

BAB III

METODE PENELITIAN

3. 1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Poltekkes Bandung dan di Pagersari, Kelurahan Cibeunying, Kecamatan Cimeunyan, Kabupaten Bandung pada bulan April 2023 sampai dengan bulan Agustus 2023.

3. 2 Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah antara lain *polybag* 30 cm x 30 cm, cangkul, sekop kecil, *sprayer*, gembor, ember, oven, blender, kertas saring, timbangan analitik, *rotary evaporator*, penggaris, *TDS meter*, dan *thermo hygrometer*. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah antara lain benih kedelai varietas Agromulyo yang diperoleh dari Balai Pertanian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi) Malang, daun jambu biji, air bersih, akuades, NaCl, etanol 96%, rhizobium untuk kedelai (*rhizoka*), tanah, pupuk kandang, sekam bakar, dan pupuk NPK Mutiara 16-16-16.

3. 3 Metode penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial sebagai rancangan percobaan untuk pengumpulan dan analisis data. Penelitian ini terdiri dari dua faktor dan diulang sebanyak tiga kali. Faktor pertama adalah cekaman salinitas (S) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu :

$s_0 = \text{NaCl } 0\%$ (kontrol)

$s_1 = \text{NaCl } 0,5\%$

$s_2 = \text{NaCl } 1\%$

Faktor kedua adalah antioksidan (A) sebagai bahan invigorasi yang terdiri dari tiga taraf, yaitu :

$a_0 = \text{Ekstrak daun jambu biji } 0\%$ (kontrol)

$a_1 = \text{Ekstrak daun jambu biji } 1\%$

$a_2 = \text{Ekstrak daun jambu biji } 2\%$

Tabel 1. Kombinasi perlakuan cekaman salinitas dan ekstrak daun jambu biji

Cekaman salinitas (S)	Ekstrak daun jambu biji (A)		
	a ₀	a ₁	a ₂
S ₀	S ₀ a ₀	S ₀ a ₁	S ₀ a ₂
S ₁	S ₁ a ₀	S ₁ a ₁	S ₁ a ₂
S ₂	S ₂ a ₀	S ₂ a ₁	S ₂ a ₂

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga keseluruhan terdapat 27 plot percobaan.

Menurut Gomes dan Gomez (1995), model linier untuk rancangan acak kelompok faktorial adalah sebagai berikut : $Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \Sigma_{ijk}$

Keterangan :

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada perlakuan ke-i, perlakuan faktor cekaman salinitas taraf ke-j dan antioksidan taraf ke-k

μ = Rata-rata pengamatan

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

α_j = Pengaruh cekaman salinitas pada taraf ke-j

β_k = Pengaruh antioksidan pada taraf ke-k

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Pengaruh interaksi antara cekaman salinitas pada taraf ke-j dan antioksidan pada taraf ke-k

Σ_{ijk} = Pengaruh acak dari galat yang berhubungan dengan perlakuan cekaman salinitas pada taraf ke-j dan faktor antioksidan pada taraf ke-k dalam ulangan ke-i

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah menggunakan analisis statistik. Data dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F dengan tabel sidik ragam adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5%
Ulangan (r)	2	$\sum \frac{x_{ij}^2}{ab} - FK$	$\frac{JK_u}{DB_u}$	$\frac{KT_u}{KT_g}$	3,63
Perlakuan (t)	8	$\sum \frac{x^2}{r} - FK$	$\frac{JK_p}{DB_p}$	$\frac{KT_p}{KT_g}$	2,59
Salinitas (s)	2	$\sum \frac{A^2}{rb} - FK$	$\frac{JK_A}{DB_A}$	$\frac{KT_S}{KT_g}$	3,63
Antioksidan (a)	2	$\sum \frac{B^2}{ra} - FK$	$\frac{JK_B}{DB_B}$	$\frac{KT_A}{KT_g}$	3,63
Interaksi (s x a)	4	$JK_P - JK_S - JK_A$	$\frac{JK_{SA}}{DB_{SA}}$	$\frac{KT_{SA}}{KT_g}$	3,01
Galat	16	$JK_T - JK_U - JK_P$	$\frac{JK_g}{DB_g}$		
Total	27	$\sum X^2 - FK$			

Tabel 3. Pengambilan Keputusan

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

Berdasarkan tabel pengambilan keputusan Gomes dan Gomez, (1995), apabila data hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan pengaruh antara perlakuan atau berbeda nyata, maka analisis data dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut :

$$S_x = \sqrt{\frac{KT_{galat}}{r}}$$

$$SSR = (\alpha \cdot dbg \cdot p)$$

$$LSR = SSR \cdot S_x$$

Keterangan :

S_x = Galat baku rata-rata (*Standard Error*)

KTg = Kuadrat tengah galat

r = Jumlah ulangan pada tiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan

SSR = Significant Studentized Range

α = Taraf nyata

dbg = Derajat bebas galat

p = Range (perlakuan)

LSR = Least Significant Range

Apabila tidak terjadi interaksi, S_x diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

- a. Untuk membedakan pengaruh faktor S (cekaman salinitas) pada seluruh taraf faktor A (Antioksidan) dengan rumus :

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ galat}}{ra}}$$

- b. Untuk membedakan pengaruh faktor I (antioksidan) pada seluruh taraf faktor S (cekaman salinitas) dengan rumus :

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ galat}}{rs}}$$

3. 4 Pelaksanaan penelitian

3.5.1 Pembuatan ekstrak daun jambu biji

Kriteria daun jambu biji yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah daun segar yang tidak terserang hama atau penyakit tanaman, daun muda sampai daun yang tua. Metode ekstraksi maserasi yang merujuk pada Susanty, Yudistirani, dan Islam (2019) adalah sebagai berikut :

- a. Daun jambu biji dicuci bersih menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dibawah sinar matahari selama 2 hari.

- b. Daun jambu biji yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk daun jambu biji.
- c. Serbuk daun jambu biji sebanyak 1 kg dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 5 L.
- d. Setelah itu, larutan dimaserasi 3 x 24 jam.
- e. Ekstrak daun jambu biji yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring.
- f. Proses pemisahan pelarut dari larutan ekstrak daun jambu biji dilakukan menggunakan *rotary evaporator*.

3.5.2 Inokulasi dan aplikasi perlakuan ekstrak daun jambu biji

Benih tanaman kedelai yang digunakan pada penelitian ini adalah varietas Agromulyo. Benih dibasahi terlebih dahulu dengan air lalu *Rhizobium* sp. (Rhizoka) dicampurkan dengan benih dan didiamkan selama 30 menit. Kemudian, benih direndam pada larutan ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi sesuai perlakuan sebagai perlakuan invigorasi. Benih direndam selama 24 jam kemudian ditiriskan. Kebutuhan ekstrak dihitung dengan cara sebagai berikut :

- $1\% = \frac{1}{100} \times 200 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$

Maka, dibutuhkan 2 ml ekstrak daun jambu biji untuk dilarutkan dalam air sebanyak 200 ml.

- $2\% = \frac{2}{100} \times 200 \text{ ml} = 4 \text{ ml}$

Maka, dibutuhkan 4 ml ekstrak daun jambu biji untuk dilarutkan dalam air sebanyak 200 ml.

Penambahan ekstrak daun jambu biji sebagai antioksidan dilakukan pada saat tanaman berumur 7 HST, 21 HST, 35 HST, 49 HST, dan 63 HST dengan dosis 30 ml per *polybag*. Pengaplikasian penambahan ekstrak daun jambu biji dilakukan dengan cara disemprotkan menggunakan *sprayer*.

3.5.3 Perlakuan larutan NaCl

Perlakuan salinitas diberikan sebelum dilakukan proses penanaman dilakukan. Larutan NaCl dicampurkan secara merata pada tanah sebelum dimasukkan ke dalam *polybag*. Pembuatan larutan NaCl dilakukan dengan cara sebagai berikut :

a. Larutan NaCl 0,5% = $\frac{0,5}{100} \times 1000 = 5 \text{ g NaCl}$

Maka, pembuatan larutan NaCl 0,5% 1000 ml dilakukan dengan cara melarutkan 5 g NaCl hingga volumenya mencapai 1000 ml

b. Larutan NaCl 1% = $\frac{1}{100} \times 1000 = 10 \text{ g NaCl}$

Maka, pembuatan larutan NaCl 1% 1000 ml dilakukan dengan cara melarutkan 10 g NaCl hingga volumenya mencapai 1000 ml

Selanjutnya, penambahan larutan NaCl dilakukan satu minggu sekali dengan dosis 30 ml per *polybag* sampai tanaman berumur 63 HST dan diaplikasikan dengan cara disemprotkan pada tanah menggunakan *sprayer*.

3.5.4 Penanaman kedelai

Ada enam *polybag* pada setiap plot percobaan, maka terdapat 162 *polybag* yang dibutuhkan. Setiap *polybag*nya ditanam tiga benih terlebih dahulu. Pada 7 HST disisakan satu tanaman yang paling bagus saja. Media tanam yang digunakan pada proses penanaman kedelai adalah tanah yang dicampurkan dengan pupuk kandang dan sekam bakar dengan perbandingan 2:1:1. Benih kedelai yang sudah diinokulasi dan diberi perlakuan invigorasi ekstrak daun jambu biji ditanam dalam *polybag* lalu disiram.

3.5.5 Pemeliharaan

a. Pemupukan

Pemupukan dasar dicampurkan dengan media tanam pada saat penanaman. Pemupukan susulan diberikan pada 30 HST dan 60 HST menggunakan pupuk NPK Mutiara 16-16-16 dengan dosis 0,6 g/*polybag*. Perhitungan kebutuhan pupuk ada pada Lampiran 2.

b. Penyiraman

Penyiraman dengan menggunakan air dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari dengan menggunakan gembor.

c. Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian HPT dilakukan secara manual dengan mengamati pertumbuhan tanaman dan melakukan pencegahan sesegera mungkin ketika muncul gejala-gejala timbulnya hama dan penyakit yang menyerang tanaman

d. Penyiangan

Penyiangan dilakukan secara rutin dengan mencabut gulma-gulma yang tumbuh disekitar tanaman kedelai secara manual dengan menggunakan tangan.

3.5.6 Panen

Panen tanaman kedelai dilakukan pada 90 HST. Ciri-ciri tanaman kedelai sudah siap panen adalah ketika daunnya sudah menguning dan mudah rontok serta polong bijinya sudah mengering dan berwarna kecoklatan.

3.5 Parameter pengamatan

3.6.1 Parameter penunjang

Pengamatan penunjang adalah pengamatan yang dilakukan terhadap variabel yang datanya tidak diuji secara statistik yang bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang kemungkinan berpengaruh selama proses penelitian berlangsung. Pengamatan penunjang terdiri dari suhu, kelembapan, analisis tanah, daya hantar listrik tanah, tes DPPH, hama dan penyakit tanaman.

3.6.2 Parameter utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang diuji secara statistik dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang dilakukan. Parameter pengamatan pada penelitian ini adalah antara lain :

a. Tinggi tanaman

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan per tanaman pada 25 HST, 50 HST, dan 75 HST. Tinggi tanaman diukur menggunakan penggaris dari bagian pangkal batang sampai ke ujung daun tertinggi.

b. Jumlah daun

Perhitungan jumlah daun dilakukan per tanaman pada 25 HST, 50 HST, dan 75 HST. Perhitungan dilakukan secara manual dengan menghitung daun yang telah terbuka sempurna.

c. Luas Daun

Luas daun dihitung ketika umur tanaman sudah mencapai 25 HST dengan menggunakan aplikasi *ImageJ*.

d. Kadar air relatif daun

Kadar air relatif daun diukur pada saat tanaman berumur 50 HST. Pengukuran dilakukan dengan mengambil 10 helai daun tanaman sample lalu ditimbang (bobot segar). Selanjutnya, sample daun direndam selama 24 jam lalu ditimbang (bobot jenuh). Sample daun kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 50° selama 24 jam lalu ditimbang (bobot kering) (Fitri dan Salam, 2017). Kadar relatif daun dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

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

e. Daya hantar Listrik daun

Nilai daya hantar listrik pada daun diukur menggunakan TDS meter. Pengukuran dilakukan saat tanaman berumur 50 HST dengan mengambil 4 helai daun tanaman sample. Daun tanaman sample direndam terlebih dahulu dengan akuades selama 24 jam, lalu dipanaskan dengan oven dengan suhu 100°C selama 15 menit. Sample daun didinginkan sampai mencapai suhu ruang lalu diukur nilai DHL nya.

f. Jumlah bintil akar

Jumlah bintil akar dihitung secara manual pada saat tanaman berumur 75 HST. Seluruh benih tanaman kedelai yang akan digunakan sudah diberikan perlakuan inokulasi *Rhizobium* saat sebelum benih diberikan perlakuan invigorasi.

g. Jumlah polong per tanaman

Jumlah polong dihitung per tanaman secara manual pada saat panen dengan cara menghitung polong yang terdapat pada setiap tanaman sampel.

h. Jumlah biji per tanaman

Jumlah biji dihitung per tanaman secara manual pada saat panen dengan cara menghitung biji yang terdapat pada setiap tanaman sampel.

i. Bobot kering biji per tanaman

Perhitungan bobot kering biji pertanaman dilakukan dengan cara mengambil biji per tanaman sampel lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80° selama 24 jam.

j. Bobot 50 butir biji

Perhitungan bobot 50 butir biji dilakukan dengan cara mengambil 50 butir biji sample secara acak pada setiap plot kemudian ditimbang menggunakan timbangan.