

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilaksanakan di *Greenhouse* Balai Perlindungan Tanaman Pangan dan Hortikultura Wilayah V, Jalan Cilembang, Kecamatan Cihideung, Kota Tasikmalaya pada bulan Februari sampai bulan April tahun 2024.

#### **3.2 Alat dan bahan**

Alat yang digunakan diantaranya blender, beaker glass, kertas saring, oven, timbangan digital, sprayer, rotary evaporator, penggaris, pisau, timbangan analitik, conductivity meter dan Mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan diantaranya benih kacang hijau varietas Vima 2 (diperoleh dari BALITKABI, Malang), polybag (25 x 35 cm), tanah sebagai media tumbuh, pupuk NPK, ekstrak kulit buah mangga, etanol 70%, dan air.

#### **3.3 Metode penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan pola Faktorial 3x3 dan diulang sebanyak 3 kali.

Faktor pertama adalah antioksidan, yaitu konsentrasi ekstrak kulit buah Mangga (m) yang terdiri dari tiga taraf yaitu:

m0 : 0% (Tanpa pemberian Antioksidan dari ekstrak kulit buah mangga)

m1 : 1% (Antioksidan dari ekstrak kulit buah mangga)

m2 : 2% (Antioksidan dari ekstrak kulit buah mangga)

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

k0 : 100 % Kapasitas lapang

k1 : 75% Kapasitas lapang

k2 : 50% Kapasitas lapang

Percobaan ini terdiri dari 9 kombinasi perlakuan antara cekaman kekeringan dengan antioksidan ekstrak kulit buah mangga. Kombinasi perlakuan tersebut disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Ekstrak Kulit Buah Mangga dan Cekaman Kekeringan

Ekstrak kulit buah Mangga (m)	Cekaman kekeringan (k)		
	k0	k1	k2
m0	m0k0	m0k1	m0k2
m1	m1k0	m1k1	m1k2
m2	m2k0	m2k1	m2k2

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga keseluruhan terdapat 27 plot percobaan. Setiap plot percobaan terdiri dari 6 polybag, setiap polybag terdiri dari 1 tanaman, sehingga total populasi sebanyak 162 tanaman.

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan model linier dimana secara umum, model linier dari percobaan relatif untuk dua faktor yang masing-masing memiliki level a dan b serta 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 kekeringan pada taraf ke-j  $\beta_k$  = pengaruh antioksidan

$(\alpha\beta)_{jk}$  = 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-1

Data hasil pengamatan diolah dengan menggunakan analisis sidik ragam (Anova) kemudian dimasukkan ke dalam tabel sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F yang tersaji pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fhit	F <sub>tab</sub> (0,05)
Ulangan (U)	2	$\frac{\sum x_{ij}^2}{ab} - FK$	JKU/DBU	KTU/KTG	3,63
Perlakuan (P)	8	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	JKP/DBP	KTP/KTG	2,59
Antioksidan (m)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	JKa/DBa		3,63
Cekaman Kekeringan (k)	2	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	JKb/DBb		3,63
m x k	4	JKP-JKa-JKb	JKab/DBab		3,01
Galat (G)	16	JK(T)-JK(U)- JK(P)	JKG/DBG		
Total (T)	26	$\sum x...ij^2 - FK$			

Kaidah keputusan berdasarkan pada nilai F hitung, dapat dilihat pada Tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Kaidah Pegambilan Keputusan

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

Sumber : Gomez dan Gomez, (1995).

Jika nilai F hitung menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%, dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

LSR = Least significant range

SSR = Student zed significant range

dBg = Derajat bebas galat

y = Taraf nyata

$p$  = Jarak

$S_x$  = Simpangan baku rata-rata perlakuan

Nilai  $S_x$  dapat dicari dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{R}}$$

Apabila tidak terjadi interaksi,  $S_x$  diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

1. Untuk membedakan pengaruh faktor  $k$  (cekaman kekeringan) pada seluruh taraf faktor  $m$  (antioksidan) dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{rm}}$$

2. Untuk membedakan pengaruh faktor  $m$  (antioksidan) pada seluruh taraf  $k$  (cekaman kekeringan) dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{rk}}$$

### 3.4 Pelaksanaan penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan ekstrak kulit buah mangga

Pembuatan ekstrak kulit buah mangga diawali dengan membersihkan kulit buah mangga pada air mengalir kemudian kulit buah mangga tersebut diiris tipis menggunakan pisau dan dikeringanginkan tanpa terkena sinar matahari langsung kemudian di blender hingga halus. Setelah halus, kulit buah mangga ditimbang sebanyak 100gram kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi berwarna gelap bersama pelarut etanol 70% sampai seluruh sampel terendam dan disimpan selama 3 hari pada tempat gelap dengan pengocokan sebanyak 3 kali dalam 1 hari. Ekstrak cair yang didapatkan kemudian disaring dan diuapkan pada suhu 50°C dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat kulit buah mangga yang siap digunakan (Toyibah dan Taswin, 2020).

#### 3.4.2 Invigorasi

Benih sebelum dilakukan penanaman diberi perlakuan invigorasi dengan merendam benih tersebut dalam aquades dengan konsentrasi larutan antioksidan kulit buah mangga 0% (kontrol), 1% dan 2%, masing-masing perlakuan invigorasi direndam selama 12 jam. Setelah mencapai waktu 12 jam benih dibersihkan dengan menggunakan air, kemudian dikering anginkan.

Larutan yang akan digunakan sebagai perlakuan invigorasi masing-masing dengan konsentrasi 0%, 1 % dan 2 % ekstrak kulit buah mangga. Konsentrasi larutan dibuat dengan cara sebagai berikut:

$$\text{a. Ekstrak kulit buah mangga 1\%} = \frac{1}{100} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 1 \text{ g ekstrak kulit buah mangga}$$

Untuk membuat larutan ekstrak kulit buah mangga 1% sebanyak 100 ml dilakukan dengan cara melarutkan 1 g ekstrak kulit buah mangga dengan aquades hingga volumenya mencapai 100 ml.

$$\text{b. Ekstrak kulit buah mangga 2\%} = \frac{2}{100} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 2 \text{ g ekstrak kulit buah mangga}$$

Untuk membuat larutan ekstrak kulit buah mangga 2% sebanyak 100 ml dilakukan dengan cara melarutkan 2 g ekstrak kulit buah mangga aquades hingga volumenya mencapai 100 ml.

#### 3.4.3 Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui volume penyiraman yang digunakan sebagai patokan pemberian taraf perlakuan. Metode yang digunakan yaitu gravimetri dengan mengisi 5 kg tanah pada polybag ukuran 25 x 35 cm lalu siram dengan air hingga jenuh. Setelah air jenuh, setelah 24 jam dan air tidak menetes, kemudian ditimbang. Kapasitas lapang didapatkan dari selisih antara berat awal media dengan berat akhir media (Arsyadmunir, 2016).

#### 3.4.4 Uji flavonoid dan vitamin C

Pengujian flavonoid pada ekstrak kulit buah mangga dilakukan dengan memasukan ekstrak kulit buah mangga pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,1 mg logam Mg dan HCl pekat sebanyak 4-5 tetes, jika terjadi perubahan warna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid. Sedangkan uji vitamin C pada ekstrak kulit buah mangga dilakukan dengan memasukan ekstrak kulit buah mangga pada tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol, kemudian ditambahkan larutan natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) dan tiga tetes larutan  $\text{FeSO}_4$ . Jika terbentuk warna ungu berarti positif mengandung vitamin C (Toyibah dan Taswin, 2020).

#### 3.4.5 Penanaman

Benih kacang hijau ditanam di dalam media tanah sebanyak 5 kg yang dimasukkan ke dalam polybag ukuran 25 x 35 cm. Pemupukan dilakukan menggunakan pemupukan NPK sebanyak 0,375 g per polybag pada saat tanam dan pada saat tanaman berumur 30 HST.

#### 3.4.6 Pemberian antioksidan ekstrak kulit buah mangga dan cekaman kekeringan

Pemberian perlakuan antioksidan dilakukan dengan menyemprotkannya pada tanaman dengan konsentrasi 0%, 1%, dan 2% yang diaplikasikan sebanyak 2 kali pada saat tanaman berumur 17 dan 24 HST. Pemberian air sebagai cekaman kekeringan dilakukan melalui penyiraman setiap pagi hari pada interval penyiraman 2 hari sekali berdasarkan perlakuan kapasitas lapang 100 %, 75 % dan 50 %.

#### 3.4.7 Pemeliharaan

##### a. Penyulaman

Penyulaman dilakukan untuk mengganti tanaman yang mati atau tumbuh tidak seragam dengan bibit yang baru sesuai perlakuan pada waktu 1 sampai dengan 7 HST.

##### b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan sebanyak satu kali dalam dua minggu untuk menekan pertumbuhan gulma per tanaman.

##### c. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan mengambil secara langsung hama pada tanaman yang terserang, apabila jumlahnya terlalu banyak maka dilakukan penyemprotan dengan menggunakan pestisida.

##### d. Panen

Panen kacang hijau dilakukan saat polong berwarna kecoklatan dan hitam, tampak kering dan mudah pecah dengan memetik polong pada umur 61- 68 HST.

### 3.5 Pengamatan

#### 3.5.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang merupakan pengamatan bersifat tidak dianalisis secara statistik untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang berpotensi

mempengaruhi hasil, diantaranya temperatur, kelembaban udara, analisis tanah, uji tetes kimia flavonoid dan vitamin C serta pengamatan terhadap OPT.

### 3.5.2 Pengamatan utama

a. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman adalah data tinggi dari tanaman sampel pada saat tanaman berumur 21, 28 dan 38 HST.

b. Jumlah daun

Perhitungan jumlah pada daun trifoliolate tanaman saat tanaman berumur 21, 28 dan 38 HST.

c. Luas daun tanaman

Luas daun tanaman adalah luas yang diukur terhadap daun tanaman sampel, yang dilakukan pada umur 40 HST menggunakan aplikasi digital ImageJ.

d. Jumlah stomata

Pengamatan terhadap jumlah stomata dilakukan dengan cara melihat jumlah stomata pada bagian bawah daun tanaman kacang hijau dengan menggunakan mikroskop kemudian diamati lebih lanjut dengan bantuan aplikasi digital ImageJ.

e. Jumlah polong per tanaman

Pengamatan jumlah biji per polong dilakukan pada akhir penelitian yaitu dengan menghitung jumlah polong yang terbentuk pada tanaman sampel.

f. Bobot biji 100 butir

Diamati dengan mengambil 100 biji kacang hijau secara acak dari hasil biji setelah dikeringkan pada setiap plot, kemudian dilakukan penimbangan.

g. Bobot biji kering per tanaman

Pengamatan berat biji per tanaman dilakukan dengan cara mengambil seluruh biji pada tanaman sampel, dikeringkan selama 3 hari, kemudian ditimbang.

h. Bobot polong kering per tanaman

Pengamatan bobot polong per tanaman dilakukan pada saat 61 HST dengan cara dijemur selama 3 hari dan ditimbang menggunakan timbangan digital.

i. Volume akar

Pengamatan volume akar dilakukan dengan cara mencabut akar pada setiap tanaman sampel kemudian dicuci hingga bersih, lalu tentukan volume awal air

yang akan dimasukkan ke dalam gelas ukur dan masukkan akar ke dalam gelas ukur, kemudian catat pertambahan volume air setelah memasukkan akar ke dalamnya (Munarso, 2011).

j. Kadar air relatif daun

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan dengan mengambil 3 bagian daun dari perlakuan, ditimbang (bobot segar). Sampel daun selanjutnya direndam selama 20 jam dengan aquades dan ditimbang (bobot jenuh). Sampel kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 60° C hingga bobotnya konstan lalu ditimbang (bobot kering) (Fitri dan Salam, 2017).

Kadar relatif daun dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

k. Daya hantar listrik daun

Pengukuran daya hantar Listrik daun dilakukan dengan mengambil 3 helai sampel daun di bagian tengah yang mewakili tanaman secara keseluruhan pada 35 HST. Sampel daun kemudian di rendam ke dalam aquades selama 24 jam pada suhu ruang, kemudian sampel air di ukur dengan alat konduktometer atau DHL (EC1) (Hnilickova dkk., 2019).