahan Timbal 100 mg kg ⁻¹
F2T2	Tanaman Brassica oleracea dengan penambahan Timbal 200 mg kg ⁻¹
F2T3	Tanaman Brassica oleracea dengan penambahan Timbal 300 mg kg ⁻¹
F3T0	Tanaman Brassica rapa dengan penambahan Timbal 0 mg kg ⁻¹
F3T1	Tanaman Brassica rapa dengan penambahan Timbal 100 mg kg ⁻¹
F3T2	Tanaman Brassica rapa dengan penambahan Timbal 200 mg kg ⁻¹
F3T3	Tanaman Brassica rapa dengan penambahan Timbal 300 mg kg ⁻¹

3.3.1. Persiapan Media Tanam

Sampel tanah diambil secara komposit untuk dilakukan analisis awal meliputi pH dan konsentrasi logam berat Timbal (Pb). Sebelum dimasukkan ke polybag, sampel tanah dibersihkan dari sisa-sisa akar dan jaringan tanaman yang berukuran besar. Kemudian tanah dikering udarakan selama 7 hari dan dilolos ayakan 2 mm, lalu tanah ditimbang sebanyak 1 kg dan dimasukkan ke dalam polybag.

3.3.2. Pemberian Kontaminan Timbal (II) Nitrat (Pb(NO₃)₂)

Timbal ditambahkan dalam bentuk Timbal (II) Nitrat pada media tanam sebelum dimasukkan ke dalam polybag sesuai perlakuan. Perlakuan T0: tanpa kontaminan Pb 0 mg kg⁻¹, T1: kontaminan Pb 100 mg kg⁻¹, T2: kontaminan Pb 200 mg kg⁻¹, dan T3: kontaminan Pb 300 mg kg⁻¹. Kemudian media tanam diinkubasi selama 2 minggu.

3.3.3. Penanaman Benih

Benih tanaman fitoekstraktor disemai terlebih dahulu selama 2 minggu, kemudian dipindahkan kedalam polybag yang sudah mengalami masa inkubasi setelah diberi penambahan konsentrasi Timbal. Setiap polybag berisi 1 buah bibit tanaman fitoektraktor. Setelah ditanam, tanah disiram dengan air sampai kapasitas lapang. Selanjutnya penempatan polybag di dalam rumah kaca.

3.3.4. Pemeliharaan Tanaman

Penyiraman tanaman dilakukan rutin setiap harinya pada pagi hari dan sore hari. Pemupukan diberikan setalah 14 HST. Pupuk diberikan ke tanah yang berjarak 5 cm dari batang tanaman. Pengendalian hama dilakukan dengan cara mekanik.

3.3.5. Pemanenan Tanaman

Pemanenan tanaman dilakukan pada umur 42 hari setelah tanam. Setiap tanaman dicabut dan diusahakan agar akar tidak putus, kemudian dilakukan pemisahan bagian akar dengan bagian atas tanaman.

3.4 Metode Pengamatan dan Analisis Data

3.4.1. Metode Pengamatan

- 1. Pengamatan Non Destruktif
- a. Tinggi tanaman, diukur dari leher akar tanaman atau permukaan media tanam sampai ujung daun tertinggi
- b. Jumlah daun, ditentukan dengan menghitung seluruh daun yang telah membuka sempurna
- 2. Pengamatan Destruktif
- a. Berat kering tanaman, dilakukan dengan menimbang seluruh bagian tanaman yang telah dioven selama 3x24 jam dengan suhu 60°C.
- b. Berat segar panen, diperoleh dengan menimbang seluruh bagian tanaman (akar, batang, dan daun)
- c. Kandungan Pb (dalam daun, akar, dan tanah) diekstrak dengan cara pengabuan basah menggunakan asam campuran pekat HNO3 dan HClO4. Kadar logam berat Pb dalam ekstrak diukur menggunakan AAS (Atomic Absorbation Spectrofotometri), (Sulaeman *et al*, 2005).

3.4.2. Perhitungan Nilai TF

Faktor translokasi (TF) merupakan rasio konsentrasi logam dalam daun terhadap konsentrasi pada akar, dengan rumus sebagai berikut (Sharma *et al*, 2010):

 $TF = [Pb] \text{ dalam daun mg kg}^{-1}$ $[Pb] \text{ dalam akar mg kg}^{-1}$

Faktor translokasi (TF) merupakan indikator yang dapat membedakan mekanisme akumulasi antara fitostabilisasi dan fitoekstraksi. Jika nilai TF < 1, disebut mekanisme fitostabilisasi, jika nilai TF > 1 maka disebut fitoekstraksi (Liong *et al*, 2010)

3.4.3. Analisis Data

Data pengamatan yang telah didapatkan, kemudian dianalisis dengan menggunakan analisa sidik ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) dilakukan dengan menggunakan Uji F. Hal ini dilakukan untuk menguraikan keragaman data sehingga dapat mengetahui apakah suatu faktor berpengaruh nyata atau tidak terhadap parameter yang diamati. Analisa sidik ragam meliputi kandungan logam berat pada tanah, kandungan logam berat dalam tanaman, biomassa tanaman, jumlah daun dan tinggi tanaman.

Masing-masing F hitung dibandingkan dengan F tabel pada level nyata 5%. Apabila F hitung tabel < F tabel 5% berarti perlakuan tersebut tidak berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati. Jika F hitung perlakuan > F tabel 5% berarti perlakuan berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati. Apabila berbeda nyata akan dilanjutkan uji lanjut menggunakan Uji Lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dan pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan nyata diantara perlakuan.