BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat percobaan

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Februari 2025 di Laboratorium Produksi Tanaman dan *screen house* Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi, Kelurahan Mugarsari, Kecamatan Tamansari, Kota Tasikmalaya, dengan ketinggian 351 meter di atas permukaan laut (mdpl).

3.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam percobaan adalah plastik *zipper*, *cup* plastik, pisau, toples, gelas ukur, baki perkecambahan ukuran 32 cm x 24 cm, timbangan analitik, *thermohygrometer*, *seed dryer*, *hand sprayer*, lumpang kayu, kain saring, kertas label, penggaris dan alat tulis.

Adapun bahan yang digunakan dalam percobaan adalah benih kedelai varietas Dering 1 (Lampiran 1) dengan umur simpan lebih dari 5 bulan, aquadest, tanah, pupuk kandang, batu bata merah, vitamin C, buah mengkudu, kulit buah manggis, kulit buah nanas dan kulit buah mangga.

3.3 Rancangan percobaan

Metode yang digunakan dalam percobaan ini adalah metode eksperimen, dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 5 perlakuan, diulang sebanyak 5 kali dan terdapat 25 plot percobaan. Perlakuan invigorasi pada benih kedelai dalam percobaan ini adalah sebagai berikut:

A = Perendaman benih dengan asam askorbat
B = Perendaman benih dengan ekstrak buah mengkudu
C = Perendaman benih dengan ekstrak kulit buah manggis
D = Perendaman benih dengan ekstrak kulit buah nanas
E = Perendaman benih dengan ekstrak kulit buah mangga

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan model linier rancangan sebagai berikut:

$Y_{ij} = \mu + T_i + B_{j+} \epsilon_{ij}$

Keterangan :

Y_{ij} = nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
M = nilai rata-rata umum
T_i = pengaruh perlakuan ke-i
Bj = pengaruh ulangan ke-j
ϵ_{ij} = pengaruh faktor random terhadap perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Berdasarkan model linear di atas, dapat disusun daftar sidik ragam sebagai berikut:

Tabel 1. Daftar Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fhit	F0,05
Ulangan	4	$\frac{\sum xi^2}{r} - FK$	$\frac{JKU}{dbU}$	$\frac{KTU}{KTG}$	3,63
Perlakuan	4	$\frac{\sum xi^2}{r} - FK$	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,59
Galat	16	JKT-JKU-JKP	$\frac{JKG}{dbG}$		
Total	24	$\sum XiJi - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez (2015).

Tabel 2. Kaidah Pengambilan Keputusan

Hasil analisis	Kesimpulan analisis	Keterangan
F hit ≤ 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).

Apabila berpengaruh nyata, dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5 % dengan rumus sebagai berikut:

$LSR = SSR \times S_{\bar{X}}$

$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$

$SSR(\alpha.\, dbg.\, p)$

Keterangan :

LSR = *Least Significant Ranges*
SSR = *Significant Studentized Ranges*
$S_{\bar{X}}$ = galat baku rata-rata
KTG = Kuadrat Tengah Galat
r = jumlah ulangan pada tiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan
a = taraf nyata
dbg = Derajat Bebas Galat
p = perlakuan

3.4 Pelaksanaan percobaan

3.4.1 Persiapan benih

Benih kedelai yang digunakan dalam percobaan yaitu varietas Dering 1, yang berasal dari Badan Standardisasi Instrumen Pertanian (BSIP) Aneka Kacang, Kabupaten Malang. Benih tersebut merupakan benih yang sudah kadaluarsa yang telah mengalami masa simpan selama lebih dari 5 bulan. Benih tersebut lalu disortir dan dibersihkan untuk dijadikan bahan percobaan. Benih yang digunakan sejumlah 25 butir pada setiap satuan percobaan yang terdiri dari uji viabilitas dan uji vigor, sehingga total kebutuhan benih dalam percobaan ini adalah 1.250 benih.

3.4.2 Uji daya kecambah benih

Benih kedelai yang digunakan diuji terlebih dahulu untuk mengetahui daya kecambahnya dan benih dikecambahkan pada baki perkecambahan ukuran 32 cm x 24 cm selama 7 hari dan dihitung daya kecambahnya.

3.4.3 Ekstraksi bahan antioksidan alami

Bahan antioksidan alami yang digunakan adalah vitamin C, ekstrak dari buah mengkudu, ekstrak kulit buah manggis, ekstrak kulit buah nanas dan ekstrak kulit buah mangga.

a. Vitamin C

Ekstraksi dilakukan dengan merendam vitamin C sebanyak 150 gram dan ditambahkan aquadest 350 ml sebagai pelarut hingga terendam, lalu didiamkan selama 24 jam ditempat yang terlindung sinar matahari sambil sesekali diaduk selama beberapa kali dan kemudian disaring sehingga didapatkan ekstrak vitamin C.

b. Buah mengkudu

Ekstraksi buah mengkudu dilakukan dengan cara perendaman dengan kriteria buah mengkudu yang sudah matang pohon. Buah mengkudu dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan dikeringkan sampai benar-benar kering menggunakan *seed dryer* dengan suhu 50 ^{o}C selama 48 jam. Sampel yang sudah kering dihaluskan dengan ditumbuk menggunakan alat lumpang kayu hingga menjadi serbuk. Pada tahap penghalusan, serbuk disaring menggunakan ayakan untuk mendapatkan ukuran partikel yang lebih halus sebanyak 150 gram. Setelah itu, ditambahkan aquadest 350 ml hingga seluruh serbuk terendam, lalu diamkan selama 24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari sambil diaduk beberapa kali. Selanjutnya, disaring larutan tersebut untuk memperoleh ekstrak buah mengkudu.

c. Kulit buah manggis

Ekstraksi dilakukan dengan mencuci bersih kulit manggis hingga bersih dari getah dan kotoran. Kemudian dipotong kecil-kecil lalu iris kulit menjadi bagian kecil supaya mudah kering. Kemudian dikeringkan menggunakan alat *seed dryer* dengan suhu 50 ^{o}C selama 48 jam, lalu dihaluskan kulit manggis yang sudah kering dengan ditumbuk, selama proses penghalusan kulit manggis disaring supaya menjadi serbuk dengan ukuran yang kecil sebanyak 150 gram. Setelah itu, ditambahkan aquadest 350 ml sebagai pelarut sampai terendam dan didiamkan selama 24 jam terlindung dari sinar

matahari sambil berkali-kali dan disaring serbuk kulit manggis dengan saringan dan didapatkan ekstrak kulit manggis.

d. Kulit buah nanas

Ekstraksi dilakukan dengan membersihkan kulit nanas dari kotoran. Setelah itu, dipotong-potong menjadi bagian kecil agar proses pengeringan lebih mudah. Kemudian kulit nanas dikeringkan menggunakan alat *seed dryer* pada suhu 50°C selama 48 jam. Setelah kering, kulit nanas dihaluskan dengan cara ditumbuk. Selama proses penghalusan, dilakukan pengayakan agar diperoleh serbuk dengan ukuran lebih halus sebanyak 150 gram. Kemudian ditambahkan aquadest 350 ml sebagai pelarut sampai terendam dan didiamkan selama 24 jam terlindung dari sinar matahari sambil berkali-kali diaduk kemudian disaring larutan tersebut untuk mendapatkan ekstrak kulit nanas.

e. Kulit buah mangga

Ekstraksi dilakukan dengan membersihkan dan mencuci kulit buah mangga di bawah air mengalir, kulit dipotong menjadi bagian kecil-kecil lalu dikeringkan hingga benar-benar kering menggunakan alat *seed dryer* dengan suhu 50 ^{o}C selama 48 jam. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan dengan cara ditumbuk hingga berbentuk serbuk. Selama proses penghalusan, serbuk disaring menggunakan ayakan guna memperoleh partikel yang lebih halus sebanyak 150 gram. Selanjutnya ditambahkan aquadest 350 ml hingga serbuk terendam seluruhnya, lalu didiamkan selama 24 jam di tempat yang tidak terkena sinar matahari sambil diaduk sesekali. Setelah perendaman selesai, larutan tersebut disaring untuk mendapatkan ekstrak kulit mangga.

3.4.4 Perlakuan benih kedelai

Benih kedelai diberi perlakuan melalui perendaman dengan asam askorbat, ekstrak buah mengkudu, ekstrak kulit manggis, ekstrak kulit nanas dan ekstrak kulit buah mangga dengan konsentrasi 30% dan ditambahkan aquades hingga 350 ml. Setiap

perlakuan terdiri dari 25 benih kedelai, kemudian benih dimasukkan ke dalam *cup* plastik yang sudah berisi beberapa ekstrak. Benih direndam selama 12 jam pada suhu ruangan.

3.4.5 Persiapan media tanam

a. Uji viabilitas

Media tanam yang digunakan adalah tanah yang dicampur dengan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1, media tanam dimasukan dalam baki plastik, dengan ketebalan media tanam 3 sampai 5 cm. Baki plastik diberi label sesuai dengan perlakuan, kemudian disusun sesuai tata letak perlakuan.

b. Uji vigor

Pada uji vigor media tanam yang digunakan adalah batu bata merah yang dihaluskan. Pengamatan dilakukan terhadap persentase benih berkecambah normal, abnormal dan kecambah tidak tumbuh.

3.4.6 Penanaman

Benih kedelai yang telah diberikan perlakuan dikeringanginkan pada suhu ruang. Kemudian benih dikecambahkan di atas media tanah dan batu bata merah yang dihaluskan pada baki perkecambahan.

3.4.7 Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan untuk menjaga kondisi benih dan media tanam tetap dalam keadaan yang baik serta mengamati adanya organisme pengganggu tanaman (OPT). Kegiatan pemeliharaan yang dilakukan antara lain:

a. Penyiraman

Penyiraman dilakukan untuk menjaga agar benih yang sedang diuji tidak mengalami kekeringan. Penyiraman dilakukan dua kali sehari, pagi dan sore hari dengan menggunakan *hand sprayer*. Jika media tanamnya agak kering penyiraman dilakukan cukup sehari sekali pada sore hari. Jika kondisi agak lembap maka penyiraman dilakukan cukup sehari atau dua hari sekali, sehingga

tempat persemaian tetap dalam kondisi kapasitas lapang.

b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan untuk menghilangkan gulma yang tumbuh pada media tanam dengan cara mencabut setiap gulma yang tumbuh.

c. Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian hama dan penyakit tanaman dilakukan jika terlihat ada gejala hama maupun penyakit yang menyerang tanaman.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang adalah pengamatan yang datanya tidak dianalisis secara statistik. Pengamatan penunjang ini bertujuan untuk mengetahui faktor–faktor eksternal yang mungkin berpengaruh selama percobaan berlangsung. Pengamatan penunjang percobaan terdiri dari pengamatan suhu, kelembapan udara, vigor benih dan organisme pengganggu tanaman (OPT).

3.5.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang datanya dianalisis secara statistik. Parameter yang diamati yaitu:

3.5.2.1 Parameter viabilitas benih

a. Daya berkecambah

Pengamatan daya berkecambah dilakukan terhadap benih yang telah berkecambah normal yaitu pada hari ke 7 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 dkk., 2017) dan dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya kecambah} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah}}{\text{Jumlah benih yang dikecambah}} \times 100\%$$

b. Kecepatan berkecambah

Kecepatan berkecambah dihitung berdasarkan biji yang berkecambah normal setiap hari sampai hari ke 7 HST. Dengan penghitungan rumus kecepatan berkecambah (Widajati dkk, 2013) sebagai berikut:

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

Keterangan: Kct = kecepatan berkecambah;
i = hari pengamatan;
KN_i = kecambah normal pada hari ke-I (%);
W_i = Waktu (etmal) pada hari ke-i.

Hari mulai berkecambah adalah rata-rata waktu ketika benih mulai memunculkan kecambah normal. Lama berkecambah adalah rata-rata lamanya perkecambahan, mulai dari tumbuhnya kecambah normal sampai pengamatan diakhiri.

c. Panjang radikula

Pengamatan panjang radikula dilakuakan dengan cara membongkar kecambah yang dijadikan tanaman sampel. Radikula dicuci bersih dengan cara menyemprotkan air sampai sisa-sisa pasir hilang dan akar menjadi bersih, setelah itu dikering anginkan, lalu pengukuran dilakukan mulai pangkal batang sampai ujung radikula terpanjang. Pengamatan panjang radikula dilakukan pada saat akhir pengamatan, yaitu pada 7 HST.

d. Panjang plumula

Pengukuran panjang plumula dilakukan menggunakan penggaris dengan cara mengukur plumula kecambah dari pangkal batang (permukaan tanah) sampai titik tumbuh. Pengamatan panjang plumula dilakukan pada saat akhir pengamatan, yaitu pada 7 HST.

e. Bobot kering kecambah normal

Penimbangan bobot kering kecambah dilakukan dengan cara membersihkan akar dari media tanam maupun kotoran yang menempel, lalu kecambah dikeringkan dalam *seed dryer* yang bersuhu 50 ºC selama 48 jam kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Pengamatan dilakukan pada akhir percobaan, yaitu pada 7 HST.