

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Percobaan dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2022, bertempat di Naungan Plastik Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya.

3.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah blender, beaker glass, kain saring, oven, *seed dryer*, timbangan digital, sprayer, hygrometer, *rotary evaporation*, tabung ukur, penggaris, pisau, timbangan analitik, klorofil meter, *polybag* ukuran 30 cm x 30 cm, konduktometer, *clorophyll meter*.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu, benih kedelai hitam varietas Detam 1, tanah (untuk media tumbuh benih), kulit nanas yang segar didapat dari penjual buah nanas, pupuk NPK, pupuk kandang, air sumur, etanol, aquades.

3.3 Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang berpola faktorial. Faktor pertama yaitu ekstrak kulit nanas dengan tiga taraf dan faktor kedua yaitu kadar air tanah dengan tiga taraf.

Faktor pertama yaitu ekstrak kulit nanas (a) sebagai bahan perlakuan terdiri dari tiga taraf, yaitu:

a0 = Air (kontrol)

a1 = 1%

a2 = 2%

Faktor kedua adalah kapasitas lapang (c) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu:

c0 = 100 % kapasitas lapang

c1 = 75 % kapasitas lapang

c2 = 25 % kapasitas lapang

Dengan demikian percobaan ini terdiri dari 9 kombinasi perlakuan beberapa kadar air tanah dengan ekstrak kulit nanas. Kombinasi perlakuan beberapa kadar air tanah dan ekstrak kulit buah nanas disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan kadar air tanah (c) dan ekstrak kulit nanas (a)

Kapasitas lapang (c)	Ekstrak Kulit Nanas (a)		
	a0	a1	a2
c0	c0a0	c0a1	c0a2
c1	c1a0	c1a1	c1a2
c2	c2a0	c2a1	c2a2

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga 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 relatif 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 kadar air tanah taraf ke-j dan antioksidan taraf ke-k

μ = Rata-rata umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

α_j = Pengaruh beberapa kadar air tanah pada taraf ke-j

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

ε_{ijk} = Komponen random dari galat yang berhubungan dengan perlakuan kadar air tanah pada taraf ke-j dan faktor antioksidan pada taraf ke-k dalam ulangan ke-i.

Data hasil pengamatan diolah dengan menggunakan analisis relatif, kemudian dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F yang terjadi pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Ragam	DB	JK	KT	F _{Hitung}	F _{Tabel (0.05)}
Ulangan (U)	2	$\frac{\sum x_{ij}^2}{ab} - FK$	JKU/DBU	KTU/KTG	3,00
Perlakuan (P)	8	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	JKP/DBP	KTP/KTG	3,39
Kadar Air Tanah (C)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	JKa/DBa	KTa/KTG	3,00
Antioksidan (A)	2	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	JKb/DBb	KTb/KTG	3,00
Interaksi (a x b)	4	JKP-Jka-JKb	JKab/DBab	KT (a x b)/KTG	3,23
Galat	16	JK(T)-JK(U)-JK(P)	JKG/DBG		
Total	26	$\sum x...ij^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez, (1995).

Kaidah keputusan berdasarkan pada nilai F hitung, dapat dilihat pada Tabel 3. Sebagai berikut:

Tabel 3. Kaidah Pengambilan Keputusan

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

Sumber: Gomez dan Gomez,

Bila nilai F hitung menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf kesalahan 5 %, dengan rumus sebagai berikut:

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

Dengan keterangan sebagai berikut:

LSR	= <i>Least Significant Range</i>
SSR	= <i>Studentized Significant Range</i>
dBg	= Derajar bebas galat
y	= Taraf Nyata
p	= Jarak
Sx	= Simpangan baku rata-rata perlakuan

Nilai Sx dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

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

Apabila tidak terjadi interaksi, diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

1. Untuk membedakan pengaruh faktor C (Kadar Air Tanah) berbeda nyata maka dengan rumus:

$$Sx = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{ra}}$$

2. Untuk membedakan pengaruh faktor A (Antioksidan) berbeda nyata maka dengan rumus:

$$Sx = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{rc}}$$

3.5 Pelaksanaan penelitian

3.5.1 Pembuatan ekstrak kulit nanas

Pada tahap awal penelitian ini dilakukan pembuatan ekstrak kulit nanas. Kulit nanas dalam penelitian ini diperoleh dari penjual buah nanas, kemudian dijadikan ekstrak kulit nanas. Dalam pembuatan ekstrak kulit nanas yaitu nanas yang telah didapat kemudian dibersihkan dan dipotong berukuran kecil agar saat diblender dengan mudah.

Kulit nanas yang digunakan adalah kulit nanas segar sekitar 3 kg atau 3.000 gram dibuat dengan metode maserasi, langkah awal dengan proses pengeringan di oven dengan suhu sekitar 40°C, kemudian jika sudah dilakukan pengeringan

langkah selanjutnya dengan menghaluskan kulit nanas dengan blender, setelah menjadi butiran halus kemudian kulit nanas diekstraksi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari dan sehari sekali diaduk, setelah 3 hari kulit nanas yang telah diekstraksi disaring menggunakan kain saring. Kemudian setelah disaring, ekstrak kulit nanas diuapkan dengan alat *rotary evaporation* pada suhu sekitar 70°C sampai didapat ekstrak pekat. Pada saat pembuatan ekstrak kulit nanas menggunakan *rotary evaporation* dilakukan di UNIGA (Universitas Garut). Selanjutnya dibuat larutan ekstrak kulit nanas sesuai dengan perlakuan (konsentrasi 1% dan 2%) (Suryaman *et al.*, 2021).

3.5.2 Invigorasi benih

Benih sebelum dilakukan penanaman terlebih dahulu diberi perlakuan invigorasi dengan cara merendam benih ke dalam air (kontrol) dan larutan antioksidan ekstrak kulit nanas dengan berbagai konsentrasi yang sudah ditentukan. Masing-masing perlakuan invigorasi direndam selama 12 jam. Setelah mencapai waktu 12 jam, kemudian benih dibersihkan menggunakan air, lalu dikering anginkan.

Larutan yang digunakan untuk perlakuan invigorasi masing-masing yaitu dengan konsentrasi 1% dan 2% ekstrak kulit nanas hingga volume masing-masing konsentrasi mencapai 100 ml (Lampiran 4).

3.5.3 Pengukuran kapasitas lapang

Pengukuran kapasitas lapang mempunyai tujuan yaitu untuk menentukan volume penyiraman sebagai patokan pemberian taraf perlakuan. Metode yang digunakan yaitu metode gravimetrik. Langkah awal yaitu mengisi tanah sebanyak 4 kg ke dalam polybag berukuran 30 cm x 30 cm, lalu berat tanah ditimbang (berat awal). Langkah kedua yaitu memberikan air ke dalam polybag tadi yang berisi tanah sampai jenuh (berat basah), setelah itu didiamkan selama 24 jam hingga air tidak menetes. Langkah ketiga, setelah 24 jam tanah ditimbang kembali (berat kering). Kapasitas lapang didapatkan dari selisih antara berat basah tanah dengan berat kering (Arsyadmunir, 2016).

3.5.4 Penanaman

Penanaman di lapangan menggunakan media tanah sebanyak 4 kg kemudian dimasukkan ke dalam *polybag* ukuran 30 cm x 30 cm. Benih yang telah diberikan perlakuan invigorasi bisa langsung di tanam pada *polybag*. Percobaan ini terdiri dari 27 plot percobaan dengan 6 tanaman per plot sehingga terdapat 162 tanaman. Selain itu, disiapkan juga benih cadangan di *polybag* lain untuk digunakan pada proses penyulaman.

3.5.5 Pemberian kondisi kadar air tanah dan antioksidan ekstrak kulit nanas

Pemberian antioksidan ekstrak kulit nanas fase pertumbuhan vegetatif dilakukan sebanyak 2 kali selama masa vegetatif, yaitu pada saat tanaman kedelai hitam berumur 17 dan 24 hari setelah tanam. Pemberian air sebagai perlakuan beberapa kadar air tanah dilakukan dengan cara menyiram menggunakan gelas takar sesuai kapasitas lapang berdasarkan perlakuan kapasitas lapang (KL), diantaranya KL 100%, KL 75%, KL 25% (Lampiran 4).

3.5.6 Pemeliharaan

a. Penyulaman

Penyulaman dilakukan untuk mengganti tanaman yang mati atau tumbuhnya tidak seragam dan diganti dengan tanaman baru. Dilakukan saat tanaman mati/tumbuh abnormal.

b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan untuk menekan pertumbuhan gulma di sekitar tanaman kedelai hitam, dilakukan menggunakan tangan.

c. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan memperhatikan tingkat serangan, pengendalian dilakukan secara mekanis yaitu dengan mengambil secara langsung setiap hama yang menyerang pada tanaman kedelai hitam dan secara kimiawi menggunakan pestisida Antracol

untuk mengendalikan penyakit pada saat tanaman kedelai hitam berumur 25 HST (hari setelah tanam).

3.6 Pengamatan

3.6.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang adalah pengamatan yang diperoleh dari data hasil penelitian yang tidak dianalisis secara statistik. Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian. Pengamatan ini terdiri dari analisis tanah, temperature, kelembapan udara, dan organisme pengganggu tanaman yaitu hama dan penyakit tanaman.

3.6.2 Pengamatan utama pertumbuhan vegetatif

a. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur dengan menggunakan mistar, mulai dari pangkal batang sampai tajuk. Pengamatan dilakukan pada umur 14, 21, 28, dan 35 HST.

b. Jumlah daun (helai)

Tanaman kedelai hitam dihitung jumlah daunnya jika sudah ada daun *trifoliate*. Perhitungan jumlah daun dilakukan pada saat tanaman berumur 14, 21, 28, dan 35 HST.

c. Luas daun (cm²)

Luas daun tanaman adalah luas daun pada tanaman yang diukur dari tanaman sampel yang sudah dicabut dari setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan pada saat umur 35 HST menggunakan aplikasi digital *ImageJ*.

d. Kadar klorofil (mg/m²)

Sampel daun kedelai hitam diambil secara acak dari satu tanaman dalam setiap perlakuan pada umur 36 HST lalu diukur dengan menggunakan alat *clorophyll meter*.

e. Bobot kering akar (g)

Akar dipilih sesuai dengan perlakuan, kemudian akar dicuci hingga bersih, setelah itu dikeringkan di dalam *seed dryer* dengan suhu optimal sekitar 40°C-50°C sampai bobotnya konstan. Setelah itu ditimbang akar

yang telah dioven dalam *seed dryer*, maka dari itu didapatkan bobot akar. Bobot akar dilakukan pada umur 37 HST.

f. Kebocoran membran (μ s)

Langkah awal dalam melaksanakan pengamatan utama pada kebocoran membran yaitu pada tahap awal ambil sampel daun di bagian tengah, ambil kurang lebih 3 helai daun. Langkah kedua yaitu memasukkan daun ke dalam aquades yang berisi ± 50 ml, kemudian sampel yang telah dimasukkan ke dalam air bebas ion diinkubasi pada suhu ruangan 10°C - 16°C selama 24 jam. Setelah 24 jam kemudian sampel air diukur dengan alat konduktometer (EC1). Langkah ketiga yaitu sampel awal yang telah diukur dialihkan ke tahap selanjutnya yaitu sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 90°C selama 20 menit. Hal ini berguna untuk melepaskan seluruh elektrolit. Langkah terakhir yaitu mengeluarkan sampel yang telah dioven, dinginkan sampel dan ukur kembali dengan alat konduktometer (EC2) (Hnilickova *et al.*, 2019).

Rumus kebocoran membran yaitu:

$$EL = \left(\frac{EC\ 1}{EC\ 2} \right) \times 100\%$$

g. Kadar air relatif daun (%)

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan pada 38 HST dengan mengambil 4 helai dari masing-masing perlakuan dalam satu tanaman kemudian daun tersebut ditimbang (bobot segar). Sampel daun kemudian direndam dengan aquades selama 20 jam dan bobot dalam keadaan turgid ditimbang (bobot jenuh). Sampel daun kemudian dikeringkan dalam *seed dryer* pada suhu optimal sekitar 50°C selama 24 jam kemudian ditimbang (bobot kering) (Fitri dan Salman, 2017). Kadar air relatif daun dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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