

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu percobaan

Percobaan dilaksanakan di rumah plastik Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Tasikmalaya. Kegiatan penelitian dilaksanakan dari bulan September 2022 sampai dengan bulan November 2022.

3.2 Alat dan bahan percobaan

Alat yang digunakan dalam percobaan terdiri atas *seed dryer*, *blender*, *beaker glass*, pengaduk, spatula, kertas saring, neraca analitik, *rotary evaporator*, *handsprayer*, sekop, ember, gelas ukur 1 liter, *hygrometer*, *chlorophyll meter*, *conductivity meter*, *polybag* ukuran 35 cm x 35 cm, neraca, label, alat tulis, meteran serta alat pendukung lainnya.

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini terdiri atas benih kedelai (*Glycine max* L. Merr.) varietas Dega 1 yang didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi), etanol 96%, air bebas ion, air, tanah, pupuk kandang dan pupuk NPK serta daun gulma siam (*Chromolaena odorata* L.).

3.3 Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola faktorial dalam tiga ulangan.

Faktor pertama adalah tingkat cekaman kekeringan (v) yang terdiri dari tiga taraf:

v_0 = 100% dari kapasitas lapang (kontrol)

v_1 = 60% dari kapasitas lapang

v_2 = 40% dari kapasitas lapang

Faktor kedua adalah konsentrasi ekstrak daun gulma siam (m) yang terdiri dari empat taraf, yaitu:

m_0 = Ekstrak daun gulma siam 0% (kontrol)

m_1 = Ekstrak daun gulma siam 1%

m_2 = Ekstrak daun gulma siam 1,5%

m_3 = Ekstrak daun gulma siam 2%

Berdasarkan rancangan tersebut percobaan ini terdiri dari 12 kombinasi perlakuan antara ekstrak daun gulma siam dengan cekaman kekeringan. Kombinasi perlakuan antara ekstrak daun gulma siam dengan cekaman kekeringan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi cekaman kekeringan (v) dan ekstrak daun gulma siam (m)

Cekaman Kekeringan (v)	Ekstrak Daun Gulma Siam (m)			
	m ₀	m ₁	m ₂	m ₃
v ₀	v ₀ m ₀	v ₀ m ₁	v ₀ m ₂	v ₀ m ₃
v ₁	v ₁ m ₀	v ₁ m ₁	v ₁ m ₂	v ₁ m ₃
v ₂	v ₂ m ₀	v ₂ m ₁	v ₂ m ₂	v ₂ m ₃

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga keseluruhan terdapat 36 plot percobaan. Masing-masing plot percobaan terdiri atas 6 sampel tanaman sehingga terdapat 216 tanaman.

3.4 Analisis data

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan model linear percobaan sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} : Hasil pengamatan pada satuan percobaan yang memperoleh perlakuan taraf ke-i dari ekstrak daun gulma siam dan taraf ke-j pada tingkat cekaman kekeringan dan ulangan ke-k

μ : Rata-rata umum

α_i : Pengaruh konsentrasi ekstrak daun gulma siam taraf ke-i

β_j : Pengaruh tingkatan cekaman kekeringan taraf ke-j

$(\tau\beta)_{ij}$: Pengaruh interaksi antara konsentrasi ekstrak daun gulma siam pada taraf ke-i dengan tingkatan cekaman kekeringan pada taraf ke-j

ϵ_{ijk} : Pengaruh acak dari galat yang berhubungan dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun gulma siam pada taraf ke-i dan faktor cekaman kekeringan pada taraf ke-j dalam ulangan ke-k

Data yang diperoleh dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam dan dilakukan kaidah pengambilan keputusan seperti pada tabel di bawah ini:

Tabel 2. Daftar sidik ragam

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (Db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F hit	F tabel 5%
Ulangan	$(r-1) = 2$	$\frac{\sum x_j^2}{vm} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{KTG}$	3,44
Perlakuan	$(Pr-1) = 11$	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	$\frac{JKPr}{dbPr}$	$\frac{KTPr}{KTG}$	2,26
Faktor (v)	$(v-1) = 2$	$\frac{\sum v^2}{rm} - FK$	$\frac{JKv}{dbv}$	$\frac{KTv}{KTG}$	3,44
Faktor (m)	$(m-1) = 3$	$\frac{\sum m^2}{rv} - FK$	$\frac{JKm}{dbm}$	$\frac{KTm}{KTG}$	3,05
Interaksi (v x m)	$(v-1)(m-1) = 6$	$JKPr - JKv - JKm$	$\frac{JKvm}{dbvm}$	$\frac{KTV}{KTG}$	2,55
Galat	$(vm-1)(r-1) = 22$	$JK(T) - JK(U) - JK(Pr)$	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total	$(Pr)(r) - 1 = 35$	$\sum X_{ij}^2 - FK$			

(Sumber: Gomez dan Gomez, 2010).

Tabel 3. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisa	Kesimpulan Analisa	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Berbeda tidak nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antar perlakuan

(Sumber: Gomez dan Gomez, 2010).

Apabila dari uji F (sidik ragam) terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$LSR = SSR (\alpha, dBg, p) S_x$$

Dengan keterangan sebagai berikut:

LSR	: <i>Least Significant Range</i>
SSR	: <i>Studentized Significant Range</i>
A	: Taraf nyata (5%)
db galat	: Derajat bebas galat
P	: Range (perlakuan)
Sx	: Simpangan baku rata-rata (<i>Standard error</i>)
KTG	: Kuadrat tengah galat
R	: Jumlah ulangan pada setiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan

1. Apabila terjadi interaksi, untuk membedakan pengaruh faktor v pada tiap taraf faktor m dan sebaliknya untuk membedakan faktor m pada tiap taraf faktor v, Sx diperoleh dengan rumus:

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

2. Apabila tidak terjadi interaksi, diperoleh dengan rumus sebagai berikut:
 - a. Untuk membedakan pengaruh faktor v pada seluruh taraf faktor m, Sx diperoleh dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KTG}{r.v}}$$

- b. Untuk membedakan pengaruh faktor m pada seluruh taraf faktor v, Sx diperoleh dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\frac{KTG}{r.m}}$$

3.5 Prosedur penelitian

3.5.1 Pembuatan ekstrak daun gulma siam

Daun gulma siam dikumpulkan lalu dipotong kecil-kecil dan di oven dengan temperatur tidak lebih dari 50°C selama 24 jam. Selesai pengeringan, daun kering dihancurkan menggunakan blender, sehingga diperoleh berbentuk bubuk. Serbuk daun kemudian dimaserasi dingin menggunakan etanol sebagai pelarut. 100 g bubuk direndam dalam 1 liter etanol 96% (1:10 b/v) selama 3 hari. Pada hari

terakhir atau hari ke 3 hasil maserasi disaring dengan kertas saring *Whatmann*. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga dihasilkan ekstrak kental (Ali dkk., 2015; Adri dan Hersoelistyorini, 2013).

3.5.2 Perlakuan invigorasi pada benih dengan ekstrak daun gulma siam

Perlakuan invigorasi pada benih kedelai dilakukan dengan merendam benih kedelai di dalam larutan ekstrak daun gulma siam sesuai perlakuan yang dicoba selama 6 jam. Setelah 6 jam benih dibersihkan menggunakan air, kemudian benih dikering-anginkan. Setelah itu benih langsung ditanam.

3.5.3 Penanaman di lahan percobaan

Penanaman dilakukan pada media tanah sebanyak 4 kg dalam *polybag* ukuran 35 cm x 35 cm. Pemupukan dilakukan dengan pupuk NPK 0,6 gram per *polybag* dan pupuk kandang 60 gram per *polybag*. Pupuk diberikan seluruhnya pada saat tanam, kecuali pupuk kandang yang telah diberikan 1 minggu sebelum tanam.

3.5.4 Perlakuan cekaman kekeringan dan ekstrak daun gulma siam di lahan percobaan

a. Perlakuan cekaman kekeringan

Perlakuan cekaman kekeringan dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan pengukuran kapasitas lapang yang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman sebagai acuan pemberian taraf perlakuan. Setelah diketahui volume air dalam kondisi kapasitas lapang, dilakukan perhitungan untuk volume air yang diberikan sebagai taraf perlakuan yaitu 100% dari kapasitas lapang, 60% dari kapasitas lapang dan 40% dari kapasitas lapang (Lampiran 4). Perlakuan cekaman kekeringan dilakukan dengan cara penyiraman air. Kondisi air pada masing-masing perlakuan dipertahankan dengan pengukuran berat sampel *polybag* setiap hari dan kemudian menambahkan air dengan jumlah sesuai perlakuan pada masing-masing *polybag* atau tanaman. Penghitungan kapasitas lapang dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kapasitas lapang} = \text{bobot jenuh tanah} - \text{bobot kering tanah}$$

b. Aplikasi ekstrak daun gulma siam

Ekstrak daun gulma siam diaplikasikan setelah tanam selama masa vegetatif dengan cara menyiramkan 30 ml cairan ekstrak daun gulma siam sesuai perlakuan

yang dicoba pada area perakaran tanaman, ekstrak daun gulma siam diberikan pada umur 14, 21 dan 28 hari setelah tanam (Asyura dkk., 2018).

3.5.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan yang dilakukan meliputi penyulaman dan penyiangan. Penyulaman yaitu mengganti tanaman kedelai yang mati atau tumbuh tidak seragam dengan bibit yang baru sesuai perlakuan yang dilakukan pada umur 7 hari setelah tanam. Penyiangan yaitu membersihkan tanaman dari tumbuhan lain (gulma) yang tumbuh di sekitar tanaman kedelai.

3.5.6 Pengendalian hama dan penyakit tanaman

Pengendalian dilakukan secara mekanis dengan cara mengambil dan memusnahkan hama yang terlihat.

3.6 Parameter pengamatan

3.6.1 Pengamatan penunjang

Parameter penunjang adalah pengamatan terhadap parameter yang datanya tidak diuji secara statistika. Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama penelitian berlangsung. Pengamatan ini dilakukan terhadap rata-rata temperatur dan kelembaban udara harian, organisme pengganggu tanaman, dan gejala kekeringan.

3.6.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan terhadap parameter yang datanya diuji secara statistik. Pengamatan utama yang diamati adalah:

a. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur dari pangkal batang sampai pucuk tanaman. Pengukuran dilakukan pada umur 14, 21, 28 dan 33 hari setelah tanam. Pengambilan sampel yaitu 3 tanaman dari setiap perlakuan.

b. Luas daun (cm²)

Perhitungan luas daun dilakukan pada saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam) dengan menggunakan aplikasi digital *ImageJ*.

c. Kadar air relatif daun (KARD) (%) (Fitri dan Salam, 2017)

Pengukuran kadar relatif daun dilakukan pada saat tanaman berumur 33 hari setelah tanam (peralihan fase vegetatif ke generatif) dengan mengambil 9 helai daun pada setiap perlakuan, kemudian ditimbang (bobot segar atau bobot basah). Sampel daun selanjutnya direndam dalam aquades selama 20 jam dan bobot dalam keadaan turgid ditimbang (bobot turgid atau bobot jenuh). Sampel daun kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 60°C hingga bobotnya konstan lalu ditimbang (bobot kering). Kadar air relatif dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan secara destruktif pada tanaman sampel yang ditentukan secara acak.

d. Kadar klorofil daun ($\mu\text{g/cm}$)

Kadar klorofil daun diukur menggunakan alat pengukur *Chlorophyll meter*. Perhitungan klorofil daun dilakukan pada saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam).

e. Bobot kering tanaman (g)

Pengukuran bobot kering tanaman dilakukan pada saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam). Tanaman dengan bagian yang utuh dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C selama 1x24 jam, lalu ditimbang dengan timbangan analitik.

f. Nisbah pupus akar (g)

Pengukuran bobot nisbah pupus akar dilakukan pada saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam). Nisbah pupus akar (*Shoot Root Ratio*) dilakukan dengan cara memotong bagian atas tanaman dan bagian akar setelah ditimbang berat kering brangkasannya. Kemudian berat masing-masing bagian atas dan akar tanaman ditimbang secara terpisah. Nisbah pupus akar dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Nisbah pupus akar} = \frac{\text{berat kering atas tanaman}}{\text{berat kering akar tanaman}}$$

g. Bobot kering akar (g)

Bobot kering akar dilakukan pada saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam) dengan cara membersihkan bagian akar terlebih dahulu. Kemudian akar dikering anginkan dan dioven pada suhu 60°C selama 24 jam, lalu akar tersebut ditimbang hingga diperoleh angka konstan.

h. Volume akar (ml)

Pengamatan volume akar dilakukan pada saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam) dengan cara membersihkan akar terlebih dahulu kemudian bagian akar dipisahkan, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur dan mengamati selisih volume air saat dimasukkan akar dengan volume air awal.

i. Kebocoran membran daun (%) (Sharifi dkk., 2012)

Kebocoran membran daun dilakukan saat mulai masuk fase peralihan vegetatif ke generatif (33 hari setelah tanam) dengan cara daun yang dijadikan sampel dicuci terlebih dahulu dengan air (deionisasi), kemudian dimasukkan ke dalam tube dan diberi air lalu ditutup dan diinkubasi pada suhu 10°C selama 24 jam, kemudian diukur nilai daya hantar listriknya (DHL 1). Selanjutnya sampel tersebut diinkubasi pada oven dengan suhu 95°C selama 20 menit, lalu disimpan pada suhu kamar 25°C dan diukur nilai daya hantar listriknya (DHL 2), sehingga kebocoran membran daun dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kebocoran membran daun} = \frac{\text{DHL 1}}{\text{DHL 2}} \times 100\%$$