

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2024 sampai April 2024 bertempat di *Green House* Kelompok Wanita Tani Warga Asri Dusun Cirarab RT 01 RW 02 Kelurahan Cigantang Kecamatan Mangkubumi Kota Tasikmalaya dengan ketinggian 374 meter di atas permukaan laut.

3.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dari Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi adalah sprayer, timbangan digital, oven, kertas saring, beker glass, blender, hygrometer, pisau, konduktometer, penggaris, *rotary evaporation*, dan timbangan analitik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kacang hijau varietas Vima 2, tanah, pupuk kandang, polybag, ekstrak kulit buah salak, dan NPK (16:16:16).

3.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan pola Faktorial dan 3 ulangan. Susunan kombinasi perlakuan yang diuji sebagai berikut :

1. Faktor pertama adalah konsentrasi antioksidan ekstrak kulit buah salak (N) yang terdiri dari tiga taraf yaitu :
 $n_0 = 0$ (kontrol)
 $n_1 = 2\%$
 $n_2 = 3\%$
2. Faktor kedua adalah cekaman kekeringan (M), yaitu terdiri dari tiga taraf :
 m_0 : 100% Kapasitas Lapang
 m_1 : 75% Kapasitas Lapang
 m_2 : 50% Kapasitas Lapang

Percobaan ini terdiri atas 9 kombinasi antara cekaman kekeringan dengan konsentrasi ekstrak kulit buah salak. Kombinasi perlakuan antara cekaman kekeringan dan konsentrasi antioksidan ekstrak kulit buah salak disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Kombinasi perlakuan dan ulangan

Ekstrak Kulit Buah Salak (N)	Cekaman Kekeringan (M)		
	m ₀	m ₁	m ₂
n ₀	n ₀ m ₀	n ₀ m ₁	n ₀ m ₂
n ₁	n ₁ m ₀	n ₁ m ₁	n ₁ m ₂
n ₂	n ₂ m ₀	n ₂ m ₁	n ₂ m ₂

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali (hasil dari perhitungan statistik), sehingga keseluruhan terdapat 27 plot percobaan.

Model linear untuk rancangan acak kelompok menurut Gomez dan Gomez (2010), adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

β_j = Pengaruh ulangan ke-j

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Dari model linear diatas, maka dapat disusun daftar sidik ragam sebagai berikut :

Tabel 2 Daftar sidik ragam (ANOVA)

Sumber Ragam	Db	JK	KT	Fhitung	F (0,05)
Ulangan (U)	2	$\frac{\sum x_{ij}^2}{ab} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{KTG}$	3,55
Perlakuan (P)	8	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,51
Antioksidan (n)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	$\frac{JKa}{Dba}$		3,55
Cekaman Kekeringan (m)	2	$\frac{\sum B^2}{ra}$	$\frac{JKb}{DBb}$		3,55
n x m	4	JKP-JKa-JKb			2,93
Galat (G)	18	JKT - JKU - JKP	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total (T)	26	$\sum X_{iji} - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez (2010)

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai Fhitung, sebagai berikut:

Tabel 3 Kaidah pengambilan keputusan

Hasil analisis	Kesimpulan	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,5}$	Tidak berbeda nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan
$F_{hit} > F_{0,5}$	Berbeda nyata	Terdapat perbedaan pengaruh antar perlakuan

Sumber : Gomez dan Gomez (2010)

Apabila hasil uji F-hitung menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$LSR (\alpha, \text{dbg } p) = SSR (\alpha, \text{dbg } p) \times S_x$$

$$S_x = \sqrt{\frac{KT_{Galat}}{r}}$$

Keterangan:

LSR = Least signifikan rangers

SSR = Student signifikan rangers

α = Taraf nyata (5%)

dbg = Derajat bebas galat

S_x = Simpangan baku rata-rata

KTG = Kuadrat tengah galat

r = Ulangan

p = Perlakuan (*range*)

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Pembuatan ekstrak kulit buah salak

Pembuatan ekstrak kulit buah salak dilakukan dengan metode maserasi, yaitu kulit buah salak sebanyak 10 kg yang sebelumnya dikeringkan dengan cara dioven 2x24 jam dengan suhu 70°C menjadi 2,4 kg kemudian diblender lalu diayak. Kulit salak yang sudah diayak, lalu diekstraksi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 12 L lalu selama 3 hari dikocok. Lalu ekstrak disaring menggunakan kertas saring (filtrat 1). Kemudian diuapkan menggunakan *evaporator* dengan suhu

70°C sampai volume ekstrak 30%, kemudian dilanjutkan dengan pengeringan di *rotary evaporation* agar ekstrak mengental dan ethanol terbuang dari ekstrak, hingga hasil akhir mendapatkan 250 ml ekstrak kental kulit buah salak (Damogalad, 2013).

3.4.2. Invigorasi benih

Benih kacang hijau sebelum ditanam diberikan perlakuan invigorasi terlebih dahulu dengan merendam benih kacang hijau di dalam air (kontrol) dan dengan larutan ekstrak kulit buah salak dengan beberapa konsentrasi yang sudah ditentukan. Semua perlakuan invigorasi direndam selama 12 jam. Setelah 12 jam benih dibersihkan menggunakan air, lalu benih dikeringanginkan.

Larutan invigorasi yang digunakan sebagai perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak kulit buah salak 2% dan 3%. Larutan konsentrasi dibuat dengan cara berikut:

$$\text{a. Ekstrak kulit buah salak } 2\% = \frac{2\text{ g}}{100} \times 100\text{ ml}$$

$$= 2\text{ ml ekstrak kulit buah salak}$$

Untuk mendapatkan larutan ekstrak kulit buah salak 2% sebanyak 100 ml dilakukan dengan cara 2 ml ekstrak kulit buah salak dilarutkan hingga mencapai volume 100 ml.

$$\text{b. Ekstrak kulit buah salak } 3\% = \frac{3\text{ g}}{100} \times 100\text{ ml}$$

$$= 3\text{ ml ekstrak kulit buah salak}$$

Untuk mendapatkan larutan ekstrak kulit buah salak 3% sebanyak 100 ml dilakukan dengan cara 3 ml ekstrak kulit buah salak dilarutkan hingga mencapai volume 100 ml.

3.4.3 Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang dilakukan dengan tujuan menentukan volume penyiraman dijadikan sebagai patokan taraf perlakuan. Metode yang digunakan yaitu *gravimetri*. Polybag diisi dengan 5 kg tanah dengan ukuran polybag 30 cm x 30 cm, lalu berat media ditimbang (berat awal). Selanjutnya polybag diisi air, setelah air jenuh media ditimbang kembali, lalu biarkan media 24 jam sampai tidak

ada air yang menetes dari media, kemudian timbang kembali (berat akhir). Kapasitas lapang didapat dari selisih antara berat awal media dengan berat akhir media. Kapasitas lapang adalah kadar air yang dapat disimpan oleh suatu tanah dalam keadaan masih dipengaruhi gravitasi bumi (Widyana, 2017). Pengukuran kapasitas lapang dengan cara yaitu menimbang kapasitas lapang 100% dengan berat tanah 5 kg ditambah dengan 635 selisih air menjadi 5755 g, untuk kapasitas lapang 75% tanah dengan berat 5 kg ditambah dengan selisih air 476 g menjadi 5596 g, begitupun dengan kapasitas lapang 50% berat tanah 5kg ditambah dengan selisih air 317 g menjadi 5437 g. Jika pada saat pengukuran kapasitas lapang berat polybag kurang dari berat 5755 g, 5596 g dan 5437 g maka ditambah air sesuai dengan selisih air yang berkurang dengan berat awal.

3.4.4. Penanaman

Sebelum penanaman dilakukan pemberian pupuk kandang sebanyak 50 g per polybag, selanjutnya dilakukan penanaman bibit kacang hijau di dalam polybag ukuran 30 cm x 30 cm yang berisi media tanah sebanyak 5 kg.

3.4.5. Pemupukan

Pemupukan menggunakan pupuk NPK 16:16:16 masing-masing dengan dosis sebanyak 0,375 g per polybag pada saat tanam dan pada umur 30 hari setelah tanam.

3.4.6. Pemberian ekstrak kulit buah salak dan kondisi cekaman kekeringan

Pemberian ekstrak kulit buah salak diberikan dengan cara disemprotkan pada tanaman. Dilakukan pengaplikasiannya 2 kali selama masa vegetatif, yaitu pada saat tanaman berumur 14 dan 28 hari setelah tanam. Pemberian air sebagai cekaman kekeringan dilakukan penyiraman dengan menimbang tanaman per polybag 3 hari sekali berdasarkan kapasitas lapang 100%, kapasitas lapang 75% dan kapasitas lapang 50%.

3.4.6. Pemeliharaan

1. Penyulaman

Penyulaman dilakukan terhadap tanaman kacang hijau yang tidak tumbuh atau mati terserang hama dan penyakit, bertujuan supaya tanaman dapat tumbuh seragam, proses penyulaman dilakukan dengan mengambil bibit kacang hijau yang

memiliki umur serupa dan ditanam langsung pada lubang tanam yang dilakukan penyulaman, penyulaman dilakukan 1 minggu setelah tanam.

2. Penyiangan

Penyiangan atau pengendalian gulma dilakukan untuk membersihkan gulma yang tumbuh di sekitar tanaman. Penyiangan dilakukan tergantung pada keadaan pertumbuhan gulma dengan cara mencabut gulma langsung secara hati-hati agar tanaman tidak rusak. Penyiangan dilakukan setiap 1 minggu sekali.

3. Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilaksanakan melalui pengamatan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) secara rutin setiap hari dengan cara mekanik.

3.4.8 Panen

Kacang hijau dipanen pada saat polong berwarna kecoklatan dan kehitaman, mudah pecah dan kering. Pemanenan dilakukan 2 kali dengan cara memetik polong kacang hijau yang sudah matang pada umur 56 dan 61 HST.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang adalah pengamatan yang dilakukan terhadap parameter yang datanya tidak diuji secara statistik untuk mengetahui adanya pengaruh lain dari luar perlakuan. Pengamatan penunjang ini meliputi analisis tanah, pengamatan temperatur, kelembaban udara, uji kandungan tanin (kualitatif), uji kandungan flavonoid (kualitatif), uji kandungan fenolik (kualitatif) dan pengamatan Organisme Pengganggu Tanaman yaitu gulma, hama dan penyakit tanaman.

3.5.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang datanya diuji statistik dilakukan pada parameter sebagai berikut :

1. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman adalah diukur dari tanaman sampel pada saat tanaman berumur 14, 21 dan 28 HST.

2. Jumlah daun

Pengamatan ini dilakukan dengan menghitung jumlah daun yang dihitung ketika sudah ada daun *trifoliolate*. Perhitungan jumlah daun pada saat umur 14, 21 dan 28 HST.

3. Luas daun

Luas daun diukur dari tanaman sampel, dilakukan pengamatan pada saat umur 40 HST menggunakan aplikasi digital *ImageJ* dengan memotong daun sampel lalu memotret seluruh sampel daun serta pengukuran skala dengan menggunakan penggaris.

4. Kadar air relatif daun

Pengukuran kadar air relatif daun ini dilakukan pada umur 40 HST dengan cara mengambil daun dari perlakuan lalu ditimbang (bobot segar). Selanjutnya sampel daun direndam menggunakan aquades selama 20 jam dan bobot dalam keadaan jenuh ditimbang (bobot jenuh). Kemudian sampel dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam menggunakan suhu 60°C sampai bobotnya konstan kemudian ditimbang (bobot kering) lalu kadar air relatif daun menurut Dewi (2019) di hitung dengan menggunakan rumus :

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

(Smart and Bingham, 1974)

5. Daya hantar listrik daun

Metode daya hantar listrik merupakan metode untuk mengukur jumlah total garam terlarut. Penentuan nilai DHL dengan memakai alat Konduktometer lalu memasukkannya ke dalam sampel yang direndam oleh aquades, dan mengukur perbedaan potensial listriknya. Jika konsentrasi garam meningkat, maka kemampuan larutan menghantarkan listrik akan meningkat. Hasil pengukuran merupakan konversi tahanan listrik menjadi konduktansi listrik. Satuan pengukuran mS/cm yang sama dengan mmho/cm dengan merendam daun dari sampel selama 24 jam menggunakan

aquades lalu diuji menggunakan alat konduktometer (Muliawan *et al.*, 2016).

6. Jumlah stomata

Pengamatan jumlah stomata dilakukan dengan cara daun yang sudah diambil dibersihkan permukaannya menggunakan *tissue* untuk membersihkan debu atau kotoran yang menempel, lalu daun diolesi oleh kutek transparan di biarkan selama 10 menit sampai kering, olesan kutek yang sudah mengering ditempeli isolasi dan diratakan, kemudian I solsi dilepas pelan-pelan lalu ditempelkan pada gelas benda, lalu diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran yang (40x).

7. Jumlah polong per tanaman

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

8. Volume akar

Pengamatan dilakukan dengan cara mencabut tanaman sampel, lalu pengukuran volume akar dengan cara memotong batang tanaman sampel, akar dicuci sampai bersih, dimasukkan kedalam gelas ukur yang berisi air aquades, kemudian diamati pertambahan volume air aquades setelah akar dimasukkan kedalam gelas ukur.

9. Bobot polong per tanaman

Pengamatan bobot polong per tanaman dilakukan pada saat 56 dan 61 HST setelah panen dengan cara dikering anginkan lalu ditimbang.

10. Bobot biji per tanaman

Pengamatan biji per tanaman dilakukan pada saat 56 dan 61 HST setelah panen dengan cara dikering anginkan lalu ditimbang.

11. Bobot 100 butir biji

Bobot 100 butir biji diambil dari 100 butir biji kacang hijau yang telah dikeringkan pada setiap plot, lalu ditimbang.