

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2023 sampai bulan April 2023, bertempat di kebun percobaan Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan adalah: blender, evaporator, oven, kertas saring, kertas label, timbangan analitik, hygrometer, penggaris, meteran, waterbath, botol kaca steril, gelas ukur, cangkul, ember dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan diantaranya benih buncis tegak, polybag, tanah sebagai media tumbuh, pupuk kandang, pupuk NPK (16:16:16), kulit dan daun sirsak, etanol 70 %, dan air sumur.

#### **3.3 Metode penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan pola Faktorial dan 3 ulangan. Faktor pertama adalah antioksidan, yaitu konsentrasi ekstrak kulit dan daun sirsak (A) yang terdiri dari tiga taraf yaitu :

$a_0 = 0$  (Kontrol)

$a_1 = 2\%$  Ekstrak daun sirsak

$a_2 = 2\%$  Ekstrak kulit buah sirsak

$a^3 =$  Campuran ekstrak kulit buah sirsak 1% + ekstrak daun sirsak 1% dengan perbandingan 1:1.

Faktor kedua adalah cekaman kekeringan (T), yang terdiri dari tiga taraf, yaitu:

$t_0 = 100\%$  Kapasitas lapang

$t_1 = 60\%$  Kapasitas lapang

$t_2 = 40\%$  Kapasitas lapang

Percobaan ini terdiri dari 12 kombinasi perlakuan antara cekaman kekeringan dengan ekstrak kulit dan daun sirsak. Kombinasi perlakuan antara

cekaman kekeringan dan antioksidan ekstrak daun dan kulit buah sirsak disajikan pada Tabel 1.

Table 1. Kombinasi perlakuan ekstrak daun dan kulit buah sirsak dan cekaman kekeringan

Cekaman Kekeringan (T)	Antioksidan (A)			
	a0	a1	a2	a3
t0	t0 a0	t0 a1	t0 a2	t0a3
t1	t1 a0	t1 a1	t1 a2	t1a3
t2	t2 a0	t2 a1	t2 a2	t2a3

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga keseluruhan terdapat 36 plot percobaan.

### 3.4 Analisis data

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan model linier dimana secara umum, model linier dari percobaan faktorial untuk dua faktor yang masing-masing memiliki level a dan b serta n ulangan 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.

$\mu$  = Rata-rata umum

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$\alpha_j$  = Pengaruh cekaman pada taraf ke-j

$\beta_k$  = Pengaruh antioksidan pada taraf ke-k

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

$\sum_{ijk}$  = Komponen random dari galat yang berhubungan dengan perlakuan cekaman salinitas pada taraf ke-j dan faktor antioksidan pada taraf ke-k dalam ulangan ke-1.

Dari 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 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Analisis sidik ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fhit	F <sub>0,5</sub>
Ulangan	(r-1) = 3	$\frac{\sum x_{ij}^2}{\alpha b} - FK$	JKU/DBU	KTU/KTG	
Perlakuan	(Pr-1) = 11	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	JKP/BDP	KTP/KTG	
Cekaman Kekeringan (t)	(t-1) = 2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	JKA/Dba		
Antioksidan (a)	(a-1) = 3	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	JKB/DBb		
a x b	(t-1)(a-1) = 6	JKP-JKa- JKb	JKab/DBab		
Galat	(vm-1)(r-1) = 22	JK (T) – JK (U) – JK (P)	JKG/DBG		
Total	(Pr)(r) – 1 = 35	$\sum x \dots ij^2 - FK$			

Sumber : Gomez and Gomez, 2015

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F<sub>hitung</sub> dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut :

Tabel 3. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisis	Kesimpulan Analisis	Keterangan
F hit ≤ F 0,05	Tidak berbeda nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antara perlakuan
F hit > F 0.05	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antara perlakuan

Jika nilai F<sub>hitung</sub> menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf kesalahan 5%, dengan rumus sebagai berikut :

$$LSR(y, dBg, p) = SSR(y, dBg, p) \times S_x$$

LSR = Least significant range

SSR = Student zed Significant Range

$dBg$  = derajat bebas galat

$y$  = taraf nyata

$p$  = jarak

$Sx$  = Simpangan baku rata-rata perlakuan

Nilai  $Sx$  dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

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

Apabila tidak terjadi interaksi, diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

1. Untuk membedakan pengaruh faktor T (Cekaman Kekeringan) berbeda nyata maka dengan rumus :

$$Sx T = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{rA}}$$

2. Untuk membedakan pengaruh faktor A (Antioksidan) berbeda nyata maka dengan rumus :

$$Sx A = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{rT}}$$

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan ekstrak kulit buah sirsak

Ekstrak kulit buah sirsak dibuat dengan cara sebagai berikut :

1. Kulit sirsak dicuci menggunakan air mengalir, kemudian ditiriskan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4 hari.
2. Kulit sirsak yang telah kering lalu diblender hingga berbentuk serbuk halus.
3. Serbuk tersebut ditimbang sampai seberat 100 gram.
4. Proses maserasi kulit sirsak dilakukan dengan mencampur serbuk kulit sirsak yang telah ditimbang dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter sampai serbuk terendam selama 5 hari sambil diaduk setiap harinya kurang lebih 15 menit agar kulit sirsak dan etanol 70% homogen.
5. Larutan tersebut kemudian disaring dengan corong buchner kemudian diuapkan dari sisa pelarutnya dengan evaporator pada suhu 40°C.
6. Setelah itu, larutan diuapkan kembali menggunakan oven dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak murni.

7. Setelah itu dituangkan ke dalam botol steril kaca tertutup dan disimpan di lemari pendingin. (Masloman, *et al.* 2016).

### **3.5.2 Pembuatan ekstrak daun sirsak**

1. Daun sirsak dicuci menggunakan air mengalir, kemudian ditiriskan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4 hari.
2. Daun sirsak yang telah kering lalu diblender hingga berbentuk serbuk halus.
3. Serbuk tersebut ditimbang sampai seberat 100 gram.
4. Proses maserasi sirsak dilakukan dengan mencampur serbuk daun sirsak yang telah ditimbang dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter sampai serbuk terendam selama 5 hari sambil diaduk setiap harinya kurang lebih 15 menit agar daun sirsak dan etanol 70% homogen.
5. Larutan tersebut kemudian disaring dengan corong buchner kemudian diuapkan dari sisa pelarutnya dengan evaporator pada suhu 40°C.
6. Setelah itu, larutan diuapkan kembali menggunakan oven dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak murni. Ekstrak murni daun sirsak yang didapat berwarna hijau kehitaman dan kental.
7. Setelah itu dituangkan ke dalam botol steril kaca tertutup dan disimpan di lemari pendingin. (Masloman, *et al.* 2016).

### **3.5.3 Pengukuran kapasitas lapang**

Pengukuran kapasitas lapang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman sebagai patokan pemberian taraf perlakuan. Metode yang digunakan gravimetri. Polybag ukuran 35 cm x 35 cm diisi dengan tanah sebanyak 4 kg, kemudian berat media ditimbang (berat awal). Setelah diberi air hingga jenuh, lalu dibiarkan selama 24 jam sampai air tidak menetes, selanjutnya media ditimbang kembali (berat akhir). Kapasitas lapang didapatkan dari selisih antara berat awal media dengan berat akhir media (Arsyadmunir, 2016)

### **3.5.4 Persiapan media tanam**

Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini berupa tanah yang dicampur pupuk kandang dengan dosis 50g/polybag. Media tanam dimasukkan ke dalam polybag berukuran 35cm x 35cm. Jumlah polybag yang digunakan sebanyak

216 polybag. Setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan dimana setiap perlakuan terdiri dari 6 polybag yang ditanam dengan 1 tanaman per polybag.

### **3.5.5 Invigorasi benih**

Benih sebelum dilakukan penanaman diberi perlakuan invigorasi dengan merendam benih tersebut di dalam baki berisi air dan larutan antioksidan ekstrak kulit sirsak dengan konsentrasi 2% dan larutan antioksidan daun sirsak 2% selama 12 jam. Setelah 12 jam benih dibilas dengan menggunakan air, kemudian benih dikering anginkan. Kemudian benih ditanam di dalam polybag.

### **3.5.6 Penanaman**

Penanaman dilakukan menggunakan media tanam yang telah disiapkan sebanyak 4 kg yang dimasukkan ke dalam polybag berukuran 35 cm x 35 cm. Setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan dimana setiap perlakuan terdiri dari 6 polybag yang ditanam dengan 1 tanaman per polybag.

### **3.5.7 Pemberian kondisi cekaman kekeringan dan antioksidan ekstrak kulit dan daun sirsak**

Pemberian volume penyiraman kondisi cekaman kekeringan sesuai dengan kapasitas lapang yang telah dihitung sebelumnya pada lampiran 4. Pemberian perlakuan antioksidan ekstrak kulit dan daun sirsak pada fase pertumbuhan yang tercantum pada lampiran 4 yang diberikan pada fase pertumbuhan vegetatif dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada tanaman masing-masing berumur 14 dan 21 HST.

### **3.5.8 Pemeliharaan**

#### **a. Penyulaman**

Penyulaman dilakukan dengan mengamati benih yang tidak tumbuh ke permukaan tanah saat tanaman berumur 3–5 hari setelah tanam. Lalu ditanami kembali dengan benih yang telah disiapkan.

#### b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan untuk mengendalikan gulma di sekitar tanaman buncis, dilakukan dengan cara mencabut gulma dan membuangnya. Penyiangan dilakukan secara rutin ketika tanaman berumur 2 sampai 3 minggu.

#### c. Pemupukan

Pemupukan dilakukan menggunakan pupuk NPK 0,6 gram per polybag pada saat 7 HST.

#### d. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dengan penyemprotan pestisida nabati atau kimia sesuai dosis anjuran. Pengendalian disesuaikan dengan serangan hama dan penyakit di lapangan.

### 3.6 Pengamatan

#### 3.6.1 Pengamatan Penunjang

Pengamatan penunjang bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang berpotensi mempengaruhi hasil penelitian, yaitu temperatur, kelembaban udara, dan organisme pengganggu tanaman yaitu gulma, hama dan penyakit tanaman.

#### 3.6.2 Pengamatan Utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang datanya dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel. Parameter pengamatan utama adalah sebagai berikut :

##### a. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur menggunakan mistar, mulai dari pangkal batang sampai tajuk. Pengamatan dilakukan pada umur 14, 21, dan 28 HST.

##### b. Jumlah daun

Jumlah daun dihitung ketika sudah ada daun *trifoliate*, perhitungan jumlah daun dilakukan saat tanaman berumur 14, 21, dan 28 HST.

##### c. Luas daun tanaman (cm<sup>2</sup>)

Luas daun tanaman adalah luas daun tanaman yang diukur dari tanaman sampel, pengamatan dilakukan pada saat 28 HST menggunakan aplikasi digital *Petiole*.

d. Kadar air relatif daun (%)

Sampel daun segar ditimbang sehingga didapatkan berat segar (BS), kemudian dimasukkan ke dalam cup. Cup berisi sampel daun segar diberi aquadest sehingga seluruh permukaan daun terendam, ditutup dengan kertas saring, dan disimpan dalam suhu ruang selama 18-24 jam. Air yang masih tersisa dibuang dan sampel ditiriskan dengan tisu, ditimbang sehingga didapatkan berat turgid (BT). Kemudian sampel dioven pada suhu 60°C selama 2x24 jam, ditimbang dan didapatkan berat kering (BK). Pengamatan dilakukan pada saat 28 HST.

Nilai kadar air relatif daun (KARD) didapatkan dengan menggunakan perhitungan:

$$\text{KARD} = \frac{BS - BK}{BT - BK} \times 100\%$$

e. Kebocoran membran daun (%)

Langkah awal dalam melaksanakan pengamatan utama pada kebocoran membran yaitu pada tahap awal mengambil sampel daun di bagian tengah, mengambil kurang lebih 3 helai daun. Pada tahap ini sampel yang diambil adalah bagian daun karena daun mewakili tanaman secara keseluruhan. Langkah kedua yaitu memasukkan daun ke dalam air bebas ion yang berisi 5 ml, kemudian sampel yang telah dimasukkan ke dalam air bebas ion diinkubasi di dalam *water bath* pada suhu 10°C selama 24 jam. Setelah 24 jam kemudian sampel air diukur dengan alat konduktometer (EC1). Langkah ketiga yaitu sampel awal yang telah diukur dialihkan ke tahap selanjutnya yaitu sampel diinkubasi kembali di dalam *water bath* pada suhu 95°C selama 20 menit. Hal ini berguna untuk melepaskan seluruh elektrolit. Langkah terakhir yaitu mengeluarkan sampel yang telah diinkubasi, dinginkan sampel dan ukur kembali dengan alat konduktometer (EC2) pengamatan dilakukan pada saat 28 HST.

Rumus kebocoran elektrolit yaitu :

$$\text{EL} = \left(1 - \frac{\text{EC } 1}{\text{EC } 2}\right) \times 100\%$$



f. Volume Akar ( $\text{cm}^3$ )

Pengamatan volume akar dilakukan pada saat 28 HST dengan cara memasukkan akar ke dalam gelas ukur yang telah terisi air. Selisih volume air setelah akar dimasukan merupakan volume akar dengan satuan ml.

i. Bobot Kering Tanaman (gram)

Berat kering tanaman dihitung dengan cara 1 tanaman sampel secara destruktif caranya tanaman dicabut, akar dan bagian atas tanaman dioven pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam sampai beratnya konstan, setelah itu baru ditimbang pengamatan ini dilakukan pada saat 28 HST.

k. Bobot Kering Daun (gram)

Berat kering daun dihitung dengan cara mengambil seluruh daun pada 1 tanaman sampel, lalu dioven pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam sampai beratnya konstan, setelah itu baru ditimbang pengamatan ini dilakukan pada saat 28 HST.