

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Februari tahun 2023, bertempat di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi untuk perkecambahan dan di Rumah Plastik Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Kelurahan Mugarsari Kecamatan Tamansari Kota Tasikmalaya untuk pertumbuhan vegetatif .

3.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah: cangkul, ember, blender, kertas saring, oven, timbangan digital, sprayer, polybag 25 cm x 35 cm, baki perkecambahan, tabung ukur, penggaris, pisau, erlenmeyer, thermo hygrometer, waterbath, dan pH meter.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: benih kacang hijau varietas kutilang, buah jambu merah, dan air.

3.3 Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial. Faktor pertama yaitu konsentrasi antioksidan ekstrak buah jambu merah dengan 3 taraf, Faktor kedua yaitu Kondisi/kandungan air tanah dengan 3 taraf cekaman kekeringan dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali.

Faktor konsentrasi antioksidan ekstrak buah jambu merah (I) yang dicoba, yaitu:

i_0 = Tanpa pemberian zat antioksidan (Kontrol)

i_1 = Pemberian zat antioksidan dengan konsentrasi 1%

i_2 = Pemberian zat antioksidan dengan konsentrasi 2%

Faktor kandungan air tanah (C) yang dicoba, yaitu:

c_0 = Air tanah dalam kapasitas lapang 100% (control)

c_1 = Air tanah 50% dari kapasitas lapang

c_2 = Air tanah 25% dari kapasitas lapang

Percobaan ini terdiri dari 9 kombinasi perlakuan. Kombinasi perlakuan antara konsentrasi antioksidan ekstrak buah jambu biji merah dengan cekaman kekeringan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Kombinasi cekaman kekeringan (C) dan antioksidan (I)

Antioksidan (I)	Cekaman kekeringan (C)		
	c ₀	c ₁	c ₂
i ₀	i ₀ c ₀	i ₀ c ₁	i ₀ c ₂
i ₁	i ₁ c ₀	i ₁ c ₁	i ₁ c ₂
i ₂	i ₂ c ₀	i ₂ c ₁	i ₂ c ₂

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga keseluruhan terdapat 27 plot percobaan (setiap plot terdiri dari 8 polybag).

Berdasarkan rancangan yang digunakan, model linier dari percobaan faktorial untuk dua faktor yang masing-masing memiliki level a dan b serta n ulangan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \sum_{ijk}$$

Y_{ijk} = Hasil pengamatan pada ulangan ke-i, perlakuan faktor cekaman kekeringan taraf ke-j dan antioksidan taraf ke-k.

μ = Rata-rata umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

α_j = Pengaruh cekaman kekeringan pada taraf ke-j

β_k = Pengaruh antioksidan pada taraf ke-k

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Pengaruh interaksi antara cekaman kekeringan pada taraf ke-j dengan antioksidan pada taraf ke-k

\sum_{ijk} = Komponen random dari galat yang berhubungan dengan perlakuan cekaman kekeringan pada taraf ke-j dan faktor antioksidan pada taraf ke-k dalam ulangan ke-I.

Data hasil pengamatan diolah dengan menggunakan analisis statistik, kemudian dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F yang tersaji pada Tabel 3.

Tabel 2. Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	F _{hit}	F _{0,05}
Ulangan	2	$\frac{\sum x_{ij}^2}{ab} - FK$	JKU/DBU	KTU/KTG	4,46
Perlakuan	8	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	JKP/BDP	KTP/KTG	3,44
Cekaman kekeringan (C)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	JKA/Dba		4,46
antioksidan (I)	2	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	JKB/DBb		4,46
Interaksi (C x I)	4	JKP-JKa-JKb	JKab/Bdab		3,84
Galat	16	JK (T)- JK(U)- JK(P)	JKG/DBG		
Total	26	$\sum x \dots ij^2 - FK$			

Sumber: Gomez and Gomez (2015).

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F hitung, dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil Analisis	Kesimpulan Analisis	Keterangan
F hit ≤ F 5%	Berbeda tidak nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antara perlakuan
F hit > F 5%	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antara perlakuan

Jika hasil analisis ragam terdapat perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$LSR (\alpha, dbg, p) = SSR (\alpha, dbg, p) \times Sx$$

LSR = Least significant range

SSR = Student zed Significant Range

dbg = derajat bebas galat

- α = taraf nyata
 p = jarak
 Sx = Simpangan baku rata-rata perlakuan

1. Apabila terjadi interaksi untuk membedakan pengaruh faktor I pada tiap taraf faktor C atau untuk membedakan faktor C pada tiap taraf faktor I maka Sx diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

$$Sx = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{r}}$$

2. Apabila tidak terjadi interaksi,
 - a. Untuk membedakan pengaruh faktor C (Cekaman Kekeringan) pada seluruh taraf faktor I (Konsentrasi Antioksidan) Sx diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

$$Sx = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{ri}}$$

- b. Untuk membedakan pengaruh faktor I (Konsentrasi Antioksidan) pada seluruh taraf faktor C (Cekaman Kekeringan) Sx diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

$$Sx = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{rc}}$$

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Pembuatan ekstrak buah jambu biji merah

Antioksidan yang digunakan adalah ekstrak dari jambu biji merah. Buah jambu biji merah yang digunakan merupakan buah yang sudah masak fisiologis atau ditunjukkan oleh warna kulitnya yang sudah berwarna kuning. Buah jambu biji terlebih dahulu dicuci dengan air bersih, dipotong dengan ukuran kecil dengan tanpa dibuang kulit dan bijinya kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender tanpa dicampur air. Jambu biji merah yang sudah halus kemudian disaring menggunakan kain kasa sehingga didapatkan ekstrak jambu biji merah yang murni (Muetia, 2016).

3.4.2 Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman sebagai patokan pemberian taraf perlakuan. Pengukuran kapasitas lapang dilakukan dengan cara media tanam polybag yang telah dilubangi bagian bawahnya diisi tanah kemudian disiram dengan air sampai jenuh, didiamkan selama kurang lebih satu malam. Air yang menetes dari polybag tersebut ditampung kemudian diukur volumenya. Kemudian media tanam ditimbang berat basahnya untuk mengetahui berat kapasitas lapang. Kapasitas lapang didapat dari jumlah air yang disiramkan dikurangi jumlah air yang tertampung. Jumlah air yang terikat dalam tanah ditetapkan sebagai 100% kapasitas lapang (Agustinur dkk., 2018).

3.4.3 Penanaman

Benih kacang hijau varietas Kutilang diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi). Daya tumbuh kacang hijau varietas kutilang cukup tinggi yaitu 80% (Jumakir dan Endrizal, 2014).

a. Uji perkecambahan

Pemberian perlakuan antioksidan dilakukan dengan cara invigorasi. Sebelum ditanam benih kacang hijau diberi perlakuan invigorasi dengan cara merendam benih tersebut di dalam air larutan antioksidan ekstrak buah jambu biji merah dengan konsentrasi sesuai perlakuan yang dicoba yaitu 0%, 1% dan 2% selama 12 jam. Setelah 12 jam direndam, kemudian benih dicuci dengan air dan selanjutnya benih dikering anginkan. Benih yang sudah direndam dengan antioksidan ditanam pada baki perkecambahan dengan media tanah dengan kadar air sesuai perlakuan cekaman air sampai umur 7 hari setelah tanam. Setiap perlakuan pada baki berisi 25 benih kacang hijau.

b. Pada uji pertumbuhan vegetatif

Benih ditanam pada polybag ukuran 25 cm x 35 cm dengan media tanah sampai umur 30 hari setelah tanam. Polybag yang disiapkan yaitu sebanyak 216. Setiap perlakuan terdiri dari 8 polybag dengan satu tanaman per polybag (Lampiran 1 dan 2). Pemberian perlakuan antioksidan dengan cara invigorasi dan penyemprotan pada tanaman dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan yaitu

0%, 1% dan 2% ekstrak buah jambu biji merah. Pemberian antioksidan pada kacang hijau dalam polybag diaplikasikan dua kali yaitu pada tanaman berumur 14 dan 21 hari setelah tanam dengan volume penyemprotan ekstrak 30 ml per polybag. Pemberian air sebagai perlakuan cekaman kekeringan dilakukan dengan interval penyiraman satu hari sekali.

3.5 Parameter Pengamatan

3.5.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama penelitian berlangsung. Pengamatan ini terdiri dari temperature, kelembaban udara, organisme pengganggu tanaman (OPT) dan pH tanah.

3.5.2 Pengamatan utama

1. Daya kecambah (%)

Pengamatan dilakukan terhadap benih yang telah berkecambah normal pada hari ke-7 setelah tanam. Kecambah normal dilihat dengan pemunculan dan perkembangan struktur-struktur penting dari embrio, yaitu munculnya calon akar (radikula), calon daun (plumula) dan calon batang (hipokotil) serta kotiledon secara sempurna (Ridha, Syahril dan Juanda, 2017).

Nilai daya berkecambah didapat dengan rumus:

$$\text{Daya kecambah} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

2. Kecepatan tumbuh (%/etmal)

Tolak ukur kecepatan tumbuh mengindikasikan vigor kekuatan tumbuh. Kecepatan tumbuh dihitung berdasarkan jumlah pertambahan kecambah setiap hari atau etmal. Pengamatan dihitung setiap hari mulai hari pertama sampai hari ke-7 setelah tanam (Ridha dkk, 2017). Unit tolok ukur kecepatan tumbuh adalah % per hari atau %per etmal. Kecepatan berkecambah dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kecepatan Tumbuh} = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

Keterangan:

$N1 - Nn$ = Jumlah kecambah normal hari ke 1,2, 7 setelah tanam (%)

$D1 - Dn$ = Jumlah hari setelah tanam (etmal).

n = Akhir Perkecambahan

3. Bobot kering kecambah (g)

Bobot kering kecambah merupakan bobot dari kecambah normal yang telah dibuang kotiledonnya pada hari ke-7 setelah tanam. Penimbangan bobot kering kecambah dilakukan dengan cara membersihkan akar dari kotoran atau tanah, kecambah dikeringkan pada oven dengan suhu 105°C selama 4 jam kemudian ditimbang. Pengamatan bobot kering kecambah menggunakan sampel kecambah normal sebanyak 10 kecambah/baki yang dipilih secara acak.

4. Daya hantar listrik (DHL) kecambah

Daya hantar listrik diamati dengan alat conductivity meter. Kecambah diambil secara acak, masing-masing direndam pada air bebas ion selama 24 jam dengan volume air 100 ml di dalam botol gelas, kemudian diukur daya hantar listrik menggunakan alat conductivity meter.

5. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur dengan menggunakan mistar, mulai dari pangkal batang sampai pucuk. Pengukuran dilakukan pada saat tanaman berumur 7, 14, 21, 30 hari setelah tanam.

6. Jumlah daun (helai)

Tanaman kacang hijau dihitung jumlah daunnya ketika sudah ada daun trifoliat. Perhitungan jumlah daun dilakukan pada saat tanaman berumur 7, 14, 21, 30 hari setelah tanam.

7. Luas daun tanaman (cm^2)

Luas daun tanaman adalah luas daun tanaman yang diukur dari tanaman, pengamatan dilakukan pada saat umur 30 hari setelah tanam menggunakan aplikasi digital *ImageJ*.

8. Bobot kering akar (g)

Akar dipisahkan dari tajuknya kemudian dicuci sampai bersih kemudian dibungkus dengan kertas lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 65°C selama 12 jam, lalu ditimbang dengan timbangan analitik.

9. Bobot kering pupus (g)

Bobot kering pupus dihitung dengan cara memisahkan tajuk dari akarnya kemudian dibungkus dengan kertas lalu di oven pada suhu 65°C selama 12 jam, kemudian ditimbang berat keringnya.

10. Ratio pupus akar

Ratio pupus akar (Shoot/Root Ratio) adalah perbandingan antara bobot kering tanaman bagian atas (pupus) dengan bobot kering tanaman bagian bawah (akar) dari tanaman. Pengukuran dilakukan setelah tanaman dipanen dengan cara memotong bagian akar dan tajuk tanaman kemudian dibungkus dengan kertas lalu di oven 65°C selama 12 jam kemudian ditimbang. Nisbah pupus akar dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Ratio pupus akar} = \frac{\text{Bobot bagian atas tanaman}}{\text{Bobot kering akar tanaman}}$$

11. Kadar air relatif daun (%)

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan menurut prosedur (Fitri, Zaidan dan Salam, 2017), yaitu dengan cara mengambil 4 bagian daun dari perlakuan kemudian ditimbang (bobot segar). Sampel daun selanjutnya direndam dengan aquades selama 20 jam dan bobot dalam keadaan turgid ditimbang (bobot jenuh). Sampel daun kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 60 °C hingga bobot nya konstan lalu ditimbang (bobot kering) kadar air relatif daun dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$= \text{KAR} = \frac{\text{Bobot segar (g)} - \text{Bobot kering (g)}}{\text{Bobot jenuh (g)} - \text{Bobot kering (g)}} \times 100\%$$

12. Kadar khlorofil (mg/L)

Pengamatan dilakukan pada saat umur 30 hari setelah tanam menggunakan khlorofil meter.

13. Bobot kering tanaman (g)

Pengukuran bobot kering dilakukan setelah panen dengan cara tanaman dijemur pada terik sinar matahari sampai kering. Tanaman yang telah dikeringkan kemudian dioven pada suhu 65°C selama 12 jam. Hasil bobot kering tanaman dinyatakan dalam satuan g.