

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juni 2025 di Laboratorium Mikrobiologi dan Lahan Percobaan Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Kota Tasikmalaya.

3.2 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah pirolisator, destilator, cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, *aluminium foil*, jarum ose, *plastic wrap*, spatula, pinset, mikropipet, *glass spreader*, timbangan elektrik, *magnetic stirer*, bunsen, *shaker*, kompor gas, autoklaf, jangka sorong digital, *wood moisture meter*, botol kaca, hemositometer, scalpel, corong, pipet, *laminar air flow*, *smartphone*, aplikasi Colorimeter Lab Tools, indikator pH universal, neraca analitik, polybag ukuran 15 cm x 15 cm, ember, cangkul, dan naungan plastik.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah tempurung kelapa, etanol 95%, biakan murni *Fusarium spp.*, benih cabai merah varietas tanjung, tanah, pupuk organik, alkohol 70%, *Phenolphthalein*, FeCl₃ 1%, aquades, NaOH, spirtus, media *potato dextrose agar* (PDA), dan media *potato descrose broth* (PDB).

3.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksperimental. Metode deskriptif digunakan untuk identifikasi kandungan asap cair tempurung kelapa. Metode eskperimental digunakan pada pengujian *in vitro* dan *in vivo*.

Pengujian *in vitro* dilakukan untuk dapat menentukan konsentrasi terbaik yang akan digunakan pada pengujian *in vivo*. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 taraf perlakuan asap cair tempurung kelapa dan diulang sebanyak 4 kali, sehingga diperoleh 24 unit percobaan.

Konsentrasi asap cair yang digunakan mengacu pada penelitian Suyanto dkk. (2021), sehingga perlakuan yang digunakan yaitu sebagai berikut:

K_0 = Tanpa perlakuan asap cair tempurung kelapa (kontrol)

K_1 = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 0,2%

K_2 = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 0,4%

K_3 = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 0,8%

K_4 = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 1,6%

K_5 = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 3,2%

Data hasil percobaan yang diperoleh dari pengujian secara *in vitro* kemudian dianalisis untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati dengan sidik ragam dan kaidah pengambilan keputusan berdasarkan uji F. Metode linier dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut (Gomez dan Gomez, 2010) sebagai berikut :

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

Dengan :

Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Berdasarkan model linier tersebut, kemudian disusun tabel analisis sidik ragam (ANOVA) sebagaimana pada tabel berikut.

Tabel 1. Tabel sidik Rancangan Acak Lengkap (Percobaan *In vitro*)

Sumber Ragam	Db	JK	KT	F _{hit}	F _{tab 5%}
Perlakuan	5	$\sum x^2 - FK$	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,77
Galat	18	JKT-JKP	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total	23	$\sum \frac{T^2}{r} - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez (2010)

Pengujian *in vivo* dilakukan setelah diperoleh hasil dari pengujian *in vitro*, yaitu diambil satu konsentrasi asap cair terbaik yang mampu menghambat pertumbuhan fungi *Fusarium* sp. untuk dijadikan sebagai acuan perlakuan pada pengujian *in vivo*. Perlakuan konsentrasi asap cair tempurung kelapa *in vivo* dirancang sebagai berikut:

K_o = tanpa asap cair tempurung kelapa (Kontrol)

K_a = setengah dari K_b (%)

K_b = konsentrasi paling efektif pada uji *in vitro* (%)

K_c = dua kali dari K_b (%)

Aplikasinya dalam percobaan sebagai berikut:

K_o = tanpa asap cair tempurung kelapa (Kontrol)

K_a = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 0,8%

K_b = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 1,6%

K_c = konsentrasi asap cair tempurung kelapa 3,2%

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 taraf perlakuan konsentrasi asap cair dengan jumlah ulangan sebanyak 6 kali, setiap ulangan terdiri dari 4 tanaman, sehingga diperoleh 24 unit percobaan dengan total 96 tanaman percobaan.

Data hasil percobaan yang diperoleh dari pengujian secara *in vivo* kemudian dianalisis untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati dengan sidik ragam dan kaidah pengambilan keputusan berdasarkan uji F. Metode linier dari Rancangan Acak Kelompok (RAK) menurut (Gomez dan Gomez, 2010) sebagai berikut :

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

Dengan :

Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

β_j = Pengaruh blok ke-j

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Berdasarkan model linier tersebut, kemudian disusun tabel analisis sidik ragam (ANOVA) sebagaimana pada tabel berikut.

Tabel 2. Tabel Sidik Ragam Rancangan Acak Kelompok (Percobaan *In vivo*)

Sumber Ragam	Db	JK	KT	Fhit	Ftab 5%
Ulangan	4	$\frac{\sum xt^2}{t} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{KTG}$	3,26
Perlakuan	3	$\frac{\sum yt^2}{t} - FK$	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	3,49
Galat	12	JKT - JKP - JKU	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total	19	$\sum XiJi - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez (2010)

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
$F_{hit} \geq F_{0,05}$	Berbeda nyata	Terdapat perbedaan pengaruh antar perlakuan

Sumber : Gomez dan Gomez, (2010)

Jika hasil analisis keragaman menunjukkan berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut :

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

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

Keterangan:

LSR = *Least significant range*

SSR = *Studentiez significant range*

α = Taraf nyata

dbg	= Derajat bebas galat
p	= Perlakuan (<i>range</i>)
S_x	= Galat baku rata-rata (<i>Standard error</i>)
KTG	= Kuadrat tengah galat
r	= jumlah ulangan

3.4 Prosedur kerja

3.4.1 Sterilisasi alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan mencuci semua alat yang digunakan dengan sabun cuci dan air bersih mengalir, kemudian dikeringkan. Alat yang sudah kering dibungkus dengan kertas dan dimasukkan kedalam plastik tahan panas diikat kuat. Semua alat tersebut serta bahan berupa aquades dan media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Alat-alat lain yang tidak tahan dengan suhu dan tekanan tinggi dapat disterilisasi dengan alkohol 70%.

3.4.2 Pembuatan media PDA

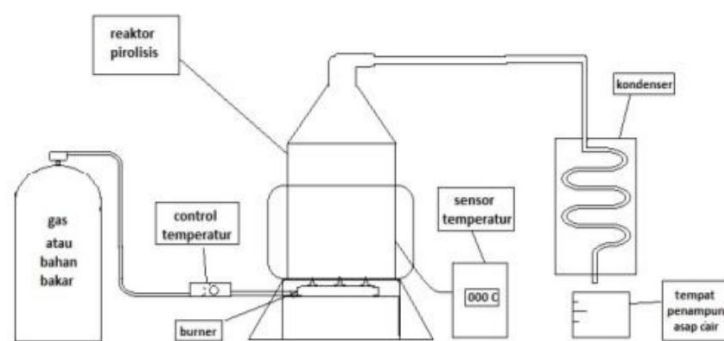
Media yang digunakan adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA) instan. Merujuk kepada penelitian Roka dan Rohmawati (2020), media dibuat dengan cara menimbang sebanyak 1,95 gr PDA kemudian dilarutkan dalam 50 ml akuades kemudian dipanaskan hingga homogen. Media yang telah dilarutkan, kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm.

3.4.3 Pembuatan asap cair

Tempurung kelapa didapatkan dari Pasar Cikurubuk, Kota Tasikmalaya. Tempurung kelapa yang telah didapatkan kemudian dicacah menggunakan golok yang bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan dan mempermudah untuk dimasukkan kedalam alat pirolisis. Selanjutnya tempurung kelapa dijemur dibawah sinar matahari langsung sampai kadar air mencapai 6 - 10 %. Untuk menguji kadar air tempurung kelapa ini menggunakan alat *wood moisture meter* secara berkala selama proses penjemuran.

Pada proses pirolisis dan destilasi ini menerapkan metode yang telah digunakan oleh Albaki *et al.*, (2021) dimulai dengan langkah-langkah berikut:

tempurung kelapa yang sudah melalui proses pengeringan ditimbang sebanyak 20 kg kemudian dimasukkan ke dalam tungku pirolisis (Gambar 3). Tungku dipasangkan pada alat pirolisis dan untuk pembakaran ini dilakukan dengan suhu 250 sampai 450°C yang ditunjukkan termometer yang ada pada alat pirolisis. Setelah melalui proses pirolisis ini dihasilkan 3 produk yaitu asap cair kasar, arang, dan tar. Kemudian asap cair kasar atau asap cair *grade 3* dimurnikan kembali melalui proses destilasi, sebelum dimasukan ke dalam alat destilator ini asap cair disaring menggunakan kertas saring terlebih dahulu agar cairan yang dihasilkan cukup bersih. Proses destilasi menggunakan alat destilator kaca sebanyak 2 kali dengan suhu pembakar 100 sampai 110°C. Proses destilasi yang pertama menghasilkan asap cair dengan *grade 2*. Asap cair yang digunakan pada penelitian ini adalah asap cair *grade 2*.



Gambar 3. Skema pembuatan asap cair (Sumber : Ginayati *et al.*, 2015)

3.4.4 Perbanyakan fungi *Fusarium* sp.

Isolat *Fusarium* sp. yang digunakan adalah koleksi milik laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi. Perbanyakan dilakukan dengan cara isolat *Fusarium* sp. dicuplik dengan menggunakan *cork borer* berukuran 5 mm lalu diletakan diatas permukaan PDA. Cawan petri kemudian ditutup rapat menggunakan *cling wrap*. Fungi diinkubasi pada suhu ruang selama 3 sampai 7 hari yang kemudian akan digunakan sebagai fungi uji pada pengujian *in vitro*. Perbanyakan fungi *Fusarium* sp untuk uji *in vivo* dilakukan dengan media cair PDB.

3.4.5 Pengujian secara *in vitro*

Uji penghambatan asap cair tempurung kelapa terhadap patogen yang diuji dilakukan dengan menggunakan metode umpan beracun (*food poisoning*) seperti yang dilakukan oleh Suganda *et al.* (2019). Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan fungi patogen yang diuji di dalam media PDA yang telah dicampur dengan asap cair sesuai dengan berbagai konsentrasi perlakuan.

Metode pembuatan larutan asap cair mengacu kepada metode Nabigol dan Morshedi (2011) dan Firmansyah *et al.* (2023). Media Potato Dextrose Agar (PDA) disiapkan masing-masing sebanyak 50 mL dalam enam erlenmeyer. Penambahan asap cair dilakukan dengan cara mengurangi volume PDA sesuai kebutuhan konsentrasi, kemudian digantikan dengan asap cair hingga total volume tetap 50 mL. Dengan demikian, setiap erlenmeyer mengandung medium PDA yang homogen dengan konsentrasi asap cair sesuai taraf perlakuan yang telah ditetapkan (Tabel 4). Penetapan konsentrasi berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh (Suyanto *et al.*, 2021). Berikut adalah tabel formulasi campuran kedua macam larutan.

Tabel 4. Komposisi asap cair dan media PDA

Konsentrasi asap cair	Volume asap cair (mL)	Volume media PDA (mL)
0,2%	0,1	49,9
0,4%	0,2	49,8
0,8%	0,4	49,6
1,6%	0,8	49,2
3,2%	1.6	48,4

Pengujian dilakukan dengan prosedur yaitu menuangkan 10 mL media PDA yang telah dicampurkan dengan asap cair sesuai dengan konsentrasi masing-masing ke dalam cawan petri (Ata dan Manalo, 2014). Kontrol yang digunakan dalam pengujian merupakan kontrol negatif yaitu kontrol tanpa perlakuan asap cair. Media dibiarkan memadat selama ± 10 menit. Pencampuran asap cair dan PDA dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* agar meminimalisir terjadinya kontaminasi.

Langkah selanjutnya adalah isolat *Fusarium* sp. dipotong menggunakan *cork borer* dengan diameter 5 mm yang telah disterilkan, kemudian diletakkan di tengah cawan petri yang telah berisi media perlakuan (Lampiran 1). Cawan ditutup rapat lalu dilapisi plastik *wrap* dan diinkubasi pada suhu ruangan. Pengamatan dilakukan pada hari ke 3, 5 dan 7 setelah inokulasi dengan mengukur diameter koloni fungi pada setiap unit percobaan.

3.4.6 Pengujian secara *in vivo*

Media tanam yang digunakan adalah tanah *top soil*. kemudian media tanam disterilisasi berdasarkan metode Hatem dan Nawar (2024) dengan mengukus tanah selama 1 jam, dilakukan sebanyak 3 kali secara berurutan. Tanah yang telah disterilisasi dicampurkan dengan pupuk organik dengan perbandingan 3:1. Media tanam yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam polybag berukuran 15 cm x 15 cm.

Kerapatan konidia *Fusarium* sp. yang digunakan adalah 1×10^7 spora/ml (Dalimunthe *et al.*, 2018). Perhitungan kerapatan konidia dilakukan dengan mengambil 1 ml isolat *Fusarium* sp. dari PDB kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquadest steril 9 ml, kemudian dihomogenkan. Suspensi tersebut kemudian diambil dengan mikropipet dan diteteskan ke kaca preparat haemocytometer. Kerapatan konidia diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 40 kali. Perhitungan kerapatan konidia ditentukan dengan rumus (Harleni dan Juleha, 2022) berikut:

$$K = \frac{t}{n \times 0,25} \times 10^6$$

Keterangan:

- K = Kerapatan spora (spora/ml)
- t = Jumlah konidia pada per kotak perhitungan
- n = Jumlah bilik kecil yang diamati
- $0,25 \times 10^6$ = Volume satu bilik kecil ($1/4 \cdot 10^6$)

Kemudian dapat diketahui hasil perhitungan kerapatan konidia, suspensi tersebut dapat diencerkan kembali ataupun ditambah isolat *Fusarium* untuk mendapatkan kerapatan spora yang sesuai. Inokulasi fungi dilakukan dengan menyiramkan suspensi fungi sebanyak 10 ml pada masing-masing polybag yang

telah berisi media tanam kemudian diinkubasi selama 3 hari. Perlu dilakukan penyiraman pada media tanam selama masa inkubasi untuk tetap menjaga kelembapan (Sutarini, 2015). Setelah 3 hari maka dapat dilakukan penanaman bibit cabai yang telah disemai selama 3-4 minggu.

Perlakuan pertama asap cair dilakukan tepat sebelum penanamn dengan cara menyiramkan asap cair ke dalam media tanam sebanyak 15 ml per polybag. Bibit cabai kemudian dimasukkan ke dalam lubang tanam. Perlakuan kedua, ketiga dan keempat dilakukan berurutan dengan jarak waktu pemberian antar perlakuan selama 1 minggu dengan cara yang sama seperti perlakuan pertama. Pengamatan dilakukan selama 28 hari dengan pemeliharaan dilakukan setiap hari dengan cara penyiraman sebanyak 2 kali sehari dengan tidak terlalu basah agar tidak memacu pertumbuhan penyakit lain yang berpotensi menyerang tanaman. Kemudian penyiangan dilakukan apabila tumbuh gulma pada unit percobaan (Chintya *et al.*, 2020).

3.5 Parameter pengamatan

3.5.1 Parameter penunjang

1) Karakteristik kualitas asap cair tempurung kelapa.

Kualitas asap cair diuji dengan mengacu pada Standar Mutu Jepang. Karakteristik yang diuji meliputi warna, pH, bahan terapung, bobot berat jenis, kadar fenol, dan kadar asam. Standar mutu asap cair yang sesuai dengan spesifikasi Standar Mutu Jepang yaitu sebagai berikut.

Tabel 5. Karakteristik asap cair berdasarkan Standar Mutu Jepang

Karakteristik	Satuan	Standar Jepang*
Warna	-	Kuning-kecokelatan
pH	-	1,5 – 3,7
Kadar Asam	%	1 – 18
Bobot jenis	g/ml	>1,0050
Fenol	-	Ada
Transparansi	-	Tidak keruh

*Sumber: Yatagai (2002)

Pengujian warna dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan aplikasi android Colorimeter Lab Tools. kamera yang digunakan menggunakan *smartphone* Redmi note 10. Gambar selanjutnya akan diproses pada aplikasi untuk menentukan warna dan panjang gelombangnya.

Pengujian pH dilakukan menggunakan alat indikator pH universal. Ujung indikator yang terdapat beberapa lapis warna dicelupkan pada asap cair hingga warna pada indikator berubah. Kemudian warna pada indikator dibandingkan dengan baris warna yang terdapat pada kemasan alat untuk mendapatkan data angka pH.

Bobot jenis asap cair diuji menggunakan piknometer. Piknometer ditimbang terlebih dahulu menggunakan neraca analitik dengan ketelitian 10^{-4} gr. Kemudian ditambahkan akuades hingga penuh kedalam piknometer lalu ditimbang. Cara yang sama dilakukan untuk menghitung bobot jenis asap cair. Perhitungannya menggunakan rumus:

Bobot jenis (g/ml):

$$\rho = \frac{(\text{piknometer} + \text{asap cair (g)}) - (\text{piknometer kosong (g)})}{\text{volume piknometer (ml)}}$$

Kadar asam diuji dengan metode titrimetri. Kedalam buret yang telah dibersihkan tambahkan larutan NaOH 0,1 N sampai angka menyentuh angka 1 pada buret. Larutan sampel 1 ml dilarutkan dengan aquadm sampai volume 10 ml lalu ditambahkan larutan indikator *Phenolphthalein* (PP) sebanyak tiga tetes. Selanjutnya dilakukan titrasi sampai larutan sampel berubah menjadi warna merah muda kemudian dicatat volume NaOH yang berkurang. Perhitungan kadar asam dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{asam} = \frac{\text{volume NaOH (ml)} \times \text{konsentrasi NaOH (N)} \times \text{mr CH}_3\text{COOH}}{\text{Bobot sampel (g)} \times 1000}$$

Kadar fenol diuji secara kualitatif dengan menambahkan 5 tetes pereaksi FeCl_3 1% kedalam 8 ml asap cair tabung reaksi. Tabung dikocok beberapa saat hingga homogen, apabila asap cair mengandung fenol maka larutan akan berubah menjadi warna ungu atau cokelat.

2) Suhu dan kelembaban

Pengamatan suhu dan kelembaban dalam naungan dilakukan pada pengujian *in vivo*. Pengamatan dilakukan 3 kali dalam sehari pada pagi, siang dan petang serta dilakukan setiap hari hingga percobaan *in vivo* selesai. Suhu dan kelembaban diamati menggunakan alat hygrometer.

3.5.2 Parameter utama

1. Pengamatan penghambatan pertumbuhan koloni pada uji *in vitro*

Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan koloni fungi pada hari ke 3, 5, dan 7 setelah inokulasi. Perhitungan penghambatan pertumbuhan koloni dilakukan dengan mengukur diameter koloni pada setiap unit percobaan kemudian dihitung presentase penghambatannya. Pengukuran diameter koloni dilakukan menggunakan alat jangka sorong digital. Adapun rumus untuk menghitung persentase penghambatan pertumbuhan koloni menurut (Saravanakumari *et al.*, 2019) adalah sebagai berikut :

$$I = \frac{(C-T)}{C} \times 100\%$$

Keterangan :

I = Persen penghambatan (%)

C = Diameter koloni pada kontrol (cm)

T = Diameter koloni yang diberi perlakuan (cm)

Pengukuran diameter koloni dilakukan pada 2 garis radial yang saling berpotongan yaitu garis x dan y dengan menggunakan rumus (Pormes *et al.*, 2016) sebagai berikut :

$$\text{Diameter Koloni} = \frac{D_x + D_y}{2}$$

Keterangan :

D_x = Diameter sumbu x (cm)

D_y = Diameter sumbu y (cm)

2. Pengamatan uji *in vivo*

1. Masa Inkubasi

Masa inkubasi dilakukan dengan menghitung hari sejak mulai tanam hingga tanaman tersebut menunjukkan gejala pertama kali dalam waktu pengamatan selama

28 Hari. Gejala yang diamati merupakan gejala awal terjadinya penyakit layu fusarium yaitu berupa terjadinya penguningan pada daun yang paling bawah (Fakhdian *et al.*, 2018).

2. Insidensi penyakit

Pengamatan terhadap insidensi penyakit layu *Fusarium* dilakukan dengan cara menghitung jumlah tanaman yang layu pada akhir percobaan (28 HST). Perhitungan persentase penyakit layu fusarium dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Susanna *et al.*, 2023):

$$I = \frac{A}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

I = Insidensi penyakit (%)

A = Jumlah tanaman yang layu tiap perlakuan

N = Jumlah tanaman yang diamati pada tiap perlakuan

3. Intensitas penyakit

Pengamatan terhadap intensitas penyakit dilakukan setiap satu minggu sekali sebanyak empat kali pengamatan. Intensitas serangan penyakit yang disebabkan oleh *Fusarium* sp. pada tanaman dihitung dengan metode skoring karena gejala serangan pada tanaman hasil inokulasi menunjukkan kelayuan yang bertahap (Dwiastuti *et al.*, 2015). Nilai skoring yang digunakan pada penelitian yaitu sebagai berikut:

Tabel 6. Skoring intensitas penyakit

Nilai skor	Keterangan
0	Tanaman sehat
1	1 – 25% daun menguning dari tajuk tanaman
2	26 – 50% daun menguning dan layu dari tajuk tanaman
3	51 – 75% daun menguning dan layu dari tajuk tanaman
4	76 – 100% daun menguning dan layu tajuk tanaman (tanaman mati)

Sumber : Hatem dan Nawar (2024)

Nilai skoring yang diperoleh digunakan pada perhitungan persentase serangan patogen pada tanaman cabai merah dengan rumus Dwiastuti *et al.* (2015) sebagai berikut:

$$IP = \frac{\sum (n \times v)}{Z \times N}$$

Keterangan:

I = Intensitas serangan

n = Jumlah tanaman setiap kategori serangan

v = Nilai skala tiap kategori serangan

Z = Nilai skor tertinggi

N = Jumlah tanaman yang diamati dalam satu polibag

4. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman dapat diukur dengan menggunakan penggaris, pengukuran tinggi tanaman dilakukan dengan mengukur dari pangkal batang hingga ke titik tumbuh tanaman setiap satu minggu sekali sebanyak empat kali pengamatan.

5. Bobot basah akar

Penimbangan bobot basah akar dilakukan pada 28 HST yang dilakukan dengan memisahkan akar tanaman dengan bagian lainnya, kemudian akar ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.