

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Screenhouse Satpel BTPH Wilayah V Tasikmalaya Jalan Pertanian Kelurahan Cilembang Kecamatan Cihideung Kota Tasikmalaya Provinsi Jawa Barat, pada bulan Februari sampai bulan Maret tahun 2024.

3.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan, gelas ukur, polybag, baki perkecambahan, *thermohygrometer*, *leaf area meter*, mikroskop, kuteks bening handphone dan alat tulis

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas Anjasmoro, Air, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* dan pupuk NPK.

3.3 Metode penelitian

Metode penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) berpola faktorial yang terdiri dari dua faktor :

Faktor pertama adalah cekaman kekeringan (C) yang terdiri dari dua taraf, yaitu:

c_0 = Kadar air tanah pada kapasitas lapang 100% (Normal)

c_1 = Kadar air tanah 50% dari kapasitas lapang (Sedang)

Faktor kedua adalah konsentrasi PGPR (P) yang terdiri dari lima taraf, yaitu :

p_0 = Tanpa pemberian PGPR (Kontrol)

p_1 = Konsentrasi PGPR 1% / L air

p_2 = Konsentrasi PGPR 1,5% / L air

p_3 = Konsentrasi PGPR 2% / L air

p_4 = Konsentrasi PGPR 2,5% / L air

Percobaan terdiri dari 10 kombinasi perlakuan antara kadar air tanah dan konsentrasi PGPR di ulang 3 kali. Kombinasi perlakuan antara cekaman kekeringan dan Konsentrasi PGPR pada Tabel 4.

Tabel 4. Kombinasi perlakuan kadar air tanah (C) dan konsentrasi PGPR (P).

Cekaman kekeringan (C)	PGPR (P)				
	p ₀	p ₁	p ₂	p ₃	p ₄
c ₀	c ₀ p ₀	c ₀ p ₁	c ₀ p ₂	c ₀ p ₃	c ₀ p ₄
c ₁	c ₁ p ₀	c ₁ p ₁	c ₁ p ₂	c ₁ p ₃	c ₁ p ₄

Keterangan : Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh 30 satuan percobaan. Tiap satuan percobaan ditanam dengan 6 bibit tanaman sehingga total 180 tanaman.

3.4 Analisis data

Model linier pada rancangan acak kelompok fola factorial adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

Y_{ijk} = Hasil pengamatan pada ulangan ke-i, perlakuan faktor kadar air tanah taraf ke-j dan konsentrasi PGPR taraf ke-k

μ = Nilai tengah (NT)/ Rata-rata umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

α_j = Pengaruh kadar air tanah taraf ke-j

β_k = Pengaruh konsentrasi PGPR ke-k

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Pengaruh interaksi antara kadar air tanah taraf ke-j dengan konsentrasi PGPR taraf ke-k

ϵ_{ijk} = Pengaruh galat percobaan yang berhubungan dengan perlakuan kombinasi kadar air tanah pada taraf ke-j dan faktor konsentrasi PGPR pada taraf ke-k dalam ulangan ke-i.

Data hasil pengamatan kemudian diolah menggunakan analisis statistik, kemudian disusun dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F sebagai berikut :

Tabel 5. Analisis sidik ragam

Sumber ragam	Db	JK	KT	F hit.	F. Tabel 5%
Ulangan	2	$\sum x_i^2/ab - FK$	JKU/Db U	KTU/KTG	3,56
Perlakuan (T)	9	$\sum T_{ij}^2/r - FK$	JKT/Db T	KTP/KTG	2,46
Kadar Air Tanah (C)	1	$\sum C^2/rp - FK$	JKC/Db C	KT C/KTG	4,41
Konsentrasi PGPR (P)	4	$\sum P^2/rc - FK$	JK P/Db P	KT P/KTG	2,93
Interaksi C x P	4	JK T-JK C- JK P	JK CP/Db	KTCP/KTG	2,93
Galat (G)	18	JK total -JK U- JK T	JKG/Db G		
Toral	29	$\sum x...ij^2 - FK$			

Sumber : Gomes dan Gomez, 1995.

Tabel 6. Kaidah pengambilan keputusan.

Hasil Analisis	Kesimpulan	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 : Gomes dan Gomez, 1995

Apabila nilai F_{hitung} menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf kesalahan 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

Sx = Simpangan baku rata-rata perlakuan

Apabila terjadi interaksi pada uji F maka dilakukan uji efek sederhana untuk membedakan pengaruh faktor kadar air tanah (C) pada setiap taraf konsentrasi PGPR (P) atau sebaliknya yaitu membedakan faktor konsentrasi PGPR (P) pada setiap taraf kadar air tanah (C), maka S_x dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Nilai S_x dapat dicari dengan rumus :

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

Apabila tidak terjadi interaksi pada uji F maka untuk membedakan pengaruh faktor c pada seluruh taraf faktor p, maka S_x dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$S_x = \sqrt{\frac{KTG}{rp}}$$

Apabila tidak terjadi interaksi pada uji F maka untuk membedakan pengaruh faktor p pada seluruh taraf faktor c, maka S_x dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$S_x = \sqrt{\frac{KTG}{rc}}$$

Untuk menguji kebermaknaan interaksi yang terjadi pada setiap peningkatan konsentrasi PGPR pada setiap taraf kadar air tanah atau setiap penambahan kadar air tanah pada setiap taraf konsentrasi PGPR, maka dilakukan Uji Student-New-Keuls (SNK) pada taraf nyata 5 % dengan rumus sebagai berikut :

$$W_p = w_p \cdot S_y$$

$$S_y = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

Keterangan :

W_p = wilayah nyata student

$W_p 5\%$ = wilayah (range) jumlah perlakuan yang diperbandingkan (dari table dengan derajat bebas percobaan)

S_y = simpangan baku

KTG = Kuadrat Tengah Galat

r = jumlah ulangan

3.5 Pelaksanaan penelitian

3.5.1 Pemberian PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*)

PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) didapat dari koleksi Lab Satpel BPTPH Wilayah V Tasikmalaya dengan kerapatan bakteri *Bacillus subtilis* $4,3 \times 10^9$ CFU/ml dan *Pseudomonas fluorescens* $4,35 \times 10^9$ CFU/ml (Lampiran 3 dan 4). Pemberian berbagai macam konsentrasi PGPR dengan lima taraf yaitu : p_0 (kontrol), p_1 (1%), p_2 (1,5%), p_3 (2%) dan p_4 (2,5%) dalam 1000 ml air dengan cara aplikasi penyiraman di sekitar perakaran tanaman dosis 200 ml/tanaman. Pemberian PGPR pada kedelai dalam polybag diaplikasikan dua kali yang sebelumnya dilakukan invigorasi pada benih sesuai konsentrasi.

3.5.2 Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman sebagai patokan pemberian taraf perlakuan. Pengukuran kapasitas lapang dilakukan dengan cara media tanam polybag yang telah dilubangi bagian bawahnya diisi tanah kemudian disiram dengan air sampai jenuh, didiamkan selama kurang lebih satu malam. Kemudian media tanam ditimbang berat basahnya untuk mengetahui berat kapasitas lapang. Kapasitas lapang didapat dari berat media tanam basah dikurangi berat awal media tanam (Lampiran 5). Jumlah air yang terikat dalam tanah ditetapkan sebagai 100% kapasitas lapang (Agustinur dkk., 2018).

3.5.3 Penanaman

Benih kedelai yang digunakan pada penelitian yaitu benih kedelai dengan varietas Anjasmoro. Daya tumbuh kedelai varietas Anjasmoro yang digunakan 80%. Penambahan *Rhizobium* dengan dosis 7,5g/Kg benih rhizobium dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai (Safriyani dkk, 2021) setelah dilakukan perendaman benih.

a. Uji perkecambahan

Pemberian perlakuan PGPR dilakukan dengan cara invigorasi. Sebelum ditanam benih kedelai diberi perlakuan invigorasi dengan cara merendam benih di dalam air dengan larutan PGPR sesuai dengan konsentrasi perlakuan yang dicoba yaitu 0%, 1%, 1,5%, 2% dan 2,5% dalam 1000 ml air selama 12 jam. Benih yang

sudah direndam kemudian ditiriskan dan di kering anginkan, selanjutnya benih ditanam pada baki perkecambahan dengan media tanah dan kadar air sesuai perlakuan cekaman kekeringan sampai umur 7 hari setelah tanam. Setiap perlakuan pada baki berisi 20 benih.

b. Uji pertumbuhan vegetatif

Penanaman dilakukan pada polybag ukuran 25cm x 35cm dengan media tanam berupa tanah sampai umur 30 hari setelah tanam. Polybag yang disiapkan sebanyak 180 dengan dua tanaman per polybag dan dilakukan penjarangan pada usia 7 hari setelah tanam (Lampiran 1 dan 2). Pemberian perlakuan PGPR dengan cara invigorasi dan penyiraman di sekitar perakaran sesuai dengan konsentrasi perlakuan 0%, 1%, 1,5%, 2% dan 2,5% dalam 1000 ml air dan untuk dosis 200ml/tanaman. Pemberian PGPR pada kedelai dalam polybag diaplikasikan dua kali yaitu pada tanaman berumur 14 dan 21 hari setelah tanam pada sore hari. Pemberian cekaman kekeringan dilakukan dengan interval penyiraman dua hari sekali.

3.6 Variabel pengamatan

3.6.1 Pengamata 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 (OPT) dan pH tanah.

3.6.2 Pengamatan utama

1. Pengamatan perkecambahan

a. Daya kecambah (%)

Pengamatan dilakukan terhadap benih yang telah berkecambah normal pada hari ke-7 setelah tanam. Kecambah normal dilihat dengan pemunculan dan perkembangan struktur-struktur penting dari embrio yaitu munculnya calon akar (radikula), calon daun (plumula) dan calon batang (hipokotil) serta kotiledon secara sempurna (Ridha dkk, 2017).

b. Kecepatan tumbuh (%/etmal)

Tolak ukur kecepatan tumbuh mengindikasikan vigor kekuatan tumbuh. Kecepatan tumbuh dihitung berdasarkan jumlah pertambahan kecambah setiap hari atau etmal. Pengamatan dihitung setiap hari mulai hari pertama sampai hari ke-7 setelah tanam (Ridha dkk, 2017). Unit tolak ukur kecepatan tumbuh adalah persentasi per hari atau persentasi per etmal. Kecepatan berkecambah dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kecepatan Tumbuh} = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} + \dots + \frac{N_n}{D_n}$$

Keterangan:

$N_1 - N_n$ = Jumlah kecambah normal hari ke 1,2,... n

$D_1 - D_n$ = Jumlah hari setelah tanam (etmal).

n = Akhir perkecambahan

c. Bobot kering kecambah (g)

Bobot kering kecambah merupakan bobot dari kecambah normal yang telah dibuang kotiledonnya pada hari ke-7 setelah tanam. Penimbangan bobot kering kecambah dilakukan dengan cara membersihkan akar dari kotoran atau tanah, kecambah dikeringkan pada oven dengan suhu 65°C selama 12 jam kemudian ditimbang. Pengamatan bobot kering kecambah menggunakan sampel kecambah normal sebanyak 10 kecambah/baki yang dipilih secara acak.

d. Daya hantar listrik kecambah ($\mu\text{s/cm}$)

Daya hantar listrik diamati dengan alat conductivity meter. Kecambah diambil secara acak, masing-masing direndam pada air bebas ion selama 24 jam dengan volume air 100 ml di dalam botol gelas, kemudian diukur daya hantar listrik menggunakan alat *conductivity meter*.

e. Panjang epikotil (cm)

Pengukuran panjang epikotil dengan cara mengukur panjang tanaman mulai dari kotiledon sampai pangkal daun tunggal, pengukuran dilakukan pada hari ke-7 setelah tanam pengamatan ini menggunakan sampel secara acak.

f. Panjang hipokotil (cm)

Pengukuran panjang hipokotil dilakuakn dengan cara mengukur panjang batang tanaman mulai dari pangkal akar hingga kotiledon dengan penggaris, pengukuran dilakuakn pada hari ke-7 setelah tanam pengamatan ini menggunakan sampel secara acak.

2. pengamatan pertumbuhan vegetatif

a. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur dari pangkal tanaman hingga pucuk. Pengukuran dilakukan pada saat tanaman berumur 7, 14, 21, 28 hari setelah tanam.

b. Jumlah daun (helai)

Jumlah daun dihitung ketika sudah ada daun trifoliat. Perhitungan jumlah daun dilakukan pada saat tanaman berumur 7, 14, 21, 28 hari setelah tanam.

c. Luas daun (cm²)

Pengamatan dilakukan pada umur 30 hari setelah tanam dengan cara menentukan gambar daun tanaman sample yang telah bersih. Lalu dilakukan perhitungan dengan *Leaf area meter*.

d. Volume akar (ml)

Mengukur volume akar dilakukan dengan cara memotong bagian akar tanaman kedelai yang telah dibersihkan, setelah dibersihkan dan dikeringkan di masukan ke dalam gelas ukur 1000 ml yang berisi air 250ml sehingga didapatkan penambahan volume. Pengamatan volume akar dilakukan pada akhir pada umur tanaman 30 hari. Volume akar dapat diperoleh dengan rumus :

$$\text{Volume akar} = \text{Volume}_2 - \text{Volume}_1$$

e. Bobot kering akar (g)

Akar dipisahkan dari tajuknya kemudian dicuci sampai bersih kemudian dibungkus dengan kertas lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 65°C selama 12 jam, lalu ditimbang dengan timbangan analitik.

f. Bobot kering pupus (g)

Bobot kering pupus dihitung dengan cara memisahkan tajuk dari akarnya kemudian dibungkus dengan kertas lalu di oven pada suhu 65°C selama 12 jam, kemudian ditimbang berat keringnya.

g. Ratio pupus akar

Ratio pupus akar (*Shoot Root Ratio*) adalah perbandingan antara bobot kering tanaman bagian atas (pupus) dengan bobot kering tanaman bagian bawah (akar) dari tanaman. Pengukuran dilakukan setelah tanaman dipanen dengan cara memotong bagian akar dan tajuk tanaman kemudian dibungkus dengan kertas lalu di oven 65°C selama 12 jam kemudian ditimbang. Nisbah pupus akar dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Ratio pupus akar} = \frac{\text{Bobot kering bagian atas tanaman}}{\text{Bobot kering akar tanaman}}$$

h. Kadar air relatif daun (%)

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan menurut prosedur (Fitri, Zaidan dan Salam, 2017), yaitu dengan cara mengambil 4 bagian daun dari perlakuan kemudian ditimbang (bobot segar). Sampel daun selanjutnya direndam dengan aquades selama 20 jam dan bobot dalam keadaan turgid ditimbang (bobot jenuh). Sampel daun kemudian dikeringkan dalam oven selama 12 jam pada suhu 65°C hingga bobot nya konstan lalu ditimbang (bobot kering) kadar air relatif daun dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

i. Jumlah stomata (buah)

Stomata daun diukur dengan pembuatan preparat stomata yaitu dengan metode replika/cetakan. Permukaan daun yang akan diamati diolesi cat kuku (kuteks), dibiarkan kering kira-kira 5-10 menit. Setelah kering, kuteks dikelupas secara perlahan. Hasil cetakan kuteks kemudian diletakkan di atas gelas obyek. Selotip bening kemudian dipasangkan diatas cetakan agar cetakan tidak berpindah tempat. Jumlah stomata (terbuka dan tertutup) pada lapisan atas dan bawah daun pada perbesaran (40x10) diameter (Lestari, 2006).

j. Bobot kering tanaman (g)

Pengukuran bobot kering dilakukan setelah panen dengan cara tanaman dijemur pada terik sinar matahari sampai kering. Tanaman yang telah dikeringkan kemudian dioven pada suhu 65°C selama 12 jam. Hasil bobot kering tanaman dinyatakan dalam satuan gram (g).