

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2023 sampai Juni 2023 bertempat di Rumah Kaca/*Greenhouse* Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya, dengan kriteria tipe curah hujan C dan ketinggian tempat 351 mdpl.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat-alat yang digunakan diantaranya kompor gas, autoklaf, tali rafia, solasiban, mikroskop, cangkul/sekop kecil, oven, tisu, ember, *polybag*, *hygrometer*, *Chlorophyll Meter*, *luxmeter*, gelas ukur, tabung reaksi, *cutter*, timbangan digital, neraca analitik, *Air Purifier*, klorofil meter, penggaris, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji/benih ginseng jawa, air, tanah steril, aquades, pupuk kompos, pupuk anorganik Urea, SP36, KCL dan POC.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan percobaan RAK (Rancangan Acak Kelompok) faktorial. Faktor pertama yaitu bakteri endofit yang terdiri dari 4 taraf dan faktor kedua cekaman kekeringan yang terdiri dari 4 taraf, sehingga terdapat 16 unit percobaan. Setiap unit percobaan diulang sebanyak 3 kali.

Faktor pertama adalah jenis bakteri endofit (b) yaitu sebagai berikut.

b0 = Kontrol tanpa endofit

b1 = Endofit GJ-3

b2 = Endofit GJ-12

b3 = Endofit GJ-3 dan GJ-12

Faktor kedua adalah perlakuan kapasitas lapang (k) yang mewakili kondisi cekaman kekeringan yaitu sebagai berikut :

k0 = 100% kapasitas lapang (Kontrol)

k1 = 75% kapasitas lapang

k2 = 50% kapasitas lapang

k3 = 25% kapasitas lapang

Kombinasi perlakuan endofit dan cekaman kekeringan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Endofit dan Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan (k)	Bakteri endofit (b)			
	b0	b1	b2	b3
k0	k0b0	k0b1	k0b2	k0b3
k1	k1b0	k1b1	k1b2	k1b3
k2	k2b0	k2b1	k2b2	k2b3
k3	k3b0	k3b1	k3b2	k3b3

Model linier dari rancangan acak kelompok faktorial adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

- Y_{ijk} = Hasil pengamatan dari plot percobaan yang mendapat perlakuan ke-i taraf ke-j dan faktor taraf ke-k serta ditempatkan di ulangan ke-i
- μ = Pengaruh nilai tengah / rata-rata umum
- τ_i = Pengaruh kelompok ke-j
- α_j = Pengaruh faktor I taraf ke-j
- β_k = Pengaruh faktor II taraf ke-k
- $(\alpha\beta)_{jk}$ = Pengaruh perlakuan antara faktor I taraf ke-j dan faktor II taraf ke-k
- ε_{ijk} = Pengaruh galat akibat faktor I taraf ke-j dan faktor II taraf ke-k yang ditempatkan pada kelompok ke-i

Dari model linier di atas, maka dapat disusun daftar sidik ragam sebagai berikut:

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam

Sumber keragaman	Db	JK	KT	$F_{hit.}$	$F_{0,05}$
Ulangan	2	$\frac{\sum x_{IJ}^2}{ab} - FK$	$\frac{JK_U}{db_U}$	$\frac{KT_U}{KT_G}$	3,32
Perlakuan	15	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	$\frac{JK_P}{db_p}$	$\frac{KT_P}{KT_G}$	2,01
Cekaman kekeringan (K)	3	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	$\frac{JK_A}{db_I}$		2,92
Endofit (B)	3	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	$\frac{JK_B}{db_V}$		2,92
Interaksi $K \times B$	9	$JKP - JKI - JKV$	$\frac{JK_{AB}}{db_{IV}}$		2,21
Galat	30	$JK_{Total} - JK_U - JK_{Perlakuan}$	$\frac{JK_G}{db_G}$		
Total	47	$\sum x_{IJ}^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez (2015)

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

Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil analisa	Kesimpulan analisa	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Berbeda tidak nyata	Tidak ada pengaruh
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda nyata	Ada pengaruh

Apabila terjadi perbedaan antar perlakuan atau berpengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

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

Apabila terdapat interaksi, untuk membedakan pengaruh faktor bakteri endofit (B) pada setiap taraf cekaman (K) dan sebaliknya untuk membedakan taraf cekaman (K) pada setiap taraf bakteri endofit (B), S_x diperoleh dengan rumus:

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

Apabila tidak terdapat interaksi:

1. Untuk membedakan pengaruh faktor cekaman kekeringan (K) pada seluruh taraf faktor bakteri endofit (B), S_x dihitung dengan rumus:

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

2. Untuk membedakan pengaruh faktor bakteri endofit (B) pada seluruh taraf faktor cekaman kekeringan (K), S_x dihitung dengan rumus:

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

Keterangan :

LSR = Least Significant Range

SSR = Significant Studentized Range

α = Taraf nyata 5%

db_g = 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.

rb = Jumlah ulangan pada tiap perlakuan b .

rk = Jumlah ulangan pada tiap perlakuan k .

3.4 Pelaksanaan Percobaan

Pelaksanaan percobaan meliputi tahap-tahap kegiatan sebagai berikut:

1. Persiapan Benih

Benih ginseng jawa diperoleh dari tanaman ginseng jawa hasil penelitian sebelumnya yang berada di *Greenhouse* Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Kampus Mugarsari. Benih yang diambil adalah biji / benih dari buah yang telah matang dan mengering. Dan merupakan benih produk bumi herbal dago.

2. Perlakuan Benih dengan Isolat Bakteri Endofit

Biji/Benih ginseng jawa yang akan digunakan, disterilisasi menggunakan aquades sebanyak 3 kali selama 15 detik lalu tiriskan. Benih sebagai kontrol hanya disterilisasi tetapi tidak direndam menggunakan suspensi isolat bakteri endofit.

Isolat bakteri endofit berasal dari koleksi hasil penelitian sebelumnya yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas siliwangi. Isolat bakteri tersebut diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya yang telah melalui uji screening yaitu isolat dengan kode GJ-3 dan GJ-12 (Andriantika, E., 2023). Benih direndam menggunakan suspensi bakteri endofit selama 12 sampai 24 jam dalam suspensi endofit yang telah dipersiapkan, banyak benih yang digunakan sebanyak 160 benih dalam 10 ml suspensi untuk setiap perlakuan (Irawati, 2017). Sementara itu untuk konsentrasi perlakuan perendaman yang dilakukan dengan menggunakan bakteri endofit berkisar $10^8 - 10^{10}$ cfu/ml (Munif *et al.*, 2012).

3. Penyiapan Media Tanam dan Penanaman

Media tanam berupa tanah, kompos dan pasir yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi menggunakan autoklaf. Media tersebut dicampurkan dengan perbandingan 1:2:1. *Polybag* yang digunakan berukuran 12,5 x 25 cm dengan kapastitas tampung tanah 1,5 kg. Selanjutnya penanaman benih ginseng ke *polybag* dilakukan dengan cara melubangi tanah sekitar 2-3 cm lalu dimasukan 2 benih per-*polybag*. Dalam percobaan ini terdapat 48 plot percobaan dengan jumlah tanaman setiap plot yaitu 6 tanaman.

4. Pemupukan

Pemupukan dilakukan dengan menggunakan pupuk organik dan anorganik dengan dosis 1 kg pupuk kandang/polybag, 0,2 g Urea/polybag, 0,24 g SP36/polybag dan 0,24 g KCl/polybag. Tanaman diberi pupuk anorganik sebagai pupuk dasar sebanyak 0,1 g Urea, 0,12 g SP36 dan 0,12 g pupuk KCl diberikan pada saat tanam berumur 4 MST, sedangkan sisa pupuk selanjutnya diberikan sebagai pupuk susulan dengan ditambahkan pupuk organik cair (POC) sebagai pada umur tanaman 6 MST dengan dosis 20 ml/l disiramkan pada tanaman bersamaan dengan pemberian perlakuan .

5. Pemberian Perlakuan

Perlakuan cekaman dilakukan dengan cara mengukur kapasitas lapang terlebih dahulu. Pengukuran ini dilakukan untuk menentukan volume penyiraman yaitu dengan cara media dalam *polybag* yang belum dilubangi disiram dengan air sampai tanah dalam *polybag* tersebut tergenang, setelah itu lalu dilubangi dan air yang menetes keluar ditampung, dilakukan selama 48 jam atau selama 2 hari sampai tidak ada lagi air yang menetes. Kemudian untuk selanjutnya penentuan kapasitas lapang ini dapat ditentukan dengan cara menghitung (Volume awal penyiraman – Volume air tertampung) sehingga nantinya dihasilkan volume air tanah yang mewakili kondisi 100% kapasitas lapang.

Selanjutnya tanaman ginseng jawa pada *polybag* kemudian diberikan perlakuan cekaman setelah benih tumbuh dan muncul daun sejati atau setelah 2 MST dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 100%, 75%, 50% dan 25% dari kapasitas lapang. Penentuan volume penyiraman tersebut tinggal dihitung dari (Persentase perlakuan $\times$ Volume Kapasitas Lapang). Untuk menentukan pemberian air pada perlakuan cekaman, tanah dari *polybag* dalam keadaan kadar air tanah kering ditimbang untuk mengetahui berat awal, kemudian diberi perlakuan kemudian ditimbang lagi dan dicatat kenaikan berat sesudah diberi penambahan air (Farahani *et al.*, 2009). 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 atas media tanam.

6. Penyiangan

Penyiangan dilakukan secara manual, yaitu dengan cara mencabut gulma yang tumbuh pada plot penelitian (*polybag*) secara teratur setiap satu minggu sekali dengan hati-hati.

7. Pengendalian Hama dan Penyakit

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

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 suhu/temperatur, kelembapan udara, dan intensitas cahaya.

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 pada penelitian kali ini terdiri dari:

1. Pertumbuhan Tanaman

a. 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 usia tanaman 4 MST, 6 MST dan 8 MST. Tinggi tanaman, diukur 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:

$$IP = \frac{(T + \frac{(L_{tb} + L_{us})}{2})}{2}$$

Keterangan:

IP = Indeks pertumbuhan

T = Tinggi tanaman (cm)

L_{tb} = Lebar tanaman dari arah timur-barat (cm)

L_{us} = Lebar tanaman dari arah utara-selatan (cm) (Irmak *et al.*, 2004).

b. Jumlah daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan dengan cara menghitung jumlah helai daun pada tanaman ginseng yang dilakukan sebanyak 3 kali atau tepatnya dimulai dari umur tanaman 4 MST, 6 MST dan 8 MST.

c. 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.

d. Bobot segar (g)

Bobot segar tanaman diukur pada saat umur tanaman 8 MST terhitung dari mulai penyemaian. Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang keseluruhan bagian tanaman ginseng jawa ketika baru dicabut, sesudah dibersihkan dari kotoran yang menempel seperti tanah dan pasir

2. Faktor Fisiologis Tanaman

a. Kadar Air Relatif/*Relative Water Content* (%)

Kadar air relatif (%) diukur pada umur tanaman 4 MST, 6 MST dan 8 MST. 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 dioven dalam suhu 80°C selama 24 jam kemudian didinginkan dan ditimbang.

Pengambilan sampel daun untuk perhitungan *RWC* dilakukan dengan cara mengambil satu helai daun muda yang telah berkembang penuh dari setiap *polybag*.

b. Laju asimilasi bersih (g/cm²/minggu)

Laju asimilasi bersih adalah laju pertambahan berat kering per satuan luas daun per satuan waktu diukur pada umur 6 MST (t_1) dan 8 MST (t_2) (Anwarudin *et al*, 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