

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga September tahun 2022. Penanaman dan pengamatan lapangan dilakukan di Desa Geresik Kecamatan Jamanis Kabupaten Tasikmalaya dengan jenis tanah latosol dan ketinggian tempat 500 mdpl. Pengamatan kerapatan stomata daun edamame dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.

3.2 Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah *thermohygrometer*, *chopper*, spatula, corong, botol plastik, toples, gunting, penggaris, meteran, *rotary evaporator*, pipet tetes, mikroskop, gelas objek, timbangan dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah benih edamame kultivar Biomax 2 yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), daun tapak dara, umbi bawang dayak, ethanol 96%, aquadest, kertas saring, selotip, cat kuku bening, *polybag*, tanah, sekam, pupuk kandang ayam dan pupuk NPK.

3.3 Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor:

Faktor A: Jenis agen antimitotik terdiri dari 2 taraf, yaitu:

$$a_1 = \text{Ekstrak daun tapak dara}$$

$$a_2 = \text{Ekstrak umbi bawang dayak}$$

Faktor B: Konsentrasi ekstrak terdiri dari 5 taraf, yaitu:

$$b_0 = 0\% \text{ (kontrol: konsentrasi ekstrak 0% pada saat perendaman benih)}$$

$$b_1 = 0,05\%$$

$$b_2 = 0,1\%$$

$$b_3 = 0,15\%$$

$$b_4 = 0,2\%$$

Sehingga diperoleh 10 kombinasi perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Kombinasi perlakuan antara jenis dan konsentrasi agen antimitotik

Agen antimitotik (A)	Konsentrasi (B)				
	b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	b ₄
a ₁	a ₁ b ₀	a ₁ b ₁	a ₁ b ₂	a ₁ b ₃	a ₁ b ₄
a ₂	a ₂ b ₀	a ₂ b ₁	a ₂ b ₂	a ₂ b ₃	a ₂ b ₄

Pengulangan pada setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali, sehingga jumlah keseluruhan plot ada 30 plot percobaan. Terdapat 6 tanaman pada setiap plot, maka total populasi dan sampel yang diamati yaitu 180 tanaman. Model linier berdasarkan rancangan yang digunakan menurut Gomez dan Gomez (2010) adalah sebagai berikut:

$$\gamma_{ijk} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan

- γ_{ijk} = Hasil pengamatan dari unit percobaan kelompok ke-i dengan perlakuan jenis antimitotik (A) taraf ke-j dan konsentrasi (B) taraf ke-k
- μ = Nilai tengah (rataan) umum
- ρ_i = Pengaruh kelompok ke-i
- α_j = Pengaruh jenis agen antimitotik (A) pada taraf ke-j
- β_k = Pengaruh konsentrasi ekstrak (B) pada taraf ke-k
- $(\alpha\beta)_{jk}$ = Pengaruh interaksi jenis antimitotik (A) taraf ke-j dan konsentrasi (B) taraf ke-k
- ε_{ijk} = Galat dari kelompok ke-i, jenis antimitotik (A) pada taraf ke-j dan konsentrasi (B) taraf ke-k

Data hasil pengamatan disusun dalam tabel sidik ragam untuk mengetahui nilai taraf nyata (Tabel 2) dengan kaidah pengambilan keputusan (Tabel 3).

Tabel 2. Tabel analisis ragam

Sumber ragam	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F 5%
Ulangan	2	$\frac{\sum xi^2}{ab} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{KTG}$	3,55
Perlakuan	9	$\frac{\sum Tij^2}{r} - FK$	$\frac{JPK}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,46
Agen antimitotik (A)	1	$\frac{\sum A^2}{rb} - FK$	$\frac{KTA}{dbA}$	$\frac{KTA}{KTG}$	4,41
Konsentrasi (B)	4	$\frac{\sum B^2}{ra} - FK$	$\frac{KTB}{dbB}$	$\frac{KTB}{KTG}$	2,93
Interaksi (A×B)	4	JKP–JKA–JKB	$\frac{JKAB}{dbAB}$	$\frac{KTAB}{KTG}$	2,93
Galat	18	JKT–JKU– JKP	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total	29	$\sum x_{ij}^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez (2010)

Tabel 3. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil analisis	Kesimpulan analisis	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Berbeda tidak nyata	Tidak ada pengaruh
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda nyata	Ada pengaruh

Sumber: Gomez dan Gomez (2010)

Apabila hasil yang didapat menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji jarak berganda Duncan dengan taraf nyata 5%. Rumus yang digunakan adalah:

$$LSR = SSR \times S_x$$

1. Apabila terjadi interaksi untuk membedakan pengaruh faktor A pada setiap taraf faktor B, dan membedakan pengaruh faktor B pada setiap taraf faktor A, S_x diperoleh dengan rumus berikut:

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

2. Jika tidak terjadi interaksi, S_x diperoleh dengan menggunakan rumus berikut:
 - a. Untuk membedakan pengaruh faktor B pada setiap taraf faktor A, maka digunakan rumus berikut:

$$Sa = \sqrt{\frac{KT Galat}{r \times b}}$$

- b. Untuk membedakan pengaruh faktor A pada setiap taraf faktor B, maka rumus yang digunakan adalah:

$$Sb = \sqrt{\frac{KT Galat}{r \times a}}$$

Keterangan:

LSR = Least Significant Range

SSR = Studentized Significant Range (tabel db Galat dan $\alpha = 5\%$)

S_x = Simpangan baku rata-rata

Sa = Simpangan baku rata-rata Jenis Antimitotik

Sb = Simpangan baku rata-rata Konsentrasi

$KT Galat$ = Kuadrat tengah galat

r = Jumlah ulangan

b = Db perlakuan b

a = Db perlakuan a

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Pembuatan ekstrak daun tapak dara dan bawang dayak

Ekstraksi daun tapak dara dan umbi bawang dayak menggunakan metode maserasi Gupta (2006) yang dimodifikasi oleh Ainurrohmah dan Isnawati (2020). Daun tapak dara dan umbi bawang dayak dikeringkan, kemudian dihaluskan menggunakan *chopper*. Serbuk halus daun (50 g) dan umbi (100 g) masing-masing dilarutkan dalam 0,5 liter dan 1 liter etanol 96%. Merasasi dilakukan selama 48 jam dengan pengadukan yang dilakukan secara berkala, selanjutnya larutan disaring menggunakan kertas saring. Maserat masing-masing kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 60 rpm hingga kandungan etanol menguap dan tersisa ekstrak kental.

3.4.2 Induksi poliploidi

Metode induksi poliploidi yang digunakan dalam penelitian ini adalah perendaman benih. Benih edamame kultivar Biomax 2 sebanyak 36 biji untuk 3 ulangan yang terdiri dari 12 benih per plot (cadangan benih 6 biji per pot) direndam dalam larutan ekstrak sesuai perlakuan masing-masing (10 kombinasi perlakuan) selama 6 jam. Perhitungan konsentrasi ekstrak setiap perlakuan dilakukan dengan teknik pengenceran seperti tercantum pada Lampiran 3.

3.4.3 Analisis tanah

Analisis tanah merupakan salah satu parameter penunjang untuk mengetahui karakteristik tanah sebelum dilakukan percobaan. Sampel tanah yang digunakan untuk percobaan dianalisis di Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi. Karakteristik tanah yang diamati yaitu kadar air, pH, C Organik, N total, rasio C/N, P₂O₅, K₂O.

3.4.4 Penanaman, pemeliharaan, dan panen

a. Penanaman

Benih edamame yang sudah diinduksi sesuai perlakuan ditanam pada *polybag* berukuran 30 × 30 cm yang berisi media tanam yaitu tanah, pupuk kandang ayam dan sekam (perbandingan 2:1:1) yang sudah didiamkan selama 2 pekan. Terdapat 30 plot percobaan dengan 6 *polybag* tanaman pada setiap plot. Penempatan antar

polybag berjarak 10 cm dalam setiap plot, sedangkan jarak antar plot yaitu 20 cm dan jarak antar ulangan yaitu 30 cm (Lampiran 1).

b. Pemeliharaan

Kegiatan pemeliharaan dilakukan untuk menghasilkan tanaman yang tumbuh dan berkembang dengan optimal seperti penyiraman, pemupukan susulan, penyiangan, dan pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT). Penyiraman dilakukan setiap pagi hari. Berdasarkan hasil penelitian Fajrin, Suryawati dan Sucipto (2015), penggunaan pupuk NPK dengan dosis 250 kg/ha menghasilkan rata-rata tertinggi pada pertumbuhan dan produksi tanaman edamame, oleh karena itu dosis pupuk tersebut menjadi acuan pemupukan susulan yang dilakukan pada umur 14 hari setelah tanam (perhitungan pupuk disajikan pada Lampiran 4). Penyiangan dilakukan untuk mengurangi persaingan tanaman dengan gulma dengan membuang gulma yang tumbuh di sekitar tanaman. Pengendalian OPT dilakukan dengan mengambil langsung hama yang menyerang maupun bagian tanaman yang terserang penyakit secara berkala.

c. Panen

Panen dilakukan pada saat edamame berumur 72 hari setelah tanam yaitu saat polong edamame berwarna hijau dan sudah terisi 80-90% biji.

3.5 Parameter pengamatan

3.5.1 Parameter penunjang

Parameter penunjang adalah parameter yang dilakukan pengamatan terhadap variabel yang datanya tidak diuji secara statistik. Pengamatan pada parameter ini memiliki tujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Parameter penunjang pada penelitian ini yaitu:

- a. Hasil analisis tanah percobaan
- b. Curah hujan
- c. Suhu dan kelembapan udara, diukur menggunakan *thermohygrometer*.
- d. Organisme pengganggu tanaman (OPT).

3.5.2. Parameter utama

Parameter utama merupakan parameter yang diamati pada setiap variabel untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang diuji melalui uji statistik.

a. Kerapatan stomata

Prosedur pengamatan stomata mengacu pada Tulay dan Unal (2010) dalam Rahmi dkk. (2019) sebagai salah satu indikasi aktivitas agen antimitotik. Daun edamame (umur 65 hari setelah tanam) pada lapisan epidermis bagian bawah diolesi cat kuku bening dan dibiarkan mengering, kemudian ditempel selotip. Selanjutnya selotip dibuka bersama dengan lapisan cat kuku yang menempel kemudian diletakkan pada gelas preparat untuk diamati menggunakan mikroskop perbesaran 40 kali. Perhitungan kerapatan stomata disajikan pada Lampiran 9.

$$\text{Kerapatan stomata} = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{luas bidang pandang}} \times 100\%$$

Keterangan: luas bidang pandang = $\pi \times r^2 = 0,19625 \text{ mm}^2$

b. Persentase tumbuh benih edamame

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah benih yang tumbuh setelah diberi perlakuan dan ditanam. Persentase tumbuh benih dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Persentase tumbuh benih} = \frac{\text{Jumlah benih yang tumbuh}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

c. Pengamatan karakter fenotipik dan hasil edamame

Pengamatan ini memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi perlakuan yang digunakan terhadap karakter fenotipik dan hasil edamame. Berikut adalah karakter fenotipik dan hasil yang diamati:

1. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah hingga pucuk tanaman edamame menggunakan penggaris dan meteran. Pengamatan tinggi tanaman dilakukan pada umur 15, 30, 45 dan 60 hari setelah tanam (HST).

2. Diameter batang

Diameter batang diukur menggunakan jangka sorong pada 5 cm di atas permukaan tanah. Pengamatan dilakukan pada batang tanaman edamame umur 30 dan 60 HST.

3. Luas daun (cm^2)

Luas daun diukur menggunakan aplikasi digital ImageJ. Daun *trifoliate* ke-4 dan ke-5 di bawah pucuk tanaman diukur pada akhir fase generatif yaitu 65 HST (Witjaksono, 2020).

4. Panjang akar

Pengukuran panjang akar dilakukan pada saat tanaman sudah dipanen (72 HST). Panjang akar diukur menggunakan penggaris dan meteran dari pangkal akar hingga ujung akar edamame.

5. Panjang polong per tanaman

Pengukuran panjang polong dilakukan setelah panen. Polong pada setiap tanaman diukur dari pangkal hingga ujung polong menggunakan penggaris.

6. Jumlah polong muda per tanaman

Jumlah polong dihitung pada setiap tanaman yang dilakukan setelah panen.

7. Bobot polong muda per tanaman

Polong muda edamame pada setiap tanaman dilepaskan dari ranting, kemudian total polong per tanaman ditimbang menggunakan timbangan.

8. Bobot per 100 polong muda

Sebanyak 100 polong muda edamame pada setiap perlakuan ditimbang menggunakan timbangan.