

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Tempat dan waktu penelitian**

Percobaan dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2024, bertempat di Laboratorium Dasar Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi dan rumah plastik di Desa Budiasih, Kecamatan Sindangkasih, Kabupaten Ciamis, Provinsi Jawa Barat dengan ketinggian tempat 500 mdpl.

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

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah ember, pisau, *blender*, kain saring, gelas ukur, timbangan digital, polybag 30 cm x 30 cm, penggaris, selotip, kaca preparat, tissue, mikroskop, kuas kecil, aplikasi ImageJ, *rotary evaporator*, dan jangka sorong digital.

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini yaitu benih tomat varietas gustavi F1, etanol 70%, kutek transparan, betadine, serbuk magnesium,  $\text{FeCl}_3$ , HCl pekat, ekstrak kulit pisang nangka, pupuk NPK 15:15:15, dan pupuk kandang.

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

Percobaan ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) berpola faktorial, terdiri dari dua faktor dan diulang sebanyak 3 kali. Faktor pertama adalah konsentrasi antioksidan ekstrak kulit pisang (A) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu:

$a_0 = 0\%$  (Kontrol)

$a_1 = 2\%$

$a_2 = 4\%$

Faktor kedua adalah faktor cekaman kekeringan (P) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu:

$p_0 = 100\%$  dari kapasitas lapang (Kontrol)

$p_1 = 70\%$  dari kapasitas lapang

$p_2 = 40\%$  dari kapasitas lapang

Tabel 1. Kombinasi perlakuan cekaman kekeringan (P) dan antioksidan (A)

Antioksidan (A)	Cekaman Kekeringan (P)		
	p <sub>0</sub>	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
a <sub>0</sub>	a <sub>0</sub> p <sub>0</sub>	a <sub>0</sub> p <sub>1</sub>	a <sub>0</sub> p <sub>2</sub>
a <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> p <sub>0</sub>	a <sub>1</sub> p <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> p <sub>2</sub>
a <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> p <sub>0</sub>	a <sub>2</sub> p <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> p <sub>2</sub>

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga keseluruhan terdapat 27 plot percobaan yang terdiri dari 6 polybag setiap plot.

### 3.4. Analisis data

Berdasarkan rancangan yang digunakan, model linier dari percobaan faktorial untuk dua faktor yang masing-masing memiliki level a dan b serta n ulangan adalah sebagai berikut:

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

$Y_{ijk}$  = Hasil pengamatan pada ulangan ke-i, perlakuan faktor cekaman kekeringan taraf ke-j dan antioksidan taraf ke-k.

$\mu$  = Rata-rata umum

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$\alpha_j$  = Pengaruh cekaman kekeringan pada taraf ke-j

$\beta_k$  = Pengaruh antioksidan pada taraf ke-k

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

$\sum_{ijk}$  = Komponen random dari galat yang berhubungan dengan perlakuan cekaman kekeringan pada taraf ke-j dan faktor antioksidan pada taraf ke-k dalam ulangan ke-I.

Data hasil pengamatan diolah dengan menggunakan analisis statistik, kemudian dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F yang tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Sidik ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F <sub>hitung</sub>	F <sub>5%</sub>
Ulangan (r)	2	$\frac{\sum x_{ij}^2}{ab} - FK$	JK <sub>U</sub> /DB <sub>U</sub>	KT <sub>U</sub> /KT <sub>g</sub>	3,63
Perlakuan (t)	8	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	JK <sub>p</sub> /DB <sub>p</sub>	KT <sub>p</sub> /KT <sub>g</sub>	2,59
Antioksidan (A)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	JK <sub>a</sub> /DB <sub>a</sub>	KT <sub>a</sub> /KT <sub>g</sub>	3,63
Cekaman Kekeringan (P)	2	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	JK <sub>b</sub> /DB <sub>b</sub>	KT <sub>b</sub> /KT <sub>g</sub>	3,63
P x A	4	JK <sub>P</sub> -JK <sub>a</sub> -JK <sub>b</sub>	JK <sub>ab</sub> /DB <sub>ab</sub>	KT <sub>ab</sub> /KT <sub>g</sub>	3,01
Galat	16	JK(T)-JK(U)-JK(P)	JK <sub>g</sub> /DB <sub>g</sub>		
Total	26	$\sum x \dots ij^2 - FK$			

*Sumber:* Gomez and Gomez (2010).

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F hitung, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisis	Kesimpulan Analisis	Keterangan
F hit $\leq$ F 5%	Berbeda tidak nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan
F hit $>$ F 5%	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antar perlakuan

Jika hasil analisis ragam terdapat perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

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

LSR = Least significant range

SSR = Student zed Significant Range

dbg = derajat bebas galat

$\alpha$  = taraf nyata

p = jarak

S<sub>x</sub> = Simpangan baku rata-rata perlakuan

1. Apabila terjadi interaksi untuk membedakan pengaruh faktor A pada tiap taraf faktor P atau untuk membedakan faktor P pada tiap taraf faktor A maka S<sub>x</sub> diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

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

2. Apabila tidak terjadi interaksi,

a. Untuk membedakan pengaruh faktor P (Cekaman Kekeringan) pada seluruh taraf faktor A (Konsentrasi Antioksidan)  $S_x$  diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

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

b. Untuk membedakan pengaruh faktor A (Konsentrasi Antioksidan) pada seluruh taraf faktor P (Cekaman Kekeringan)  $S_x$  diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

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

### 3.5. Pelaksanaan penelitian

#### 3.5.1. Pembuatan ekstrak kulit pisang

Perlakuan antioksidan menggunakan larutan berbahan dasar ekstrak kulit pisang. Pembuatan ekstrak kulit pisang diawali dengan pembuatan simplisia mengacu pada prosedur pengolahan sampel pada penelitian Pebrian *et al.*, (2021) yaitu sebagai berikut:

- a. Kulit pisang dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran yang menempel.
- b. Kulit pisang dipotong dengan ukuran yang kecil.
- c. Kulit pisang dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering.
- d. Kulit pisang yang sudah kering digiling hingga menjadi serbuk kulit pisang.
- e. Kulit pisang yang sudah menjadi serbuk lalu ditimbang untuk diekstrak dengan metode maserasi.

Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi menurut Himawan *et al.*, (2018) dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu:

- a. Serbuk kering kulit pisang sebanyak 1000 g dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2,5 liter selama 24 jam.
- b. Serbuk kulit pisang disaring dengan kertas untuk memisahkan serbuk kulit pisang dengan pelarut.
- c. Perendaman dilakukan kembali dengan etanol 70% sebanyak 2,5 liter selama 24 jam.

d. Maserat yang dihasilkan lalu dikentalkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C.

### **3.5.2 Uji kualitatif kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak kulit pisang**

#### **a. Uji kualitatif senyawa flavonoid**

Kandungan flavonoid pada ekstrak kulit pisang diuji dengan metode kualitatif yang mengacu pada prosedur uji kandungan flavonoid dalam penelitian Rumagit *et al.*, (2015) yaitu dengan menggunakan ekstrak kulit pisang sebanyak 1 ml yang dicampurkan dengan serbuk magnesium secukupnya dan HCl pekat sebanyak 10 tetes.

#### **b. Uji kualitatif senyawa fenol**

Uji kualitatif senyawa fenol dalam ekstrak kulit pisang mengacu dalam prosedur uji kualitatif pada penelitian Priyadi *et al.*, (2021) dengan menggunakan ekstrak kulit pisang sebanyak 5 mg dan ditambahkan reagen FeCl<sub>3</sub>.

### **3.5.3 Uji kualitatif kandungan vitamin C pada ekstrak kulit pisang**

Kandungan vitamin C dapat diketahui dengan uji kualitatif yang mengacu pada prosedur dalam penelitian Arel *et al.*, (2017) yaitu dengan menggunakan ekstrak kulit pisang sebanyak 0,5 ml, ditambahkan 5 tetes betadine. Reaksi positif ditandai dengan berkurangnya atau menghilangnya warna betadine dalam 3 menit.

### **3.5.4. Pengukuran kapasitas lapang**

Pengukuran kapasitas lapang bertujuan untuk menentukan volume penyiraman sebagai pemberian taraf perlakuan cekaman kekeringan. Metode yang digunakan adalah metode gravimetri dengan cara media tanah sebanyak 5 kg dimasukan dalam polybag ukuran 30 cm x 30 cm lalu ditimbang sebagai berat awal. Selanjutnya polybag yang berisi media disiram air hingga jenuh dan didiamkan selama 24 jam hingga air tidak menetes, setelah itu media ditimbang kembali sebagai berat akhir. Kapasitas lapang 100% didapatkan dari selisih berat akhir media dengan berat awal media (Arsyadmunir, 2016).

### **3.5.5. Penanaman dan pemupukan**

Penanaman dilakukan di polybag ukuran 30 x 30 cm dengan media tanah sebanyak 5 kg per polybag. Pemupukan dilakukan dengan pupuk kandang sebanyak 75 gram per polybag pada 7 hari sebelum tanam dan pupuk NPK

sebanyak 2,5 gram per polybag pada awal masa tanam. Setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan, dan setiap ulangan terdiri dari 6 polybag dengan 1 tanaman per polybag. Polybag yang disiapkan sebanyak 162 polybag.

### **3.5.6. Pemberian kondisi cekaman kekeringan dan antioksidan ekstrak kulit pisang**

Pemberian air sebagai perlakuan cekaman kekeringan dengan volume air 100%, 70%, dan 40% dari kapasitas lapang dilakukan dengan interval satu hari sekali di pagi hari pada tanaman yang berumur 14 hari hingga 70 hari setelah tanam. Pada perlakuan pemberian antioksidan ekstrak kulit pisang dengan konsentrasi 0%, 2%, dan 4% dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada 15, 20, dan 45 hari setelah tanam dengan volume siram 30 ml per polybag dan konsentrasi antioksidan berdasarkan perlakuan.

### **3.5.7. Pemeliharaan**

Pemeliharaan yang dilakukan diantaranya yaitu penyulaman, penyiangan, pengendalian hama dan penyakit, dan panen.

#### **a. Penyulaman**

Penyulaman merupakan kegiatan untuk mengganti tanaman yang tidak tumbuh atau tumbuh tidak seragam dengan menggunakan benih yang ditanam bersamaan dengan waktu penanaman namun pada wadah atau polybag lain. Penyulaman dilakukan pada 7 HST.

#### **b. Penyiangan**

Penyiangan dilakukan untuk mengendalikan tumbuhan pengganggu atau gulma yang tumbuh di sekitar areal tanaman tomat. Hal tersebut bertujuan agar pertumbuhan tomat dapat berlangsung optimal dan tidak ada persaingan hara dengan gulma. Penyiangan dilakukan dengan cara mencabut tumbuhan pengganggu di sekitar areal tanaman.

#### **c. Pemasangan ajir**

Pemasangan ajir bertujuan sebagai penopang tanaman supaya tanaman dapat berdiri dengan tegak. Setiap tanaman dipasang satu ajir yang berbahan dasar bambu dengan tinggi 1,5 m dan pemasangan ajir dilakukan pada 15 HST.

d. Pengendalian hama dan penyakit

Hama dan penyakit yang mengganggu tanaman tomat dapat dikendalikan dengan membuang hama yang terdapat pada bagian tanaman dan mencabut tanaman yang terkena penyakit.

e. Panen

Panen tomat varietas Gustavi F1 pada umumnya dilakukan pada saat mulai berumur 65 HST atau keadaan buah yang sudah menunjukkan indikator siap panen.

### **3.6. Parameter pengamatan**

#### **3.6.1. Parameter penunjang**

Parameter penunjang merupakan pengamatan yang menghasilkan data penelitian yang tidak dianalisis secara statistik dan bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh lain dari luar perlakuan selama berlangsungnya penelitian. Pengamatan penunjang terdiri dari suhu, kelembaban udara, kandungan flavonoid, fenol, dan vitamin C secara kualitatif pada antioksidan ekstrak kulit pisang, umur berbunga, dan organisme pengganggu tanaman seperti gulma dan hama.

#### **3.6.2. Parameter utama**

a. Tinggi tanaman

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan pada umur 23 hari setelah tanam (HST). Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah sampai ujung daun tertinggi tanaman pada setiap polybag.

b. Diameter batang

Diameter batang yang diukur menggunakan jangka sorong. Diameter batang yang diukur merupakan batang utama yang paling bawah. Diameter batang diukur pada umur 23 hari setelah tanam (HST).

c. Luas daun

Luas daun dihitung menggunakan aplikasi ImageJ. Pengukuran dilakukan dengan cara daun dibentangkan di atas kertas HVS lalu diletakan penggaris di sisi daun kemudian foto daun beserta penggarisnya pada seluruh tangkai daun dari masing-masing perlakuan. Hasil foto diolah

menggunakan aplikasi ImageJ untuk mengetahui luas permukaan daun. Pengukuran luas daun dilakukan pada umur 23 hari setelah tanam.

d. Jumlah stomata terbuka

Metode yang digunakan pada untuk mengamati stomata di permukaan daun yaitu dengan metode replika. Menurut Haryanti (2010) metode replika dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu daun dibersihkan dengan tissue untuk membersihkan kotoran, kemudian diolesi dengan kutek transparan dan didiamkan selama 10-15 menit hingga kutek mengering. Setelah kering maka daun yang diolesi kutek ditempel selotip transparan, lalu dikelupas secara perlahan-lahan. Hasil kelupasan tersebut lalu ditempelkan pada kaca preparat. Pengamatan jumlah stomata terbuka per bidang pandang dilakukan dengan mikroskop. Pengamatan jumlah stomata dilakukan pada 23 hari setelah tanam dengan mengambil satu daun pada tiap perlakuan.

e. Kadar air relatif daun

Kadar air relatif daun dihitung pada 23 hari setelah tanam dilakukan dengan cara mengambil dua daun dalam satu tanaman dalam plot perlakuan kemudian ditimbang sebagai bobot segar. Daun yang sudah ditimbang kemudian direndam dengan aquades selama 5 jam, setelah itu permukaan daun dikeringkan menggunakan tisu sampai kering dan ditimbang sebagai penambahan bobot. Selanjutnya daun dimasukan ke dalam oven selama 24 jam dengan suhu 80°C kemudian ditimbang sebagai bobot kering. Rumus untuk menghitung kadar air relatif daun yaitu:

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

(Fitri dan Salam, 2017).

f. Jumlah buah per tanaman

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah buah saat panen pada umur tanaman 65, 68, dan 70 hari setelah tanam.

g. Bobot buah per tanaman

Pengamatan bobot buah per tanaman dilakukan dengan mengumpulkan buah pada saat panen di umur tanaman 65, 68, dan 70 hari setelah tanam lalu dihitung bobot buah per tanaman dengan menghitung rata-rata dari jumlah bobot buah tomat yang dihasilkan tanaman pada masing-masing plot percobaan.

h. Bobot per buah

Pengamatan bobot buah dilakukan dengan mengumpulkan buah per tanaman saat panen pada 65, 68, dan 70 hari setelah tanam untuk selanjutnya dihitung bobot buah per tanaman dan dihitung satu per satu bobot buahnya.