

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Juni sampai Agustus 2021 berlokasi di Kampung Sindangkasih RT 25 RW 06 Desa Singasari Kecamatan Taraju Kabupaten Tasikmalaya, memiliki pH antara 5,5 sampai 6,5, sedangkan untuk suhu udara berkisar dari 18°C sampai 23°C dan kelembapan 98%.

3.2. Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan yaitu: cangkul, ember, alat tumbuk, kertas saring, oven, timbangan digital, sprayer, polybag 25 cm x 30 cm, baki perkecambahan, tabung ukur, penggaris, pisau, *thermo hygrometer*, dan pH meter.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain benih kedelai varietas Anjasmoro, tanah sebagai media tumbuh, kulit manggis, air, etanol 96% dan pupuk NPK (15-15-15).

3.3. Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang berpola faktorial. Faktor pertama yaitu perlakuan antioksidan ekstrak kulit manggis dengan tiga taraf perlakuan dan faktor kedua yaitu cekaman kekeringan dengan tiga taraf perlakuan juga.

Faktor pertama adalah antioksidan ekstrak kulit manggis (A) sebagai bahan perlakuan terdiri dari tiga taraf, yaitu:

a0 = Air (kontrol)

a1 = 1%

a2 = 1,5%

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

c0 = Kondisi kapasitas lapang (100%) (Kontrol)

c1 = 50% air dari kapasitas lapang

c2 = 25% air dari kapasitas lapang

Percobaan ini terdiri dari sembilan kombinasi perlakuan antara antioksidan ekstrak kulit manggis dengan cekaman kekeringan. Kombinasi perlakuan antara antioksidan ekstrak kulit manggis dan cekaman kekeringan disajikan pada Tabel berikut.

Tabel 3. Kombinasi perlakuan antioksidan ekstrak kulit manggis (A) dan cekaman kekeringan (C)

Antioksidan Kulit Manggis (A)	Cekaman Kekeringan (C)		
	c0	c1	c2
a0	a0c0	a0c1	a0c2
a1	a1c0	a1c1	a1c2
a2	a2c0	a2c1	a2c2

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga keseluruhan terdapat 27 plot percobaan.

3.4. Analisis data

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

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

Dengan keterangan sebagai berikut:

- 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
- ε_{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 Tabel sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F yang tersaji pada Tabel 4 berikut:

Tabel 4. Analisis sidik ragam (ANOVA)

Sumber Ragam	DB	JK	KT	F _{hit}	F _{tab (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 (a)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	JKa/DBa		3,63
Cekaman	2	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	JKb/DBb		3,63
Kekeringan (b)	4	JKP-JKa-JKb	JKab/DBab		3,01
a x b	4	JKP-JKa-JKb	JKab/DBab		3,01
Galat (G)	16	JK(T)-JK(U)- JK(P)	JKG/DBG		
Total (T)	26	$\sum x_{...ij}^2 - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez (1995)

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F_{hitung}, dapat dilihat pada Tabel 5 berikut:

Tabel 5. 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.

Bila nilai F_{hitung} menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf kesalahan 5% dengan rumus berikut:

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

Dengan keterangan sebagai berikut:

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 (terjadi interaksi) dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

$$S_x = \sqrt{\frac{KTGalat}{r}}$$

Apabila tidak terjadi interaksi, diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

1. Untuk membedakan pengaruh faktor c (cekaman kekeringan) berbeda nyata maka dengan rumus :

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{KTGalat}{ra}}$$

2. Untuk membedakan pengaruh faktor a (antioksidan) berbeda nyata maka dengan rumus :

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{KTGalat}{rc}}$$

3.5. Prosedur penelitian

3.5.1. Pembuatan ekstrak kulit manggis

Menurut Efri Mardawati (2008) dalam Miryanti *et al.*, (2011) bahan-bahan yang diperlukan untuk pembuatan ekstrak kulit manggis dan cara pembuatannya :

- a. Kulit manggis dicuci hingga bersih.
- b. Kulit bagian luar yang keras dibuang, sehingga didapatkan daging kulitnya saja.
- c. Kemudian kulit manggis dikeringkan di bawah sinar matahari sampai warnanya kecoklatan.
- d. Kulit manggis yang sudah kering diblender/ditumbuk hingga halus.
- e. Ekstrak kulit manggis diperoleh dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Serbuk simplisia kulit manggis ditimbang sebanyak 200 gram kemudian dilarutkan dalam 1000 ml etanol 96% dengan beberapa kali pengadukan selama 3 hari
- f. Selanjutnya disaring, sehingga diperoleh filtratnya.
- g. Filtrat diuapkan pada alat evaporator dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.
- h. Ekstrak kental yang sudah didapatkan kemudian dilarutkan dengan air untuk mendapatkan konsentrasi sesuai dengan kebutuhan (1% dan 1,5%).

3.5.2. Invigorasi benih

Benih sebelum dilakukan penanaman diberi perlakuan invigorasi dengan merendam benih tersebut dalam air (control) dan larutan antioksidan ekstrak kulit manggis dengan berbagai konsentrasi yang telah ditentukan. Masing-masing perlakuan invigorasi direndam selama 12 jam. Setelah itu benih diangkat, kemudian di keringanginkan.

3.5.3. Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman sebagai patokan pemberian taraf perlakuan. Metode yang digunakan yaitu pendekatan gravimetrik, yaitu dengan cara media tanam polybag disiram dengan air sampai jenuh kemudian didiamkan selama kurang lebih satu malam sampai tidak ada air yang menetes lagi. Kemudian media tanam ditimbang berat basahnya untuk mengetahui berat kapasitas lapang. Penentuan jumlah kadar air dalam kondisi kapasitas lapang dilakukan dengan penimbangan berat kering tanah dengan cara dioven pada suhu 105°C selama 24 jam sampai didapatkan berat konstan (Cahyati, 2018).

3.5.4. Penanaman

Penanaman dilakukan setelah benih diberikan invigorasi. Penanaman dibagi menjadi dua bagian, diantaranya :

a. Perkecambahan

Pada fase perkecambahan benih yang sudah direndam dengan antioksidan, ditanam pada baki perkecambahan dengan media tanah pada umur 0-10 HST. Setiap perlakuan pada baki berisi 25 benih kedelai dan terdiri dari 3 ulangan.

b. Pertumbuhan vegetatif

Pada fase vegetatif atau pertumbuhan benih yang sudah direndam dengan antioksidan, ditanam pada polybag 25 cm x 30 cm dengan media tanah dari umur 0-35 HST. Pemupukan NPK (15-15-15) dilakukan ketika umur 10 HST dengan cara menyebarkan pada tepi polybag secara melingkar. Setiap plot terdiri dari 6 polybag dan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 162 polybag.

3.5.5. Pemberian perlakuan

Pemberian perlakuan antioksidan ekstrak kulit manggis dan cekaman kekeringan dibagi menjadi dua, yaitu pada fase perkecambahan dan fase pertumbuhan.

a. Perkecambahan

Pemberian antioksidan perkecambahan pada baki dilakukan pada saat invigorasi, dan pemberian air dilakukan pada perkecambahan sampai umur 10 HST.

b. Pertumbuhan

Pemberian antioksidan pada kedelai dalam polybag diaplikasikan 5 kali yaitu pada invigorasi benih, pada saat tanaman berumur 7, 14, 21 dan 28 HST. Pemberian air sebagai perlakuan cekaman kekeringan dilakukan setiap pagi hari dengan interval penyiraman 2 hari sekali dengan menimbang tanah lalu dilakukan penyiraman sesuai dengan perlakuan sampai umur 35 HST (Asyura, 2017).

3.5.6. Pemeliharaan

a. Penyiangan

Penyiangan dilakukan untuk menekan pertumbuhan gulma di sekitar tanaman kedelai dan didalam polybag. Penyiangan dilakukan dengan cara mekanis

b. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian dilakukan dengan memperhatikan tingkat serangan, pengendalian dilakukan secara mekanis yaitu dengan cara mengambil secara langsung setiap hama yang menyerang.

3.6. Variabel pengamatan

3.6.1. Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang adalah pengamatan dimana data yang diperoleh dari hasil penelitian tidak dianalisis secara statistik. Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama penelitian berlangsung. Pengamatan ini terdiri dari temperatur, kelembaban udara, organisme pengganggu tanaman seperti gulma, hama dan penyakit pada tanaman.

3.6.2. Pengamatan utama

a. Perkecambahan

1. Daya kecambah (%)

Pengamatan dilakukan terhadap benih yang telah berkecambah normal pada hari ke-10 setelah tanam. Kecambah normal dilihat dengan pemunculan dan perkembangan struktur terpenting dari embrio yaitu munculnya calon akar (radikula), calon daun (plamula), calon batang (hipokotil), dan kotiledon (Ridha *et al.*, 2017). Jika ciri-ciri tersebut sudah terlihat maka kecambah tersebut menunjukkan kemampuan untuk berkembang menjadi tanaman normal pada kondisi lingkungan yang menguntungkan. Nilai daya berkecambah dapat dihitung dengan rumus:

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

2. Kecepatan tumbuh (% etmal)

Kecepatan tumbuh dihitung berdasarkan jumlah kecambah normal setiap hari atau etmal. Pengamatan dilakukan setiap hari mulai hari pertama sampai hari terakhir. Kecepatan tumbuh dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kecepatan tumbuh} = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dd}$$

Keterangan :

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

D1-Dd = Jumlah hari setelah tanam (etmal)

n = Akhir perkecambahan

3. Panjang hipokotil (cm)

Panjang hipokotil diukur pada saat pengamatan hari ke-10 setelah tanam dengan cara mengukur panjang batang tanaman mulai dari pangkal akar hingga kotiledon. Pengamatan ini menggunakan sampel yang dipilih secara acak.

4. Panjang epikotil (cm)

Panjang epikotil diukur pada saat pengamatan hari ke-10 setelah tanam dengan cara mengukur panjang batang tanaman mulai dari kotiledon sampai pangkal daun tunggal. Pengamatan ini menggunakan sampel yang dipilih secara acak.

b. Pertumbuhan vegetatif

1. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur dengan menggunakan mistar, mulai dari pangkal batang sampai tajuk. Pengukuran dilakukan pada saat berumur 7, 14, 21, 28, dan 35 HST.

2. Panjang akar (cm)

Panjang akar diukur dengan meluruskan akar yang tergulung dari pangkal akar sampai ujung akar. Pengukuran dilakukan pada umur 35 HST.

3. Jumlah daun

Tanaman kacang kedelai dihitung jumlah daunnya Ketika sudah ada daun *trifoliolate*. Perhitungan jumlah daun dilakukan pada saat tanaman berumur 7, 14, 21, 28, dan 35 HST.

4. Luas daun tanaman (cm²)

Luas daun tanaman adalah luas tanaman yang diukur dari satu tanaman sampel. Pengamatan dilakukan pada saat umur 35 HST dengan bantuan aplikasi digital *ImageJ*.

5. Kadar klorofil (mg/l)

Sampel daun kedelai diambil secara acak dari satu tanaman dalam setiap perlakuan pada umur 7, 14, 21, 28, dan 35 HST lalu diukur dengan menggunakan alat clorophil meter.

6. Kadar air relatif daun (%)

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan dengan mengambil 4 helai dari masing-masing perlakuan dalam satu tanaman kemudain ditimbang (bobot segar). Sampel daun selanjutnya direndam dengan aquadest selama 4-5 jam, setelah itu permukaan daun dikering anginkan kemudian ditimbang (bobot jenuh). Sampel daun kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 80°C selama 24 jam kemudian di timbang (bobot kering) (Fitri & A. Salam, 2017).

Kadar air relative daun dapat dihitung dengan rumus:

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