

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kaca dan Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya, dengan Tipe curah hujan C dan ketinggian tempat 374 meter di atas permukaan laut serta Laboratorium Farmasi Universitas Garut pada bulan Februari sampai Juni 2022.

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

Adapun alat-alat yang digunakan diantaranya, ember, *polybag*, *hygrometer*, batang pengaduk, blender, corong, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, rotary vakum evaporator, *stopwatch*, tabung reaksi, mikropipet, wadah maserasi, timbangan analitik, timbangan digital, klorofil meter, selotip, pewarna kuku bening, penggaris dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel akar dan daun dari ginseng jawa, aquades, ethanol 96%, kertas saring, logam Mg, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam klorida (HCl), air panas, natrium klorida (NaCl 10%), feri klorida ( $FeCl_3$ ), pereaksi dragendorff LP.

#### **3.3 Metode penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Kelompok (RAK) satu faktor dengan 7 perlakuan yaitu tingkat ketersediaan air (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan 110% kapasitas lapang) dan 4 ulangan. Satu plot terdiri dari 6 tanaman, sehingga jumlah tanaman yang digunakan sebanyak 168 tanaman. Perlakuan terdiri dari:

- A = 50% kapasitas lapang
- B = 60% kapasitas lapang
- C = 70% kapasitas lapang
- D = 80% kapasitas lapang

- E = 90% kapasitas lapang  
 F = 100% kapasitas lapang  
 G = 110% kapasitas lapang

Data hasil pengamatan dianalisis keragamannya menggunakan Uji F. Model linier rancangan acak kelompok adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

- $Y_{ij}$  = nilai pengamatan pada satuan percobaan ke-j yang mendapatkan perlakuan ke-i  
 i = 1,2,..., t (perlakuan)  
 j = 1,2,..., r (ulangan)  
 $\mu$  = nilai tengah umum  
 $\tau_i$  = pengaruh perlakuan ke-i  
 $r_j$  = pengaruh kelompok ke-j  
 $\varepsilon_{ij}$  = galat percobaan pada satuan percobaan ke-j dalam perlakuan ke-i

Data hasil pengamatan dari masing-masing perlakuan diolah secara statistik dengan menggunakan daftar Sidik Ragam Rancangan Acak Kelompok (RAK), seperti dalam tabel berikut:

Tabel 1. Sidik Ragam

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit.	F 0,5
Ulangan	3	$\sum K^2_j/r - FK$	$JK_U/db_U$	$KT_U/KT_G$	3,16
Perlakuan	6	$\sum X^2_i/t - FK$	$JK_P/db_P$	$KT_P/KT_G$	2,66
Galat	18	$JK_T - JK_U - JK_P$	$JK_G/db_G$		
Total	27	$\sum X^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez (2007)

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

Tabel 2. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil analisis	Kesimpulan analisis	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

Jika berpengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$LSR = SSR (\alpha \cdot dbg \cdot p) \cdot S_x$$

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

Keterangan :

LSR = *Least Significant Range*

SSR = *Significant Stuenalized Range*

$\alpha$  = Taraf Nyata

dbg = Derajat Bebas Galat

$p$  = *Range* ( Perlakuan)

$S_x$  = Galat Baku Rata-Rata (*Standard Error*)

KTG = Kuadrat Tengah Galat

$r$  = Jumlah ulangan pada tiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan.

### 3.4 Pelaksanaan percobaan

Pelaksanaan percobaan meliputi tahap-tahap kegiatan sebagai berikut:

#### 3.4.1 Percobaan di lapangan

Percobaan ini menggunakan tanaman ginseng jawa penelitian sebelumnya yang berusia 5 bulan pada bulan Desember kemudian dilanjutkan kembali pada bulan Januari dengan perlakuan kapasitas lapang yang sama untuk mendapatkan data parameter yang berbeda.

### 1. Pemupukan

Pemupukan dilakukan dengan menggunakan pupuk kandang 1 gram/*polybag* dan pupuk anorganik dengan dosis 0,1 gram urea/*polybag*, 0,12 gram SP36/*polybag* dan 0,12 gram KCl/*polybag* pada tanaman umur 3 bulan setelah tanam (Seswita, 2010).

### 2. Pemberian perlakuan

Untuk menentukan pemberian air pada perlakuan, setiap *polybag* ditimbang lalu disiram air sampai bobotnya sesuai dengan perlakuan kapasitas lapang. Berdasarkan perhitungan penelitian sebelumnya bobot setiap perlakuan yang harus dipertahankan sesuai perlakuan kapasitas lapang adalah sebagai berikut:

$$A = 2.260 \text{ g}$$

$$B = 2.300 \text{ g}$$

$$C = 2.353 \text{ g}$$

$$D = 2.390 \text{ g}$$

$$E = 2.453 \text{ g}$$

$$F = 2.504 \text{ g}$$

$$G = 2.535 \text{ g}$$

Pemberian perlakuan dilakukan setiap pagi dengan interval penyiraman satu hari sekali untuk mempertahankan bobot kapasitas lapangnya. Pengaplikasiannya dilakukan dengan cara menyiramkan air sesuai perlakuan langsung ke media tanam.

### 3. Penyiangan

Penyiangan dilakukan secara manual, yaitu dengan cara mencabut gulma yang tumbuh pada plot penelitian dengan hati-hati.

### 4. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan sesuai dengan jenis hama dan penyakit agar tidak mengurangi kualitas tanaman ginseng jawa.

#### 3.4.2 Percobaan di Laboratorium

Pembuatan ekstrak akar ginseng jawa menggunakan metode maserasi (Anggi, Tandi dan Veronika, 2020) dengan cara akar ginseng jawa yang sudah dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender ditimbang sebanyak 200 gram lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%

sebanyak 2 L, lalu dibiarkan selama 3 x 24 jam terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Ekstrak kental cair yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak yang sudah jadi kemudian di uji kadar metabolit sekundernya (alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin) secara kualitatif.

### **3.5 Parameter Pengamatan**

#### **3.5.1 Pengamatan penunjang**

Pengamatan penunjang adalah pengamatan 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, dan organisme pengganggu tanaman (gulma dan hama).

#### **3.5.2 Pengamatan utama**

Pengamatan utama adalah pengamatan yang dilakukan pada setiap variabel yang datanya dianalisis secara statistik untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang diteliti. Pengamatan utama ini terdiri dari:

##### **a. Pertumbuhan tanaman**

###### **1. Indeks pertumbuhan tanaman**

Indeks pertumbuhan tanaman dapat digunakan sebagai indikator kuantitatif laju pertumbuhan tanaman dan untuk membandingkan ukuran tanaman yang ditanam di bawah perlakuan yang berbeda. Pengukuran indeks pertumbuhan tanaman ini dilakukan sebanyak 3 kali pada tanaman berusia 22 MST, 24 MST dan 26 MST. Tinggi tanaman, di ukur dari pangkal batang hingga ujung daun tertinggi. Lebar tanaman diukur di kedua arah timur-barat (sejajar dengan baris tanaman) dan utara-selatan (tegak lurus dengan barisan tanaman). Pada pengukuran lebar tanaman, jarak antara dua daun terluar diukur. Indeks pertumbuhan untuk setiap tanaman dihitung dengan rumus:

$$IP = (T+(Ltb+Lus)/2)/2$$

Keterangan:

- IP = Indeks pertumbuhan  
 T = Tinggi tanaman (cm)  
 Ltb = Lebar tanaman dari arah timur-barat (cm)  
 Lus = Lebar tanaman dari arah utara-selatan (cm)

(Irmak dkk., 2004)

## 2. Laju pertumbuhan relatif tanaman (mg/g/mgg)

Laju pertumbuhan tanaman adalah laju pertambahan berat kering tanaman per satuan berat kering persatuan waktu (Anwarudin dkk., 2003). Laju pertumbuhan relatif tanaman dihitung menggunakan rumus:

$$LPT = \frac{\Delta W}{\Delta t} = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1}$$

Keterangan:

- LPT = Laju pertumbuhan tanaman  
 $W_1$  = Bobot kering tanaman pada  $t_1$   
 $W_2$  = Bobot kering tanaman pada  $t_2$   
 $t_1$  = Waktu pengamatan awal  
 $t_2$  = Waktu pengamatan akhir

## 3. Bobot akar (g)

Tanaman yang telah dicabut dari media tanam dibersihkan dari tanah dan kotoran yang melekat kemudian akar tanaman di pisahkan dari batang dan daunnya dengan cara dipotong menggunakan pisau lalu akar tanaman ditimbang menggunakan timbangan analitik.

## 4. Panjang akar (cm)

Tanaman yang telah dicabut dari media tanam dibersihkan dari tanah dan kotoran kotoran yang melekat. Pengukuran panjang akar diukur dari bagian pangkal akar sampai bagian ujung akar yang paling panjang.

## b. Karakteristik fisiologis tanaman

### 1. Kadar air relatif/relative water content (%)

Menurut Smart dan Bingham (1974) Relative Water Content ditentukan

dengan rumus:  $RWC = \frac{(BS-BK)}{(PB-BK)} \times 100\%$

Keterangan:

RWC = Relative Water Content

BS = Bobot segar, diperoleh dengan menimbang sampel daun segar

PB = Pertambahan Bobot, diperoleh dengan cara sebagai berikut:  
daun segar setelah ditimbang direndam dalam aquades selama 4 sampai 5 jam, setelah itu permukaan daun dikeringkan dengan cara digosok dengan *tissue* sampai kering kemudian ditimbang.

BK = Bobot Kering, diperoleh dari sampel daun yang di oven dalam suhu 80°C selama 24 jam kemudian didinginkan dan ditimbang.

Pengambilan sampel daun untuk perhitungan RWC diambil satu helai daun muda yang telah berkembang penuh dari setiap *polybag*.

## 2. Kerapatan stomata (sel/mm<sup>2</sup>)

Untuk mengukur jumlah stomata menggunakan metode replika (Setyasih, 2013), yaitu sampel daun daun ginseng jawa dibersihkan permukaan atas dan bawahnya dengan menggunakan tisu untuk menghilangkan debu/kotoran. Permukaan daun yang sudah bersih, diolesi dengan pewarna kuku bening dan dibiarkan selama 5 menit hingga kering. Olesan yang sudah kering ditempelkan pada selotip bening dan diratakan. Selotip dikelupas/diambil pelan-pelan, lalu tempelkan pada gelas benda, ratakan dan diberi keterangan label sebelah kiri pada setiap perlakuan tanamannya. Pengamatan jumlah stomata per luas bidang pandang menggunakan mikroskop. Kemudian dihitung kerapatan stomatanya dengan rumus:

$$\text{Kerapatan Stomata} = \frac{\text{rata-rata jumlah stomata}}{\text{luas bidang pandang}}$$

## 3. Kadar klorofil (mg/cm<sup>2</sup>)

Pengukuran kandungan klorofil dalam penelitian ini menggunakan alat *Chlorophyll Meter*. Sampel daun dari tanaman ginseng jawa tersebut diambil satu helai daun dari setiap *polybag*. Daun yang akan diukur kadar klorofilnya dijepitkan pada bagian sensor dari alat tersebut (Zakiyah, Manurung dan Wulandari, 2018).

### 3. Laju asimilasi bersih ( $\text{mg}/\text{cm}^2/\text{mng}$ )

Laju asimilasi bersih adalah laju pertambahan berat kering per satuan luas daun per satuan waktu (Anwarudin dkk., 2003). Laju asimilasi bersih dihitung menggunakan rumus:

$$LAB = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1} \times \frac{\ln A_2 - \ln A_1}{A_2 - A_1}$$

Keterangan:

LAB = Laju asimilasi bersih

$W_1$  = Bobot kering tanaman pada  $t_1$

$W_2$  = Bobot kering tanaman pada  $t_2$

$t_1$  = Waktu pengamatan awal

$t_2$  = Waktu pengamatan akhir

$A_1$  = Luas daun pada awal pengamatan

$A_2$  = Luas daun pada akhir pengamatan

### c. Kandungan metabolit sekunder

Uji kandungan metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif (Harborne dkk., 2006). Pengujian kandungan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu:

#### 1. Uji alkaloid

Ekstrak akar ginseng jawa ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu ditambahkan 5 ml asam klorida 2 N dan dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendrof LP. Jika hasil memberikan endapan kuning orange sampai merah bata maka sampel mengandung alkaloid.

#### 2. Uji flavonoid

Ekstrak akar ginseng jawa ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan ditambahkan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Perubahan warna menjadi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.



### 3. Uji saponin

Ekstrak akar ginseng jawa ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang menetap selama tidak kurang dari 1 menit atau pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang maka menunjukkan adanya saponin.

### 4. Uji tanin

Ekstrak akar ginseng jawa ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam cawan lalu ditambahkan dengan 20 ml air panas dan larutan NaCl 10% sebanyak 3 tetes. Kemudian ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$ , bila terbentuk warna biru hitam menunjukkan adanya tanin.