BAB III
METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan tempat percobaan

Percobaan ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai April 2025, bertempat di Laboratorium Produksi Tanaman dan *screen house* Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya, Provinsi Jawa Barat dengan ketinggian tempat 360 mdpl.

3.2. Alat dan bahan percobaan

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini terdiri dari blender, kain saring, ayakan, saringan, corong, *hand sprayer*, kertas, timbangan analitik, timbangan digital, baki perkecambahan, gelas ukur, pipet tetes, spatula, batang pengaduk, *beaker glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *rotary evaporator*, *thermohygrometer*, *seed dryer*, kertas label, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini yaitu benih kedelai varietas Detap-1 umur simpan 9 bulan, GA_3 serbuk, alkohol 96%, HCl pekat, serbuk Magnesium, $FeCl_3$, eceng gondok, tanah, batu bata, pupuk kandang, dan akuades.

3.3. Metode penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 7 perlakuan dan diulang sebanyak 4 kali, sehingga terdapat 28 plot percobaan. Adapun perlakuan yang dicoba yaitu perendaman benih kedelai dengan konsentrasi larutan GA_3 dan ekstrak eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) serta kombinasinya sebagai berikut :

A = Kontrol
B = GA_3 40 ppm
C = GA_3 80 ppm
D = Ekstrak eceng gondok 40 g/L
E = Ekstrak eceng gondok 80 g/L
F = GA_3 20 ppm + Ekstrak eceng gondok 20 g/L
G = GA_3 40 ppm + Ekstrak eceng gondok 40 g/L

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dibuat model linear sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + r_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Hasil pengamatan pada ulangan ke-i perlakuan ke-j

μ : Rata-rata umum

τ_i : Pengaruh perlakuan ke-i

r_j : Pengaruh ulangan ke-j

ε_{ij} : Galat perlakuan

Dari model linier di atas, dapat disusun daftar sidik ragam seperti Tabel 1.

Tabel 1. Daftar sidik ragam

Sumber Ragam	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel			
					5%	10%	15%	20%
Perlakuan	6	$\frac{\sum xi^2}{R} - FK$	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,66	2,13	1,83	1,62
Ulangan	3	$\frac{\sum xi^2}{d} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{KTG}$	3,16	2,42	2,00	1,71
Galat	18	JKT – JKU – JKP	$\frac{JKG}{dbG}$					
Total	27	$\sum X_{ij^2} - FK$						

Sumber: Gomez dan Gomez (2010).

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan pada nilai F hitung dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisa	Kesimpulan Analisa	Keterangan
Fhit ≤ $F_{0,05}$	Tidak berbeda nyata	Tidak terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit > $F_{0,05}$	Berbeda nyata	Terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit ≤ $F_{0,10}$	Tidak berbeda nyata	Tidak terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit > $F_{0,10}$	Berbeda nyata	Terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit ≤ $F_{0,15}$	Tidak berbeda nyata	Tidak terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit > $F_{0,15}$	Berbeda nyata	Terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit ≤ $F_{0,20}$	Tidak berbeda nyata	Tidak terdapat pengaruh antar perlakuan
Fhit > $F_{0,20}$	Berbeda nyata	Terdapat pengaruh antar perlakuan

Sumber: Gomez dan Gomez (2010).

Apabila hasil Uji F menunjukkan pengaruh yang nyata di antara perlakuan maka dilakukan pengujian lanjutan dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf kesalahan 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$\mathrm{LSR} = \mathrm{SSR}\ (\alpha\ \times \mathrm{dbG}\ \times \mathrm{p}) \times \mathrm{S_x}$$

$$\mathrm{S_{\bar{x}}} = \sqrt{\frac{\mathrm{KT\ Galat}}{\mathrm{r}}}$$

Keterangan :

$S_{\bar{x}}$: Galat baku rata-rata (*standard error*)

KT : Kuadrat tengah galat

r : Jumlah ulangan pada nilai tengah perlakuan yang dibandingkan

SSR : *Standarized Significant Range*

α : Taraf nyata

dbg : Derajat bebas galat

p : *Range* (Perlakuan)

LSR : *Least Significant Range*

Sumber: Gomez dan Gomez (2010).

3.4. Prosedur percobaan

3.4.1. Persiapan benih

Benih kedelai diperoleh dari Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Aneka Kacang Badan Standarisasi Instrumen Pertanian (BSIP) Malang. Benih disortasi dengan memisahkannya sesuai ukuran agar adanya keseragaman benih. Benih kedelai yang digunakan berjumlah 1.400 benih.

3.4.2. Persiapan larutan GA_3 dan ekstrak eceng gondok

Sebelum pembuatan larutan, dilakukan perhitungan konsentrasi GA_3 terlebih dahulu. Perhitungan konsentrasi larutan GA_3 untuk 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm dapat dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran dari larutan stok 1.000 ppm. Konsentrasi GA_3 20 ppm didapatkan dengan melakukan pengenceran 5 ml larutan stok dengan 245 ml akuades sehingga diperoleh volume larutan untuk perendaman sebesar 250 ml. Konsentrasi GA_3 40 ppm didapatkan

dengan melakukan pengenceran 10 ml larutan stok dengan 240 ml akuades sehingga diperoleh volume larutan sebesar 250 ml. Adapun untuk konsentrasi GA_3 80 ppm didapatkan dengan melakukan pengenceran 20 ml larutan stok dengan 230 ml akuades sehingga diperoleh volume larutan sebesar 250 ml. Perhitungan kebutuhan GA_3 selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5.

Pembuatan ekstrak eceng gondok dilakukan dengan cara maserasi. Eceng gondok dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dijemur di bawah sinar matahari langsung selama kurang lebih 3 sampai 7 hari hingga kering. Eceng gondok yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh simplisia eceng gondok. Berikutnya simplisia eceng gondok direndam dalam alkohol 96% dengan perbandingan 1:10 (b:v) selama 3 × 24 jam, setelah itu filtratnya disaring dengan menggunakan kain saring. Filtrat hasil penyaringan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Suryaman dkk, 2023). Ekstrak eceng gondok tersebut berikutnya dibuat beberapa taraf konsentrasi untuk digunakan sebagai perlakuan invigorasi, yaitu 20 g/L, 40 g/L, dan 80 g/L. Perhitungan kebutuhan ekstrak eceng gondok selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.4.3. Uji kualitatif kandungan senyawa fitokimia ekstrak eceng gondok

a. Uji kualitatif senyawa flavonoid

   Prosedur pengujian kandungan senyawa flavonoid secara kualitatif mengacu pada penelitian Rumagit, Runtuwene, dan Sudewi (2015) dengan menggunakan ekstrak eceng gondok sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes HCl pekat. Keberadaan flavonoid pekat ditandai terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga.

b. Uji kualitatif senyawa fenol

   Prosedur pengujian kandungan senyawa fenol secara kualitatif mengacu pada penelitian Priyadi dkk. (2021) yaitu dengan menggunakan 5 mg ekstrak eceng gondok yang ditetesi dengan reagen $FeCl_3$. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, hijau kehitaman hingga ungu.

3.4.4. Persiapan media tanam perkecambahan

a. Uji viabilitas benih kedelai

Pengujian viabilitas benih menggunakan media tanam tanah yang dicampur pupuk kandang dengan perbandingan 2:1, ketebalan media tanam 3 cm. Kemudian, diberi label sesuai dengan perlakuan dan disusun sesuai dengan tata letak perlakuan. Benih ditanam sebanyak 25 benih dengan kedalaman 1 cm dan jarak tanam 5 cm × 4 cm tiap satuan percobaan dalam baki perkecambahan berukuran 32 cm × 24 cm.

b. Uji vigor benih kedelai

Pengujian vigor benih menggunakan media tanam batu bata merah yang telah ditumbuk, ketebalan media tanam 3 cm. Kemudian, diberi label sesuai dengan perlakuan dan disusun sesuai dengan tata letak perlakuan. Benih ditanam sebanyak 25 benih dengan kedalaman 1 cm dan jarak tanam 5 cm × 4 cm tiap satuan percobaan dalam baki perkecambahan berukuran 32 cm × 24 cm.

3.4.5. Perendaman benih kedelai

Benih kedelai direndam dengan memasukkan benih ke dalam *beaker glass* berisikan GA_3 pada konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 40 ppm dan 80 ppm dengan durasi selama 9 jam. Setelah direndam benih dibilas menggunakan akuades. Benih kedelai yang berbeda direndam dengan ekstrak eceng gondok dalam konsentrasi 40 g/L dan 80 g/L selama 9 jam. Setelah itu, benih dibilas menggunakan akuades. Benih kedelai yang lainnya direndam dengan larutan GA_3 20 ppm + ekstrak eceng gondok 20 g/L dan larutan GA_3 40 ppm + ekstrak eceng gondok 40 g/L selama 9 jam. Setelah itu, benih dibilas menggunakan akuades (Suryaman dkk, 2023). Pada perlakuan kontrol, benih kedelai tidak dilakukan perendaman.

3.4.6. Penanaman benih

Benih ditanam di dalam baki perkecambahan menggunakan media tanam tanah dan batu bata merah yang telah disiapkan. Penanaman benih dilakukan sebanyak 56 baki. Setiap baki berisi 25 benih dengan masing-masing perlakuan. Pertumbuhan benih diamati selama 12 hari.

3.4.7. Pemeliharaan benih

Pemeliharaan benih terdiri dari penyiraman dan penyiangan gulma. Penyiraman dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari dengan menggunakan *hand sprayer*. Penyiangan gulma dilakukan setiap ada gulma yang tumbuh. Penyiangan bertujuan untuk membersihkan dan mengendalikan tumbuhan pengganggu atau gulma yang tumbuh di sekitar areal perkecambahan kedelai dengan cara mencabut tumbuhan pengganggu di sekitar areal perkecambahan.

3.5. Variabel pengamatan

3.5.1. Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang merupakan pengamatan yang datanya tidak dianalisis secara statistik dan bertujuan untuk mengetahui adanya kemungkinan faktor eksternal yang dapat memengaruhi pertumbuhan di luar perlakuan selama penelitian berlangsung. Pengamatan penunjang terdiri dari suhu ruangan, kelembapan udara, uji kualitatif kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak eceng gondok, serta pengamatan terhadap organisme pengganggu tanaman (OPT).

3.5.2. Pengamatan utama

Pengamatan utama merupakan pengamatan yang dilakukan terhadap setiap variabel yang datanya dianalisis secara statistik untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang diteliti dalam penelitian sebagai berikut:

1. Parameter uji viabilitas
   a. Daya berkecambah (DB)

      Perhitungan daya berkecambah dilakukan pada hari ke-12, kemudian dinyatakan dalam persen (%) sesuai dengan rumus berikut:

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

   b. Kecepatan berkecambah

      Parameter ini dapat dilihat dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah setiap harinya. Pengamatan dihitung setiap hari dimulai dari awal perkecambahan hari pertama sampai berumur 12 hari pada plot perkecambahan. Perhitungan kecambah normal pada setiap pengamatan

dibagi dengan etmal (1 etmal = 24 jam). Uji daya kecambah dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kecepatan berkecambah} = \frac{\%\text{KN}}{\text{E}}$$

$$\%\text{KN} = \frac{\text{Jumlah kecambah hari ke ...}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}}$$

%KN : Kecambah pada hari ke- …

E : Nilai etmal

Menurut Widajati dkk. (2013) kecepatan berkecambah dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kct} = \sum_{i=1}^{n} (\text{KN})i$$

Kct = Kecepatan berkecambah

i = Hari pengamatan

KNi = Kecambah pada hari ke-i (%)

Wi = Waktu (etmal) pada hari ke-i

c. Panjang hipokotil (cm)

Panjang hipokotil diukur dengan menggunakan penggaris pada hari ke-12 setelah tanam. Pengukuran panjang hipokotil dilakukan dari pangkal hipokotil sampai titik tangkai kotiledon.

d. Panjang radikula (cm)

Panjang radikula diukur dengan menggunakan penggaris pada hari ke-12 setelah tanam. Pengamatan radikula dilakukan dengan cara membongkar kecambah pada plot percobaan yang dijadikan tanaman sampel diambil secara acak kemudian dibersihkan dengan menyemprotkan air dari sisa-sisa kotoran sampai bersih, lalu dikering-anginkan. Pengukuran dimulai dari pangkal batang hingga ujung radikula yang terpanjang.

e. Bobot basah kecambah (g)

Bobot basah kecambah dihitung pada akhir penelitian. Penimbangan dilakukan pada sampel bibit terpilih yang telah dibersihkan, kemudian bibit ditimbang menggunakan timbangan analitik. Pengamatan ini dilakukan ketika tanaman berumur 12 hari setelah tanam.

f. Bobot kering kecambah (g)

Perhitungan bobot kering kecambah dilakukan pada akhir penelitian dengan mencabut kecambah dari plot penelitian terlebih dahulu dan dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel di akar, dibungkus dengan menggunakan kertas, kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50° selama 2 × 24 jam sampai beratnya konstan lalu didinginkan. Setelah itu, ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik. Pengamatan dilakukan pada hari ke-12 setelah tanam.

2. Parameter uji vigor

a. Benih vigor (%)

Benih vigor dihitung berdasarkan persentase benih yang tumbuh secara normal pada plot penelitian menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Benih vigor} = \frac{\text{Jumlah kecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Adapun ciri kecambah normal adalah sebagai berikut :

1) Benih yang berkecambah memiliki akar primer yang baik dan normalnya tanaman menghasilkan akar seminal lebih dari dua.
2) Hipokotil berkembang baik dan sempurna tanpa ada kerusakan.
3) Plumula tumbuh dari koleoptil atau epikotil yang sempurna dengan kuncup yang normal (Sutopo, 2002).

b. Benih *loss* vigor (%)

Benih *loss* vigor atau kecambah abnormal diamati pada akhir pengamatan yaitu hari ke-12 setelah tanam. Kecambah abnormal merupakan kecambah yang tidak memperlihatkan potensi untuk berkembang menjadi kecambah normal. Kriteria dari kecambah abnormal antara lain kecambah yang rusak, tanpa kotiledon, embrio yang pecah, dan akar primer pendek (Sutopo, 2002).

Benih *loss* vigor dapat dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\text{Benih } loss \text{ vigor} = \frac{\text{Jumlah kecambah abnormal}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

c. Benih mati (%)

Benih mati diamati pada akhir pengamatan yaitu hari ke-12 setelah tanam. Parameter pengamatan ini dapat dilihat pada benih-benih yang belum tumbuh hingga batas waktu pengujian yang telah ditentukan. Benih mati dan tidak berkecambah dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Benih mati} = \frac{\text{Jumlah benih tidak berkecambah}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$