

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya pada bulan Maret sampai dengan bulan Juli 2021.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan antara lain polybag ukuran 30 cm x 40 cm, blender, kertas saring, oven, timbangan analitik, sprayer, ember, gelas ukur, gembor, penggaris, pisau, *thermo hygrometer*, *conductivity meter*, pH meter, klorofil meter, aplikasi *ImageJ* dan *rotary evaporator*. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: benih kacang hijau varietas Vima 4, kulit buah lemon, NaCl, air ledeng, etanol 96%, tanah, pupuk kandang, pupuk NPK dan pestisida.

#### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) berpola faktorial, terdiri dari dua faktor dan diulang sebanyak 3 kali. Faktor pertama adalah cekaman salinitas (S) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu:

$S_0$  = Air (Kontrol)

$S_1$  = NaCl 0,5%

$S_2$  = NaCl 1%

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

$I_0$  = Ekstrak kulit lemon 0%

$I_1$  = Ekstrak kulit lemon 1%

$I_2$  = Ekstrak kulit lemon 2%

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Cekaman Salinitas dan Antioksidan Ekstrak Kulit Lemon.

Cekaman Salinitas (S)	Antioksidan ekstrak kulit lemon (I)		
	I <sub>0</sub>	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>
S <sub>0</sub>	S <sub>0</sub> I <sub>0</sub>	S <sub>0</sub> I <sub>1</sub>	S <sub>0</sub> I <sub>2</sub>
S <sub>1</sub>	S <sub>1</sub> I <sub>0</sub>	S <sub>1</sub> I <sub>1</sub>	S <sub>1</sub> I <sub>2</sub>
S <sub>2</sub>	S <sub>2</sub> I <sub>0</sub>	S <sub>2</sub> I <sub>1</sub>	S <sub>2</sub> I <sub>2</sub>

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

### 3.4 Analisis Data

Dari rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan secara umum model linier dari percobaan faktorial untuk dua faktor yang masing-masing memiliki level a dan b serta n ulangan 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 salinitas taraf ke-j dan antioksidan taraf ke-k.

$\mu$  = Rata-rata umum

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

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

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

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

$\sum_{ijk}$  = 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 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 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F 5%
Ulangan (r)	2	$\frac{\sum x_{ij}^2}{ab} - FK$	$JK_U/DB_U$	$KT_U/KT_G$	3,63
Perlakuan (t)	8	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	$JK_P/BD_P$	$KT_P/KT_G$	2,59
Salinitas (S)	2	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	$JK_A/DB_a$		3,63
Invigorasi (I)	2	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	$JK_B/DB_b$		3,63
S x I	4	$JK_P - JK_S - JK_I$	$JK_{SI}/B_{dbSI}$		3,01
Galat	16	$JK_T - JK_U - JK_P$	$JK_G/DB_G$		
Total	26	$\sum x \dots ij^2 - FK$			

Sumber: Gomez and Gomez, 1995

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F hitung, dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 4. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil Analisa	Kesimpulan Analisa	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{5\%}$	Tidak berbeda nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antara perlakuan
$F_{hit} > F_{5\%}$	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antara perlakuan

Jika uji F berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjutan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf kesalahan 5%, dengan rumus sebagai berikut:

$$LSR_{(y, dBg, p)} = SSR_{(y, dBg, p)} \times S_x$$

LSR = Least Significant Range

SSR = Student zed Significant Range

dBg = derajat bebas galat

y = taraf nyata

p = jarak

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

Nilai  $S_x$  dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

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

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

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

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

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

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

### 3.5 Pelaksanaan penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan ekstrak kulit buah lemon

Metode ekstraksi kulit lemon mengikuti metode yang telah dilakukan oleh Mehmood *et al.*, (2015) sebagai berikut:

- a. Kulit buah jeruk lemon dicuci bersih kemudian dipotong dengan ukuran  $\pm 3$  cm lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 72 jam. Kulit lemon yang sudah kering kemudian diblender hingga menjadi serbuk lalu disaring menggunakan ayakan.
- b. Proses pembuatan ekstrak kulit buah lemon menggunakan metode maserasi. Serbuk kulit buah lemon ditimbang sebanyak 1000 g, dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 1L.
- c. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam, ekstrak yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring (filtrat 1) dan diuapkan dengan evaporator pada suhu  $70^\circ\text{C}$ .
- d. Selanjutnya filtrat dikeringkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak murni dari kulit lemon yang berupa pasta.

### 3.5.2 Invigorasi benih

Benih kacang hijau varietas Vima 4 diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi). Sebelum dilakukan penanaman, benih diberi perlakuan invigorasi dengan merendam benih tersebut di dalam larutan antioksidan ekstrak kulit lemon dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Masing-masing perlakuan invigorasi direndam selama 12 jam. Setelah mencapai waktu 12 jam, benih dibersihkan dengan menggunakan air, kemudian benih dikering anginkan.

Larutan yang digunakan sebagai perlakuan invigorasi masing-masing dengan konsentrasi 1% dan 2% dari ekstrak kulit buah lemon. Larutan antioksidan dibuat dengan cara sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{a. Ekstrak kulit buah lemon } 1\% &= \frac{1}{100} \times 100 \\ &= 1 \text{ g ekstrak kulit buah lemon} \end{aligned}$$

Untuk membuat larutan ekstrak kulit lemon 1% sebanyak 100 ml dilakukan dengan cara melarutkan 1 g ekstrak kulit lemon hingga volumenya mencapai 100 ml.

$$\begin{aligned} \text{b. Ekstrak kulit buah lemon } 2\% &= \frac{2}{100} \times 100 \\ &= 2 \text{ g ekstrak kulit buah lemon} \end{aligned}$$

Untuk membuat larutan ekstrak kulit lemon 2% sebanyak 100 ml dilakukan dengan cara melarutkan 2 g ekstrak kulit lemon hingga volumenya mencapai 100 ml.

### 3.5.3 Pembuatan larutan NaCl

Larutan konsentrasi dibuat dengan cara sebagai berikut:

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

Untuk membuat larutan NaCl 0,5% sebanyak 1000 ml dilakukan dengan cara melarutkan 5 g, NaCl hingga volumenya mencapai 1000 ml.

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

Untuk membuat larutan NaCl 1% sebanyak 1000 ml dilakukan dengan cara melarutkan 10 g NaCl hingga volumenya mencapai 1000 ml.

#### 3.5.4 Pemberian larutan NaCl

Larutan NaCl diberikan pada saat tanaman berumur 8 HST sampai satu hari sebelum tanaman kacang hijau dipanen. Pemberian larutan NaCl dilakukan sebagai pengganti air siraman yang diberikan setiap dua hari sekali di pagi dan sore hari atau sesuai kebutuhan jika tanaman mengalami kekeringan. Pemberian konsentrasi larutan disesuaikan dengan perlakuan di tiap plotnya.

#### 3.5.5 Penanaman kacang hijau

##### a. Pada polybag

Penanaman benih dilakukan di polybag. Media tanam berupa tanah dimasukkan ke dalam polybag ukuran 30 cm x 40 cm dengan massa tanah 5 kg/polybag. Polybag yang disiapkan sebanyak 162 polybag. Setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan, dan setiap perlakuan terdiri dari 6 polybag dengan 1 tanaman per polybag. Setelah penanaman benih, lalu pemberian perlakuan salinitas dengan cara menyiram media tanam menggunakan larutan NaCl dengan konsentrasi 0%, 0,5%, dan 1% yang dilakukan setiap 2 hari sekali sampai akhir dari fase generatif atau tanaman mencapai 60 HST.

##### b. Pemeliharaan

Pemupukan dasar diberikan satu hari sebelum tanam dengan menggunakan pupuk kandang ayam dan tanah dengan perbandingan 2:1. Pemupukan susulan dilakukan pada 30 HST menggunakan pupuk NPK dengan dosis sebanyak 0,75 g/polybag.

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

Penyulaman dilakukan dengan bibit sulaman yang pertumbuhannya baik. Penyulaman dilakukan untuk menggantikan tanaman yang mati atau pertumbuhan kurang baik. Penyulaman dilakukan sampai umur tanaman 7 hari setelah tanam.

Penyiangan dilakukan bila di dalam bedengan tumbuh rumput, penyiangan dilakukan dengan cara manual yaitu mencabut gulma menggunakan tangan yang dilakukan seminggu sekali.

Pencegahan terhadap serangan hama dan penyakit dilakukan secara manual dengan mengamati hama yang menyerang tanaman hingga pengendalian secara kimia yang dilakukan dengan menggunakan pestisida.

c. Panen

Panen dilakukan jika polong telah kering dan mudah pecah, yaitu berwarna coklat kehitaman yang dilakukan sebanyak dua kali dengan cara memetik polong yang sudah siap panen pada saat tanaman berumur 60 dan 63 HST.

### 3.6 Parameter pengamatan

#### 3.6.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama penelitian berlangsung. Pengamatan ini terdiri dari analisis tanah sebelum percobaan, temperatur dan kelembaban udara dengan menggunakan alat *thermo hygrometer*, analisis daya hantar listrik dengan menggunakan *conductivity meter*, dan organisme pengganggu tanaman.

#### 3.6.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang datanya diuji secara statistik dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang dilakukan. Adapun parameter pengamatan utama meliputi:

a. Tinggi tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan pada saat tanaman berumur 38 dan 60 HST dengan cara mengukur dari pangkal batang di permukaan tanah sampai dengan ujung batang.

b. Luas daun (cm<sup>2</sup>)

Luas daun diukur dengan menggunakan aplikasi *ImageJ* pada saat tanaman telah mencapai 38 HST dengan cara mengambil 27 lembar dari 3 sampel tanaman yang terdiri atas 3 lembar daun *trifoliolate* bagian atas, tengah dan bawah masing-masing 3 ulangan.

c. Kadar klorofil (µg/cm<sup>2</sup>)

Kadar klorofil yang diukur dari tanaman sampel, pengamatan dilakukan pada saat umur 38 HST menggunakan klorofil meter.

d. Jumlah polong per tanaman (polong)

Pengamatan jumlah polong per tanaman dilakukan pada saat 60 HST dengan menghitung semua jumlah polong yang terbentuk pada tanaman sampel.

e. Bobot polong kering per tanaman (g)

Pengamatan bobot polong per tanaman dilakukan pada saat 60 HST kemudian dikeringkan selama 3 hari dan ditimbang menggunakan timbangan analitik.

f. Jumlah biji per polong (biji)

Pengamatan dilakukan pada saat panen dengan cara menghitung seluruh biji pada polong yang terdapat pada tanaman sampel.

g. Bobot biji kering per tanaman (g)

Pengamatan bobot biji per tanaman dilakukan dengan mengambil seluruh biji pada tanaman sampel yang telah dikeringkan selama 2 hari, kemudian ditimbang.

h. Bobot 50 butir biji (g)

Bobot 50 biji diperoleh dengan menimbang 50 butir biji yang diambil dari masing-masing tanaman sampel pada setiap plot.