

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Agustus 2021 di Laboratorium Produksi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.

3.2 Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah: timbangan elektrik, oven, kantong kain striming, kertas merang, plastik bening, box plastik, gelas plastik tertutup, blender, gelas ukur, sprayer, conductivity meter, vacum rotary evaporator, beaker glass, germinator, mistar, label, kertas saring, thermo hygrometer, moisture meter dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah: benih kedelai, varietas deJa 2 dengan daya kecambah 96,5%, aquades, pelarut etanol 70%, dan kulit bawang merah.

3.3 Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (K) yang terdiri dari 4 taraf dan faktor kedua adalah lama priming yang terdiri dari 3 taraf. Dari dua faktor yang diuji diperoleh 12 kombinasi perlakuan seperti terlihat pada Tabel 1. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 36 satuan percobaan. Faktor pertama adalah konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (K) yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

k_0 = Air (kontrol)

k_1 = Ekstrak kulit bawang merah 10%

k_2 = Ekstrak kulit bawang merah 20%

k_3 = Ekstrak kulit bawang merah 30%

Faktor kedua adalah lama priming (W) yang terdiri dari 3 taraf yaitu:

w_1 = 1 jam

w_2 = 3 jam

$w_3 = 6$ jam

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Kulit Bawang Merah (K) dan Lama Priming (W)

Lama priming (W)	Konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (K)			
	k_0	k_1	k_2	k_3
w_1	k_0w_1	k_1w_1	k_2w_1	k_3w_1
w_2	k_0w_2	k_1w_2	k_2w_2	k_3w_2
w_3	k_0w_3	k_1w_3	k_2w_3	k_3w_3

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

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

Keterangan:

Y_{ijk} = respon tanaman yang diamati

μ = nilai tengah umum

α_i = pengaruh taraf ke-i dari faktor konsentrasi ekstrak kulit bawang merah

β_j = pengaruh taraf ke-j dari faktor lama priming

$(\alpha\beta)_{ji}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i dari faktor konsentrasi ekstrak kulit bawang merah dan taraf ke-j dari faktor lama priming

ϵ_{ijk} = pengaruh sisa (galat percobaan) taraf ke- i dari faktor konsentrasi ekstrak kulit bawang merah dan taraf ke-j dari faktor lama priming pada ulangan ke-k.

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

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Ragam	Db	JK	KT	F _{hit}	F _{tab} (0,05)
Perlakuan (P)	11	$\frac{\sum x^2}{r} - FK$	JKP/DBP	KTP/KTG	2,22
Konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (K)	3	$\frac{\sum K^2}{rb} - FK$	JKK/DbK	KTK/KTG	3,01
Lama priming (W)	2	$\frac{\sum L^2}{ra} - FK$	JKL/DbL	KTL/KTG	3,40
K x W	6	JKP-JKK-JKL	JKKLDbL	KTKL/KTG	2,51
Galat (G)	24	JK(T)-JK(U)-JK(P)	JKG/DBG		
Total (T)	35	$\sum x \dots ij^2 - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez, 2010

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

Tabel 3. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil Analisis	Kesimpulan Analisis	Keterangan
F hit \leq F 0,05	Berbeda tidak nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antara perlakuan
F hit $>$ F 0,05	Berbeda nyata	Ada perbedaan pengaruh antara perlakuan

Bila nilai F hitung menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf kestabilan 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$LSR (\alpha.dBg.p) = SSR (\alpha.dBg.p) \times Sx$$

Keterangan:

LSR = *Least Significant Range*

SSR = *Student zed Significant Range*

dBg = Derajat bebas galat

α = Taraf nyata

p = Jarak

Sx = Simpangan baku rata-rata perlakuan

1. Apabila terjadi interaksi, untuk mengetahui perbedaan faktor konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (K) pada setiap taraf lama priming (W) yang sama

dan untuk mengetahui perbedaan faktor lama priming (W) pada setiap taraf faktor konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (K) yang sama, S_x diperoleh dengan menggunakan rumus:

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

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

Untuk membedakan faktor K (konsentrasi ekstrak kulit bawang merah) pada faktor W (lama priming), maka S_x diperoleh dengan rumus:

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

Untuk membedakan pengaruh faktor W (lama priming) pada faktor K (konsentrasi ekstrak kulit bawang merah), maka S_x diperoleh dengan rumus:

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

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Persiapan benih

Benih kedelai yang digunakan pada percobaan ini diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang-Kacangan dan Umbi (BALITKABI) Unit Pengelolaan Benih Sumber (UPBS) Malang Jawa Timur, kemudian benih disortasi berdasarkan ukuran sehingga benih yang digunakan berukuran seragam.

3.4.2 Pembuatan ekstrak kulit bawang merah

Pembuatan ekstrak kulit bawang merah berdasarkan rekomendasi Setiani *et al.* (2017) menggunakan metode ekstraksi remaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan (1:10). Kulit bawang merah diperoleh dari hasil pengumpulan limbah industri bawang goreng rumahan. Kulit bawang merah yang telah dikumpulkan kemudian dicuci hingga bersih, setelah itu dikering anginkan selama 3 hari. Kulit bawang merah yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Sebanyak 50 g serbuk kering simplisia yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam maserator, kemudian direndam dengan 500 ml pelarut etanol 70%. Larutan diaduk selama 1 jam kemudian didiamkan selama kurang lebih 1 jam, diaduk lagi selama 15 menit dan didiamkan

selama 1 jam. Proses ini diulangi sampai 5 kali, larutan kemudian didiamkan selama 1 hari. Setelah itu filtrate disaring dengan kertas saring. Residu yang dihasilkan kemudian di remaserasi sebanyak 2 kali dengan menambahkan 100 ml etanol 70%. Filtrat yang diperoleh dipekatan dengan menggunakan vacum rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat kulit bawang merah.

3.4.3 Perlakuan priming

Benih kedelai sebanyak 30 butir untuk setiap satuan percobaan diberi perlakuan priming dengan menggunakan ekstrak kulit bawang merah dengan konsentrasi sesuai perlakuan yaitu 0% (aquades), 10%, 20% dan 30%, dengan priming sesuai dengan perlakuan yang dicoba yaitu 1, 3 dan 6 jam. Untuk membuat larutan priming dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak kulit bawang merah sesuai dengan perlakuan yang dicoba yaitu 10 g ekstrak kulit bawang merah dilarutkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 ml (10%), 20 g ekstrak kulit bawang merah dilarutkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 ml (20%) dan 30 g ekstrak kulit bawang merah dilarutkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 ml (30%). Setelah selesai proses priming benih sesuai dengan lama waktu yang dicoba, benih dicuci hingga bersih dan kadar air diturunkan seperti kadar air awal dengan cara dikering anginkan pada suhu ruang selama 2x24 jam.

3.4.4 Pengusangan cepat secara fisik

Metode pengusangan cepat secara fisik dilakukan untuk mensimulasi periode simpan benih kedelai yang terjadi secara alami yaitu dengan cara menggunakan suhu 40°C dan kelembaban 100%. Metode ini dilakukan dengan memasukkan benih kedelai sebanyak 25 butir untuk setiap satuan percobaan yang telah disiapkan ke dalam kantung strimin, kemudian disimpan di dalam box plastik berkelembapan 100%. Kondisi tersebut diperoleh dengan mengisi dasar box plastik dengan air setinggi 1 cm, lalu box ditutup rapat, box plastik berisi benih yang telah tertutup rapat, dimasukkan ke dalam oven bersuhu 40°C. Pengusangan dilakukan selama 24 jam. dan perlakuan ini setara dengan lama penyimpanan benih kedelai selama 3 bulan.

3.4.5 Perkecambahan benih di laboratorium

Setelah benih diberi perlakuan priming dan pengusangan cepat secara fisik, benih ditanam dengan menggunakan metode Uji Kertas Digulung didirikan dalam plastik (UKDdp). Benih yang digunakan sebanyak 20 butir benih untuk setiap satuan percobaan. Untuk menjaga agar kondisi perkecambahan tetap optimum, benih dikecambahkan di dalam germinator.

3.5 Parameter pengamatan

3.5.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang adalah pengamatan dimana data yang diperoleh dari hasil penelitian tidak dianalisis secara statistik. Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama penelitian berlangsung. Pengamatan ini terdiri dari pengamatan temperatur dan kelembaban di dalam germinator.

3.5.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang datanya dianalisis secara statistik, pengamatan dilakukan terhadap parameter: daya hantar listrik benih, daya berkecambah, indeks vigor, kecepatan tumbuh, keserempakan tumbuh, panjang akar, panjang hipokotil dan bobot kering kecambah normal (BKKN).

a. Daya hantar listrik benih

Pengujian daya hantar listrik (DHL), dilakukan setelah benih diberi perlakuan pengusangan cepat secara fisik untuk mengetahui adanya kebocoran membran sel yang terjadi di dalam benih akibat perlakuan pengusangan. Benih sebanyak 5 butir dari masing-masing perlakuan ditimbang, kemudian direndam pada gelas plastik tertutup yang berisi 50 ml aquades selama 24 jam. Air hasil rendaman benih diukur dengan menggunakan alat conductivity meter. Untuk nilai blanko juga disiapkan aquades tanpa benih yang disimpan dalam gelas plastik tertutup selama 24 jam. Pengukuran DHL dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Konduktivitas } (\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}) = \frac{\text{nilai konduktivitas } (\mu\text{Scm}) - \text{nilai blanko } (\mu\text{Scm})}{\text{berat benih /ulangan(g)}}$$

b. Daya berkecambah

Daya kecambah diamati berdasarkan jumlah benih yang berkecambah normal pada pengamatan pertama (hari ke-5) dan pengamatan kedua (hari ke-8) dinyatakan dalam persen. Benih dikatakan telah berkecambah normal dilihat dari muncul dan berkembangnya struktur-struktur penting dari embrio yaitu munculnya calon akar (radikula), calon daun (plumula) dan calon batang (hipokotil) serta kotiledon secara sempurna (Ridha, Syahril dan Juanda, 2017). Daya berkecambah dinyatakan dalam persen (%) dan dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya berkecambah (\%)} = \frac{\sum \text{KN pengamatan I} + \sum \text{KN pengamatan II}}{\sum \text{Benih yang diuji}} \times 100\%$$

Keterangan ;

KN : kecambah normal

c. Indeks vigor

Perhitungan indeks vigor dilakukan berdasarkan persentase kecambah normal pada pengamatan pertama (KN hitungan I), yaitu hari ke-5. Indeks vigor dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{IV (\%)} = \frac{\sum \text{KN hitungan I}}{\sum \text{Benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

d. Kecepatan tumbuh

Kecepatan tumbuh dihitung berdasarkan jumlah pertambahan kecambah setiap harinya atau etmal. Pengamatan dihitung setiap hari mulai hari pertama setelah tanam sampai hari terakhir pengamatan. Unit tolak ukur kecepatan tumbuh adalah % per hari atau % per etmal. Kecepatan tumbuh dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kecepatan tumbuh (\%/etmal)} = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} + \dots + \frac{N_n}{D_n}$$

Keterangan :

$N_1 - N_n$ = Jumlah kecambah normal hari ke 1,2,...,8 setelah tanam (%)

$D_1 - D_n$ = Jumlah hari setelah tanam (etmal)

n = Akhir Perkecambahan

e. Keserempakan tumbuh

Pengamatan keserempakan tumbuh dilakukan pada saat benih berumur 1 MST. Penghitungan dilakukan terhadap benih yang telah tumbuh normal (KN).

$$K_{ST}(\%) = \frac{\sum KN}{\sum \text{benih yang diuji}} \times 100\%$$

f. Panjang hipokotil

Panjang hipokotil diukur pada saat pengamatan hari ke-8 dengan cara mengukur hipokotil kecambah normal dari pangkal akar sampai titik tumbuh.

g. Panjang akar

Panjang akar diukur pada saat pengamatan hari ke-8 dengan cara mengukur akar primer kecambah normal dari pangkal akar sampai ujung akar terpanjang.

h. Bobot kering kecambah normal

Pengukuran bobot kering kecambah normal (BKKN) merupakan dilakukan pada akhir pengamatan. Benih yang telah berkecambah normal terlebih dahulu dibuang kotiledonnya dan dibersihkan dari kotoran, kemudian dimasukkan ke dalam kertas amplop dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 2x24 jam. Bobot kering biomassa kecambah normal ditentukan dengan menimbang berat kecambah yang sudah dikeringkan dan dinyatakan dalam satuan gram.