

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan bulan Oktober 2025 berlokasi di *Green House* Tamansari Kota Tasikmalaya dan Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Kampus Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya serta di Laboratorium Dasar Universitas Garut.

#### **3.2. Alat dan bahan**

Alat-alat yang digunakan diantaranya ialah cangkul, ember, alat tumbuk, kain saring, timbangan digital, sprayer, polybag 25 cm x 30 cm, baki perkecambahan, tabung ukur, penggaris, pisau, thermo hygrometer, *rotary evaporator*, gelas ukur, konduktometer, timbangan analitik, oven, dan mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan ialah benih kedelai varietas Detap 1 diperoleh dari Balitkabi Malang (terlampir), tanah sebagai media tumbuh tanaman, daun bandotan, air, etanol 96%, PEG 6000, aquades, dan pupuk NPK (15-15-15) sebagai pupuk dasar.

#### **3.3. Metode penelitian**

Penelitian menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola non faktorial yang terdiri dari 7 perlakuan dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kombinasi yang akan digunakan ialah sebagai berikut:

A = PEG 6000 0% + Ekstrak daun bandotan 1%

B = PEG 6000 20% + Ekstrak daun bandotan 0%

C = PEG 6000 20% + Ekstrak daun bandotan 1%

D = PEG 6000 25% + Ekstrak daun bandotan 1,5%

E = PEG 6000 20% + Ekstrak daun bandotan 1,5%

F = PEG 6000 25% + Ekstrak daun bandotan 2%

G = PEG 6000 20% + Ekstrak daun bandotan 2%

Dengan demikian 7 perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga terdapat 28 plot percobaan dengan tata letak disajikan pada Lampiran 1 dan 2.

### 3.4. Analisis data

Model linier untuk rancangan acak kelompok (RAK) menurut Gomez dan Gomez (2010) ialah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + r_j + \sum ij$$

$Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan dari perlakuan ke-i ulangan ke-j

$\mu$  = Nilai rata-rata umum

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$r_j$  = Pengaruh ulangan ke-j

$\sum ij$  = Pengaruh faktor random terhadap perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Tabel 1. Analisis sidik ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fhit	Ftab (0,05)
Ulangan (U)	3	$\frac{\sum x_j^2}{t} - FK$	$\frac{JKU}{DBU}$	$\frac{KTU}{KTgalat}$	3,16
Perlakuan (P)	6	$\frac{\sum x_i^2}{R} - FK$	$\frac{JKP}{DBP}$	$\frac{KTP}{KTgalat}$	2,66
Galat	18	$JKT - JKU - JKP$	$\frac{JKgalat}{DBgalat}$		
Total	27	$\sum X_{ij}^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez, 2010.

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F hitung, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisa	Kesimpulan Analisis	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Berbeda tidak nyata	Tidak terdapat perbedaan antar perlakuan
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda nyata	Terdapat perbedaan antar perlakuan

Jika terdapat perbedaan nyata antara perlakuan menurut uji F (sidik ragam), maka dilakukan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%, dengan rumus sebagai berikut:

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

Nilai  $S_x$  dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{r}}$$

Dengan keterangan sebagai berikut:

LSR = *Least significant range*

SSR = *Significant studentized range*

$\alpha$  = Taraf nyata

dbg = Derajat bebas galat

p = *Range* (perlakuan)

$S_x$  = Simpangan baku rata-rata (*standard error*)

KTG = Kuadrat tengah galat

r = Jumlah ulangan pada nilai tengah perlakuan yang dibandingkan.

### 3.5. Pelaksanaan penelitian

#### 3.5.1. Pembuatan ekstrak daun bandotan

Ekstrak daun bandotan merupakan larutan yang digunakan sebagai perlakuan antioksidan pada penelitian, adapun cara pembuatan dari ekstrak bandotan ialah sebagai berikut:

- a. Daun bandotan segar dicuci hingga bersih.
- b. Kemudian daun bandotan dijemur dibawah sinar matahari selama 7 hari.
- c. Setelah itu bandotan dihaluskan menggunakan *chopper*.
- d. Pembuatan ekstrak bandotan menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Serbuk bandotan ditimbang sebanyak 300 g, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 3 L kemudian dibiarkan dengan beberapa kali pengadukan selama 3 hari.
- e. Selanjutnya larutan disaring dengan menggunakan kain saring untuk memisahkan ampas dan filtratnya.

- f. Filtratnya kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Hidayanti dan Harjono, 2017).

### **3.5.2. Invigorasi benih**

Sebelum dilakukan penanaman, benih diberi perlakuan invigorasi terlebih dahulu dengan merendam benih kedelai tersebut dalam air dan larutan antioksidan ekstrak daun bandotan yang telah ditentukan. Larutan yang digunakan untuk invigorasi benih ialah ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi 0%, 1%, 1,5%, dan 2%. Invigorasi benih dilakukan selama 12 jam, setelah itu benih diangkat dan dikering anginkan.

### **3.5.3. Penanaman**

Penanaman tanaman kedelai dilakukan setelah benih diberikan invigorasi, benih yang telah direndam menggunakan antioksidan dari ekstrak daun bandotan ditanam pada polybag berukuran 25 cm x 30 cm dengan menggunakan media tanah sebanyak 4 kg/polybag dari umur 0 sampai dengan 35 HST. Pemupukan dilakukan pada saat tanaman berumur 10 HST dengan menggunakan pupuk NPK (15-15-15) sebanyak 0,6 g/ polybag dengan cara menaburkan pupuk pada tepi polybag secara melingkar.

Setiap plot terdiri dari 6 polybag dengan 1 benih tanaman per polybag dan diulang sebanyak 4 kali, sehingga total polybag yang dibutuhkan ialah 168 polybag.

### **3.5.4. Pemberian perlakuan**

Pemberian perlakuan antioksidan dilakukan dengan melarutkan antioksidan sesuai dengan konsentrasi. Antioksidan ekstrak daun bandotan diaplikasikan sebanyak 5 kali yaitu pada invigorasi benih dengan cara direndam pada larutan antioksidan sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian setelah ditanam ekstrak daun bandotan diaplikasikan dengan cara disiramkan pada umur 7 HST sebanyak 30 ml dan diaplikasikan pada 14 HST, 21 HST dan 28 HST dengan cara disemprotkan sebanyak 30 ml.

Larutan PEG dibuat dengan melarutkan kristal PEG 6000 sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, pelarutan dilakukan dengan penambahan air sampai

mencapai volume 1 L. Larutan PEG tersebut diberikan pada tanaman sejak tanaman memiliki daun *trifoliolate* yang telah berkembang sempurna yaitu saat umur 7 HST setiap 2 hari sekali selama fase vegetatif hingga tanaman berumur 35 HST, volume pemberian larutan PEG ialah sebanyak 20 ml per polybag dengan cara disiramkan ke media tanam sekitar area akar tanaman kedelai.

### **3.5.5. Pemeliharaan tanaman**

#### **a. Penyiangan Gulma**

Penyiangan dilakukan dengan cara mekanis dengan tujuan untuk menekan pertumbuhan gulma di area penanaman tanaman kedelai dan di dalam polybag. Penyiangan bertujuan untuk menghindari persaingan unsur hara dan sinar matahari antara tanaman utama yaitu tanaman kedelai dengan gulma di area sekitar penanaman.

#### **b. Pengendalian Organisme pengganggu tanaman**

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan secara mekanis yaitu dengan cara mengambil secara langsung setiap ada hama yang menyerang, karena serangan masih bisa diatasi maka tidak dilakukan pengendalian secara kimiawi.

## **3.6. Parameter pengamatan**

### **3.6.1. Pengamatan penunjang**

Pengamatan penunjang merupakan pengamatan yang dilakukan pada data yang diperoleh dari hasil penelitian tidak dianalisis secara statistik. Pengamatan penunjang bertujuan untuk mengetahui faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama penelitian berlangsung. Pengamatan penunjang terdiri dari:

#### **a. Analisis tanah**

Analisis tanah dilakukan di Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, dengan tujuan untuk menguji C-Organik, N-Total, hara K, C/N, dan pH tanah yang dilakukan dengan cara uji kualitatif.

b. Analisis ekstrak daun bandotan

Analisis ekstrak daun bandotan dilakukan secara uji kualitatif untuk mengetahui kandungan antioksidan yang terdapat pada ekstrak daun bandotan.

c. Suhu dan kelembapan udara

Suhu dan kelembapan udara diukur menggunakan alat thermo hygrometer.

d. Organisme pengganggu tanaman

Organisme pengganggu tanaman meliputi gulma, hama, dan penyakit pada tanaman yang menyerang tanaman kedelai selama penelitian berlangsung.

### 3.6.2. Pengamatan utama

a. Tinggi tanaman

Pengukuran tinggi tanaman kedelai dilakukan pada saat tanaman berumur 14, 28, dan 35 HST. Pengukuran dilakukan menggunakan penggaris atau mistar mulai dari pangkal batang sampai pada tajuk tanaman kedelai.

b. Jumlah daun

Perhitungan jumlah daun pada tanaman kedelai dilakukan pada saat tanaman telah tumbuh daun *trifoliolate*. Perhitungan jumlah daun dilakukan pada saat tanaman berumur 14, 28, dan 35 HST, satuan perhitungan dinyatakan dalam satuan helai.

c. Volume akar

Volume akar diukur pada saat tanaman berumur 35 HST, pengukuran volume akar dilakukan dengan cara memotong bagian akar, kemudian akar dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran yang menempel dan dicuci menggunakan air kemudian dikering anginkan, setelah itu isi air ke dalam gelas ukur sebanyak 500 ml (volume awal), lalu masukan akar sehingga didapatkan penambahan volume (volume akhir) (Anugrah dkk., 2019), selisih penambahan volume air dan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Volume akar} = \text{Volume akhir} - \text{Volume awal}$$

d. Luas daun tanaman

Pengukuran luas daun tanaman dilakukan pada saat tanaman berumur 35 HST. Luas daun tanaman diukur dari satu sampel dengan menggunakan aplikasi *ImageJ*.

e. Bobot kering tanaman

Tanaman kedelai yang akan ditimbang bobot keringnya dipilih secara acak dari satu tanaman setiap perlakuan pada umur 35 HST. Semua bagian tanaman di oven dengan suhu 50°C selama 48 jam dinyatakan dalam satuan g/tanaman, lalu tanaman ditimbang menggunakan timbangan analitik.

f. Jumlah stomata

Pengamatan jumlah stomata dilakukan dengan cara daun yang sudah diambil dibersihkan permukaannya menggunakan tissue untuk membersihkan debu atau kotoran yang menempel, lalu daun diolesi oleh kutek transparan di biarkan selama 10 menit sampai kering, olesan kutek yang sudah mengering ditemplei isolasi dan diratakan, kemudian isolasi dilepas pelan-pelan lalu ditempelkan pada gelas benda, lalu diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran yang (40x).

g. Kadar air relatif daun

Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan pada umur 35 HST dengan mengambil 4 helai daun dari masing-masing perlakuan dalam satu tanaman kemudian ditimbang (bobot segar). Sampel daun selanjutnya direndam dalam aquades selama 24 jam, kemudian permukaan daun dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam hingga bobotnya konstan lalu ditimbang (bobot kering) (Fitri dan Salam, 2017). Kadar air relatif daun dihitung dengan rumus sebagai berikut: Pengukuran kadar air relatif daun dilakukan secara destruktif pada tanaman sampel yang ditentukan secara acak.

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

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

h. Daya hantar listrik daun

Pengukuran daya hantar listrik daun dilakukan dengan mengambil 3 helai sampel daun di bagian tengah yang mewakili tanaman secara keseluruhan pada 35 HST. Sampel daun kemudian direndam ke dalam aquades selama 24 jam pada suhu ruang, kemudian sampel air diukur dengan alat konduktometer atau DHL (EC1) (Hnilickova dkk., 2019).