

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Kampus Mugarsari Tasikmalaya. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober sampai Desember 2021.

3.2 Alat dan bahan penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, oven, nampan, blender, ayakan, gelas plastik 240 ml, gelas plastik 100 ml, *beaker glass* 200 ml, *alumunium foil*, *magnetic stirrer*, kain strimin, saringan teh, *seed dryer*, kertas merang, tali, germinator, termohigrometer, konduktometer, timbangan analitik, kertas saring dan *rotary evaporator*.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas Grobogan, bahan perekat CMC (*Carboxymethyl cellulose*), kulit buah naga merah, larutan etanol 96% dan aquades. Benih kedelai varietas Grobogan bersumber dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI), CMC, kulit buah naga merah, larutan etanol 96% dan aquades diperoleh dari toko lokal daerah Kota Tasikmalaya.

3.3 Metode penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang berpola faktorial. Faktor pertama adalah ekstrak kulit buah naga merah (A) yang terdiri atas 3 taraf, yaitu:

a₀: ekstrak kulit buah naga merah 0% (tanpa ekstrak kulit buah naga merah)

a₁: ekstrak kulit buah naga merah 20%

a₂: ekstrak kulit buah naga merah 40%

Faktor kedua adalah lama pengusangan (B) yang terdiri atas 3 taraf, yaitu:

b₀: 0 jam

b₁: 12 jam

b_2 : 24 jam

Dengan demikian percobaan ini terdiri dari 9 kombinasi perlakuan seperti yang tertera pada Tabel 3. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 27 plot percobaan. Setiap ulangan terdiri dari 30 butir benih sehingga terdapat 90 butir benih untuk setiap perlakuan yang diuji.

Tabel 3. Kombinasi Perlakuan

Ekstrak kulit buah naga merah (A)	Lama pengusangan (B)		
	b_0	b_1	b_2
a_0	a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2
a_1	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2
a_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2

3.4 Analisis data

Menurut Susilawati (2015), model linier dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dengan:

$i = 1, 2, 3$ dan 4

$j = 1, 2, 3$ dan 4

$k = 1, 2$ dan 3

Keterangan:

Y_{ijk} = Pengamatan pada ulangan ke-k yang mendapat perlakuan perlakuan faktor A taraf ke-i dan faktor B taraf ke-j

μ = Rataan umum

α_i = Pengaruh faktor A taraf ke-i

β_j = Pengaruh faktor B taraf ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi faktor A taraf ke-i dan faktor B taraf ke-j

ε_{ijk} = Komponen galat oleh faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j dan ulangan ke-k

Data yang diperoleh dari hasil penelitian selanjutnya dianalisis dengan analisis ragam ANOVA dan apabila ada perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikan 5% ($\alpha = 0,05$).

Tabel 4. Analisis Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F _{0,05}
Ekstrak buah merah (A)	a-1	$\frac{\sum(A)^2}{rb} - FK$	$\frac{JK_A}{db_A}$	$\frac{KT_A}{KT_G}$	3,55
Lama pengusangan (B)	b-1	$\frac{\sum(B)^2}{ra} - FK$	$\frac{JK_B}{db_B}$	$\frac{KT_P}{KT_G}$	3,55
Interaksi (AxB)	(a-1)(b-1)	$JK_P - JK_A - JK_B$	$\frac{JK_I}{db_I}$	$\frac{KT_I}{KT_G}$	2,93
Galat	ab(r-1)	$JK_T - JK_P$	$\frac{JK_G}{db_G}$		
Total	(abr)-1	$\sum X^2 - FK$			

Sumber: Susilawati (2015)

Tabel 5. Kaidah 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

Sumber: Gomez dan Gomez (2015)

Jika kesimpulan dari uji F berbeda nyata, maka dilanjut uji lanjut jarak berganda Duncan pada taraf kesalahan 5% dengan rumus sebagai berikut.

1. Mencari LSR

$$LSR = S_x \cdot SSR$$

$$SSR = \alpha \cdot db_{gp}$$

2. Mencari S_x

Jika terjadi interaksi:

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

Jika tidak terjadi interaksi:

$$S_x a = \sqrt{\frac{KT_{galat}}{rb}}$$

$$S_x b = \sqrt{\frac{KT_{galat}}{ra}}$$

Keterangan:

SSR = *Significant studentized range*

LSR = *Least significant range*

Sx = Galat baku rata-rata (*standard error*)

3.5 Prosedur penelitian

3.5.1 Pembuatan ekstrak kulit buah naga merah

1. Penyiapan bubuk kulit buah naga merah

Buah naga merah yang dipilih mempunyai karakteristik fisik sebagai berikut yaitu tidak terdapat bagian yang busuk, kelopak yang menutupi kulit buah naga berwarna cerah tanpa ada warna kecoklatan pada ujung-ujungnya, kulit berwarna *pink* cerah dan mulus (Utami, 2020). Kulit buah naga merah yang telah dipilih lalu dikumpulkan, di sortasi kemudian dicuci bersih. Terkumpul 8 kg kulit buah naga merah yang selanjutnya dipotong-potong tipis lalu dikeringkan dengan *seed dryer* pada suhu 50°C selama 3 hari. Setelah kering kulit buah naga merah di blender sampai menjadi bubuk, menghasilkan 599 gram bubuk kulit buah naga merah.

2. Ekstraksi

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi (metode dingin) (Niah dan Helda, 2016). Kulit buah naga merah bubuk direndam dengan 4 L larutan etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali diaduk, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 1). Residu direndam lagi dengan 4 L larutan etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali diaduk lalu disaring (filtrat 2). Residu direndam lagi dengan 4 L larutan etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali diaduk lalu disaring (filtrat 3). 10 L filtrat hasil penyaringan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C selama 8 jam kemudian dikentalkan di atas *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kulit buah naga merah sebesar 74,27 gram.

3.5.2 Pelapisan benih

Sebelum diberi pelapis benih, benih kedelai disortasi dan dibersihkan dari kotoran. Benih ditimbang sebelum dan sesudah di-*coating* untuk mengetahui berat bahan pelapis yang melekat. Bahan perekat CMC dengan konsentrasi 1,5% (0,75 g) dan ekstrak kulit buah naga merah sesuai perlakuan dilarutkan dalam 50 ml

aquades dan diaduk merata menggunakan *magnetic stirrer* sampai terbentuk suspensi yang homogen. Benih dimasukkan ke dalam suspensi sambil diaduk merata selama 45 menit kemudian benih disaring dengan saringan teh untuk menghilangkan larutan yang tersisa (Setiyowati, Memen dan Suryo, 2007). Benih dikeringkan menggunakan kipas angin sampai benih terlihat kering.

3.5.3 Pengusangan benih secara fisik

Pengusangan benih secara fisik dilakukan menurut metode Marbun dkk. (2014). Gelas plastik ukuran 240 ml diisi dengan air sebanyak 80 ml lalu bentuk kain strimin seperti corong kemudian letakkan di atas air. 30 butir benih kedelai diletakkan di atas kain strimin, gelas ditutup menggunakan *aluminium foil* lalu diberi label pada gelas sesuai dengan perlakuannya. Gelas dimasukkan kedalam oven dengan suhu 41°C dan kelembapan 100% dengan lama pengusangan 12 jam dan 24 jam.



Gambar 2. Pengusangan benih secara fisik

3.5.4 Mengecambahkan benih di laboratorium

Setelah pengusangan secara fisik, benih dikecambahkan dengan metode uji kertas digulung dalam plastik (UKDp) dengan cara menurut Sugiantari, I Gusti dan Utami (2017). Sebanyak 25 butir benih dari masing-masing ulangan diletakkan di atas media kertas merang lembap lalu digulung dalam plastik. Benih dikecambahkan dalam germinator dengan posisi berdiri. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke delapan.

3.6 Pengamatan

3.6.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang meliputi pengukuran temperatur dan kelembapan udara dengan menggunakan alat termohigrometer.

3.6.2 Pengamatan utama

1. Daya hantar listrik

Pengujian daya hantar listrik (uji DHL) dilakukan oleh Shari dkk. (2013). Sebanyak 5 butir benih kedelai ditimbang. Benih kedelai tiap ulangan dimasukkan ke dalam *cup* plastik dan ditambahkan 50 ml air bebas ion. Blanko dibuat dengan hanya diisi 50 ml air bebas ion pada *cup* plastik. *Cup* ditutup untuk mencegah kontaminasi dan dibiarkan selama 24 jam. *Cup* berisi benih yang telah direndam selama 24 jam, diguncang selama 10 – 15 detik untuk memastikan pencampuran yang merata dengan larutan rendaman. *Dip cell* dimasukkan ke dalam air rendaman lalu ukur/baca nilai konduktivitasnya. Perhitungan konduktivitas per gram benih untuk masing-masing ulangan menggunakan rumus sebagai berikut (Shari dkk., 2013):

$$\text{Nilai DHL } (\mu\text{S/cm/g}) = \frac{\text{Konduktivitas sampel-blanko } (\mu\text{S/cm})}{\text{Berat benih per ulangan (g)}}$$

2. Kecepatan tumbuh

Kecepatan tumbuh dihitung setiap hari selama 7 hari pada benih yang tumbuh normal. Kecepatan tumbuh dihitung dengan rumus (Tefa, 2017):

$$\text{KCT } (\%/etmal) = \left(\% \frac{KN}{etmal} \right) = \sum_0^{tn} \frac{N}{t}$$

Keterangan:

t = waktu pengamatan ke-i

N = persentase kecambah normal setiap waktu pengamatan

tn = waktu akhir pengamatan (hari ke 7)

1 *etmal* = 1 hari

3. Indeks vigor

Pengamatan indeks vigor dilakukan terhadap jumlah kecambah normal pada hitungan pertama (*first count*) yaitu pada hari ke-5 (Tefa, 2017).

$$IV (\%) = \frac{\Sigma \text{Kecambah normal pada hitungan pertama}}{\Sigma \text{Benih yang ditanam}} \times 100\%$$

4. Keserempakan perkecambahan benih

Keserempakan tumbuh dihitung berdasarkan persentase kecambah normal pada 6 HST (Tefa, 2017). Rumus keserempakan perkecambahan benih adalah sebagai berikut:

$$K_{ST} (\%) = \frac{\Sigma KN \text{ hari ke-6}}{\Sigma \text{Benih yang ditanam}} \times 100\%$$

5. Daya berkecambah

Pengamatan dilakukan terhadap benih yang telah berkecambah normal pada hari ke-8 setelah tanam. Kecambah normal dilihat dengan pemunculan dan perkembangan struktur-struktur penting dari embrio, yaitu munculnya calon akar (radikula), calon daun (plumula) dan calon batang (hipokotil) serta kotiledon secara sempurna (Ridha, Syaril dan Juanda, 2017). Rumus daya berkecambah adalah sebagai berikut:

$$DB (\%) = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

6. Panjang akar

Pengukuran panjang akar kecambah dilakukan pada akar primer kecambah normal, kecambah diukur dari pangkal akar sampai ujung akar terpanjang.

Panjang akar diukur pada 8 HST (Shari dkk., 2013).

7. Panjang hipokotil

Pengukuran dilakukan pada hipokotil kecambah normal, kecambah diukur dari pangkal hipokotil sampai titik tumbuh. Panjang hipokotil diukur pada 8 HST (Shari dkk., 2013).

8. Berat kering kecambah normal

Pengukuran berat kering kecambah dilakukan setelah kotiledon dibuang (Shari dkk., 2013) kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Dinginkan lalu timbang menggunakan timbangan analitik.