2. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kaca Laboratorium Terpadu Universitas Brawijaya Ngijo, Karangploso Malang dengan ketinggian tempat 525 meter di atas permukaan laut (mdpl). Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Juli 2017.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah blender, kertas saring, timbangan digital, erlenmenyer 250 ml, erlenmenyer 1000 ml, gelas ukur, rotari evaporator, shaker, oven, plastik, pipet, polybag, handsprayer, kertas label, corong Buchner, penggaris, alat tulis dan kamera.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah seresah daun mangga (*Mangifera indica*) sebagai ekstrak bioherbisida, gulma bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) sebagai tumbuhan yang akan diuji, aquades, methanol 96% dan tanah top soil 0-30 cm.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di rumah kaca menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Perlakuannya ialah menggunakan tingkat konsentrasi ekstrak daun mangga (berdasarkan Weight/ Volume).

P₀: Tanpa Ekstraksi (air)

P₁: Ekstrak daun mangga 10% (4,5 ml ekstrak dan 40,5 ml aquades)

P₂: Ekstrak daun mangga 20% (9 ml ekstrak dan 36 ml aquades)

P₃: Ekstrak daun mangga 30% (13,5 ml ekstrak dan 31,5 ml aquades)

P₄: Ekstrak daun mangga 40% (18 ml ekstrak dan 27 ml aquades)

P₅: Ekstrak daun mangga 50% (22,5 ml ekstrak dan 22,5 ml aquades)

Berdasarkan perlakuan diatas maka dihasilkan 6 perlakuan. Percobaan ini diulang sebanyak 3 kali untuk setiap perlakuan, sehingga terdapat 18 unit perlakuan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Media Tanam

Persiapan penelitian dilakukan dengan menyediakan media tanam untuk persemaian benih dan membersihkan tanah dari sisa kotoran, kemudian media tanam dimasukkan kedalam polybag berukuran 10x15 cm.

3.4.2 Persemaian Benih Gulma

Tanah yang sudah disiapkan, dimasukan kedalam polybag ukuran 10x15 cm dan setelah itu digunakan sebagai media semai gulma bayam duri (*A. spinosus* L). Benih yang akan disemai dari masing-masing gulma sebanyak 54 benih. Pada bak semai tersebut dilakukan penyiraman sebanyak 15 ml air, hingga umur 14 hari.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Mangga

Seresah daun mangga diambil sebanyak 1 kg, kemudian dicuci menggunakan air kran dan dibiarkan sampai permukaan daun kering. Daun yang sudah kering kemudian dipotong kecil-kecil dan dihancurkan hingga halus menggunakan blender. Selanjutnya serbuk daun ditimbang masing-masing sebanyak 25 gram lalu dimasukkan kedalam erlenmenyer 250 ml dan diteruskan dengan memasukkan methanol 96% sebanyak 150 ml. Erlenmenyer yang berisi serbuk daun mangga yang terendam methanol 96% kemudian diletakkan pada shaker yang berguna untuk mengaduk serbuk daun mangga. Penggadukan dilakukan selama 4 hari. Setelah 4 hari, hasil dari shaker tersebut kemudian dipindahkan ke erlenmenyer 1000 ml liter dengan menggunakan corong bucher yang telah dialasi kertas saring. Cairan yang diperoleh dari hasil penyaringan tersebut kemudian dipindahkan ke rotari evaporator dengan suhu 60°C. Rotari evaporator ini digunakan untuk menguapkan methanol yang terdapat pada cairan sehingga yang diperoleh hanya hasil ekstrak daun mangga. Proses penguapan ini dilakukan selama kurang lebih 2 hari hingga dihasilkannya ekstrak murni daun mangga. Ekstrak daun mangga tersebut disimpan di lemari es sampai saat di gunakan untuk pengujian. Pembuatan konsentrasi bioherbisida terdiri atas 50%, 40%, 30%, 20%, 10% serta adanya kontrol yang menggunakan air.

3.4.4 Aplikasi Bioherbisida Daun Mangga

Bayam duri yang sudah disemaikan selama 14 hari kemudian dipindahkan dari bak persemaian kedalam 54 polybag ukuran 35x35 cm. Masing-masing polybag ukuran 35x35 cm diisi tanah sebanyak 5 kg dan kemudian ditanam bayam duri 1 tanaman/polybag. Penyemprotan bioherbisida dilakukan setiap sore hari pukul 16.00. Penyemprotan bioherbisida sebanyak 4 kali dengan interval waktu penyemprotan 1 minggu dan volume semprot 5 ml/tanaman sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Saat tanaman bayam duri berumur 14 HST (Hari Setelah Transplanting) dilakukan penyemprotan bioherbisida untuk pertama kalinya. Aplikasi bioherbisida kedua dilakukan pada umur ke 21 HST (Hari Setelah Transplanting), aplikasi bioherbisida ketiga dilakukan pada umur ke 28 HST (Hari Setelah Transplanting) dan aplikasi bioherbisida keempat atau terakhir dilakukan pada umur ke 35 HST (Hari Setelah Transplanting).

3.4.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan yang dilakukan ialah dengan melakukan penyiraman bayam duri dan penyiangan gulma yang tumbuh disekitar tanaman bayam duri. Penyiraman dilakukan setiap pagi hari dengan volume air sebanyak 240 ml/tanaman.

3.5 Pengamatan

Perubahan yang diamati dari penelitian ini adalah tinggi gulma, bobot segar, bobot kering, pertambahan tinggi tanaman serta fitotoksisitas (keracunan) pada gulma bayam duri.

1. Tinggi Tanaman

Tinggi bayam duri diukur dengan menggunakan penggaris mulai dari permukaan tanah hingga ujung daun tertinggi. Pengukuran dilakukan setiap 7 hari sekali setelah setelah aplikasi bioherbisida.

2. Jumlah Daun

Jumlah daun dihitung berdasarkan daun yang terdapat pada bagian tanaman yang telah membuka secara sempurna. Pengukuran dilakukan setiap 7 hari sekali setelah aplikasi bioherbisida.

3. Bobot Segar

Bobot segar bayam duri yang telah diberi perlakuan, ditimbang dengan mengunakan timbangan digital. Pengukuran bobot segar dilakukan pada umur 42 hari setelah transplanting.

4. Bobot Kering

Bobot kering bayam duri diperoleh dengan cara memasukkan bayam duri dalam amplop tertutup kemudian di oven pada suhu 105°C selama 1 hari (Lasmini dalam Riskitavani 2013). Pengukuran bobot kering dilakukan pada umur 42 hari setelah transplanting.

5. Panjang Akar

Panjang akar diukur dari titik tumbuh akar sampai akar terpanjang dari tanaman bayam duri. Pengamatan dilakukaan pada 42 hari setelah transplanting.

6. Pertambahan Tinggi Tanaman

Pertambahan tinggi tanaman didapat dari tinggi akhir tanaman gulma bayam duri pada umur ke 42 HST dikurangi dengan tinggi gulma bayam duri pada umur ke 14 HST, sehingga didapatkan pertambahan tinggi tanaman selama 28 hari.

7. Fitotoksisitas

Fitotoksisitas pada bayam duri diamati dengan sistem skor truelove, sebagai berikut ini :

- 0 = tidak terjadi keracunan (dengan tingkat keracunan 0-5%, bentuk dan warna daun tidak normal)
- 1 = keracunan ringan (dengan tingkat keracunan 6-10%, bentuk dan warna daun tidak normal)
- 2 = keracunan sedang (dengan tingkat keracunan 11-20%, bentuk dan warna daun tidak normal)
- 3 = keracunan berat (dengan tingkat keracunan 21-50%, bentuk dan warna daun tidak normal)
- 4 = keracunan sangat berat (dengan tingkat keracunan >50%, bentuk dan warna daun tidak normal, sehingga daun mengering dan rontok sampai mati) (Lasmini dan Wahid, 2008).

3.6 Analisis Data

Data yang didapat dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (uji F) pada taraf α = 5% kemudian apabila menunjukan berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf α =0,05.