

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2022 sampai bulan Februari 2023. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu : toples, sprayer, erlenmeyer, spatula, rotary evaporator, gelas ukur, mikro pipet, blender, germinator, pisau, tabung reaksi, timbangan analitik, alat tulis kantor (ATK), alat dokumentasi.

Bahan yang diperlukan antara lain : benih kedelai varietas Detap 1 dan Grobogan, kulit buah naga merah, kulit nanas madu yang sudah matang dan berwarna kuning, *arabic gum*, aquades, plastik klip, plastik pp, kertas buram, etanol 96%, air, kain saring, alumunium foil.

3.3. Tahapan Penelitian

3.3.1. Preparasi Sampel Kulit Buah Naga dan Kulit Nanas

Preparasi sampel kulit buah naga dan kulit nanas dilakukan dengan mencuci sampel kulit menggunakan air hingga bersih. Kemudian sampel yang sudah bersih diiris kecil-kecil, lalu dikeringangkan pada suhu ruang. Lalu sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk.

3.3.2. Ekstraksi Sampel dan Uji Kadar Antioksidan pada Ekstrak Kulit Buah Naga dan Kulit Nanas

Metode ekstraksi sampel kulit buah naga dan kulit nanas yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sampel serbuk kulit buah naga dan kulit nanas masing-masing sebanyak 200 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan direndam dengan pelarut etanol sebanyak 600 ml kemudian ditutup dengan alumunium foil dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, sampel disaring menggunakan kain saring (Hatam *et al*, 2013). Filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan rotary evaporator. Kemudian ekstrak kulit buah naga dan ekstrak kulit nanas diuji kadar antioksidannya menggunakan uji DPPH (1,1 Diphenyl-2-Picryl Hydrazil).

3.3.3. Benih Sumber

Benih kedelai yang digunakan yaitu varietas Detap 1 dan Grobogan dengan kelas mutu benih dasar (FS). Benih kedelai berasal dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI) Malang. Kedelai varietas Detap 1 diperpanjang pada tanggal 24 Mei 2022. Kedelai varietas Grobogan diperpanjang pada tanggal 15 Mei 2022. Benih yang telah didapatkan, kemudian disimpan dalam wadah plastik pada suhu ruang (20° - 25°C) hingga benih digunakan untuk penelitian.

3.3.4. Uji Pendahuluan

Sebelum perlakuan benih, dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan meliputi penentuan kadar air, indeks vigor, kecepatan tumbuh, daya berkecambah, potensi tumbuh maksimum, dan keserempakan tumbuh. Penentuan kadar air dilakukan dengan cara menimbang cawan kosong, kemudian menimbang cawan dengan benih, setelah ditimbang lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105° C dalam keadaan tutup cawan terbuka selama 24 jam, kemudian menimbang kembali cawan yang telah dioven dan menghitung menggunakan rumus. Penentuan indeks vigor benih dilakukan dengan mengamati perkecambahan hari pertama (hari ke-5), kemudian dihitung dengan rumus. Kecepatan tumbuh ditentukan dengan mengamati kecambah normal setiap etmal (24 jam) dari hari ke-1 sampai hari ke-8, kemudian dihitung dengan rumus. Penentuan daya berkecambah dilakukan dengan cara mengamati kecambah normal pada pengamatan pertama (hari ke-5) dan pengamatan hari terakhir (hari ke-8), kemudian dihitung menggunakan rumus. Penentuan potensi tumbuh maksimum benih mengamati jumlah benih yang tumbuh dari hari ke-1 sampai hari ke-8, kemudian dihitung dengan rumus. Keserempakan tumbuh ditentukan dengan mengamati benih yang tumbuh diantara hari pertama (hari ke-5) dan hari terakhir (hari ke-8), kemudian dihitung menggunakan rumus.

3.3.5. Persiapan Bahan *Coating*

Bahan *coating* yang digunakan pada penelitian ini yaitu *arabic gum* + ekstrak kulit buah naga dan ekstrak kulit nanas. Konsentrasi *arabic gum* yang digunakan yaitu 3% (Agustiansyah, 2016). Konsentrasi ekstrak kulit buah yang digunakan yaitu 1%, 3% (Agustiansyah, 2016), serta 5% (Zumani dan Suryaman, 2020). Perbandingan benih dengan bahan *coating* adalah 10 : 1 (g/ml) (Khodijah *et al*,

2009).

Tabel 1. Kebutuhan *Arabic Gum* dan Ekstrak Kulit Buah pada Benih Kedelai Vrietas Detap 1

| Kode | V1K1 | V1K2 | V1K3 | V1K4 | V1K5 | V1K6 | V1K7 |
|----------------------------|------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <i>Arabic gum</i> | - | 0,56 g |
| Aquades | - | 18,57 ml | 18,58 ml | 18,58 ml | 18,57 ml | 18,57 ml | 18,57 ml |
| Ekstrak kulit buah naga 1% | - | 185,7 µl | - | - | - | - | - |
| Ekstrak kulit buah naga 3% | - | - | 557,1 µl | - | - | - | - |
| Ekstrak kulit buah naga 5% | - | - | - | 928,5 µl | - | - | - |
| Ekstrak kulit nanas 1% | - | - | - | - | 185,7 µl | - | - |
| Ekstrak kulit nanas 3% | - | - | - | - | - | 557,1 µl | - |
| Ekstrak kulit nanas 5% | - | - | - | - | - | - | 928,5 µl |

Tabel 2. Kebutuhan *Arabic Gum* dan Ekstrak Kulit Buah pada Benih Kedelai Vrietas Grobogan

| Kode | V2K1 | V2K2 | V2K3 | V2K4 | V2K5 | V2K6 | V2K7 |
|----------------------------|------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <i>Arabic gum</i> | - | 0,60 g |
| Aquades | - | 19,95 ml |
| Ekstrak kulit buah naga 1% | - | 199,5 µl | - | - | - | - | - |
| Ekstrak kulit buah naga 3% | - | - | 598,5 µl | - | - | - | - |
| Ekstrak kulit buah naga 5% | - | - | - | 997,5 µl | - | - | - |
| Ekstrak kulit nanas 1% | - | - | - | - | 199,5 µl | - | - |
| Ekstrak kulit nanas 3% | - | - | - | - | - | 598,5 µl | - |
| Ekstrak kulit nanas 5% | - | - | - | - | - | - | 997,5 µl |

3.3.6. Pelapisan Benih

Proses pelapisan benih dilakukan secara manual. *Arabic gum* 3% (Agustiansyah, 2016) dilarutkan dengan aquades. *Arabic gum* yang sudah larut dicampur dengan antioksidan sesuai dengan konsentensi yaitu 1%, 3% (Agustiansyah, 2016), dan 5% (Zumani dan Suryaman, 2020) kemudian diaduk hingga homogen. Memasukkan campuran *arabic gum* + antioksidan yang telah homogen ke dalam kantong plastik. Benih dimasukkan ke dalam kantong plastik yang sudah diberi larutan *arabic gum* + antioksidan. Perbandingan benih varietas Detap 1 dengan bahan *coating* yaitu 185,7 g : 18,57 ml dan untuk benih varietas Grobogan, perbandingan benih dengan bahan *coating* yaitu 199,5 g : 19,95 ml. Berikan rongga udara dan tutup rapat, kemudian kocok kantong plastik berisi benih dan larutan *arabic gum* + antioksidan menggunakan tangan hingga larutan menempel rata pada benih. Mengeringangkan benih yang telah terlapisi larutan *arabic gum* + antioksidan dengan cara meratakan benih di atas loyang hingga kering (Supandji dan Muhamarram, 2021).

3.3.7. Penyimpanan

Benih yang telah *dicoating*, dimasukkan kedalam plastik klip dan diberi label sesuai perlakuan kemudian disimpan ke dalam toples tidak kedap udara. Benih yang telah dikemas diletakkan pada rak penyimpanan dalam suhu ruang dengan periode simpan hingga 3 bulan dan dilakukan uji viabilitas benih setiap 2 minggu sekali.

3.3.8. Variabel Pengamatan

Benih yang diuji adalah benih yang telah disimpan : 0 minggu, 2 minggu, 4 minggu, 6 minggu, 8 minggu, 10 minggu, dan 12 minggu atau dilakukan pengamatan sebanyak 7 kali. Benih diuji menggunakan metode Uji Kertas Digulung didirikan dalam plastik (UKDdp). Benih sebanyak 25 butir tiap ulangan dikecambahan untuk setiap satuan percobaan. Untuk menjaga agar kondisi perkecambahan tetap optimum, benih yang sudah ditanam ditempatkan di dalam germinator. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan pengamatan parameter-parameter sebagai berikut:

3.3.8.1. Kadar Air (%)

Menimbang benih kedelai \pm 5 g (ISTA, 2006). Menimbang cawan kosong (M1), kemudian menimbang cawan dengan benih (M2), setelah ditimbang lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105^o C dalam keadaan tutup cawan terbuka selama 24 jam, kemudian menimbang kembali cawan yang telah dioven (M3) dan menghitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$KA = \frac{(M2 - M3)}{(M2 - M1)} \times 100\%$$

Keterangan :

KA = Kadar Air (%)

M1 = Berat cawan + tutup (g)

M2 = Berat cawan + tutup + benih sebelum dioven (g)

M3 = Berat cawan + tutup + benih setelah dioven (g).

3.3.8.2. Indeks Vigor (%)

Indeks vigor dihitung berdasarkan pengamatan yaitu hari pertama perkecambahan (hari ke-5). Pengamatan indeks vigor dihitung dengan menghitung persentase kecambah normal pada hari pertama perkecambahan (hari ke-5). Perhitungan indeks vigor dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut (Sadjad *et al*, 1999) :

$$IV = \frac{\text{Jumlah Kecambah Normal Pertama}}{\text{Jumlah Benih yang Ditanam}} \times 100\%$$

Keterangan :

IV = Indeks Vigor (%).

3.3.8.3. Kecepatan Tumbuh (%/etmal)

Kecepatan tumbuh menunjukkan benih yang memiliki vigor tinggi, pengujian kecepatan tumbuh dilakukan dengan menghitung jumlah kecambah normal setiap etmal (24 jam) mulai dari hari pertama hingga hari ke-8. Kecepatan tumbuh dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Sadjad *et al*, 1999) :

$$K_{CT} = \left(\frac{KN_1}{\text{jumlah benih yang ditanam}} \right) + \dots + \left(\frac{KN_n}{\text{jumlah benih yang ditanam}} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

K_{CT} = Kecepatan Tumbuh (%/etmal)

KN 1 = Jumlah kecambah normal pertama

KN n = Jumlah kecambah normal muncul ke 2, 3, 4, dan seterusnya.

3.3.8.4. Daya Berkecambah (%)

Pengamatan daya berkecambah benih dilakukan ketika benih mulai berkecambah normal pada pengamatan pertama (hari ke-5) dan pengamatan hari terakhir (hari ke-8) setelah perkecambahan. Perhitungan daya berkecambah benih digunakan rumus sebagai berikut (Sadjad *et al*, 1999) :

$$DB = \frac{Jumlah KN Pengamatan Pertama+Terakhir}{Jumlah Benih yang Ditanam} \times 100\%$$

Keterangan :

DB = Daya Berkecambah (%)

KN = Kecambah normal.

3.3.8.5. Potensi Tumbuh Maksimum (%)

Potensi tumbuh maksimum pada benih diperoleh dengan cara mengetahui jumlah benih yang menunjukkan gejala pertumbuhan dengan ciri munculnya radikula atau plumula yang menembus kulit benih. Potensi tumbuh maksimum dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Sadjad *et al*, 1999) :

$$PTM = \frac{Jumlah Benih Tumbuh}{Jumlah Benih yang Ditanam} \times 100\%$$

Keterangan :

PTM = Potensi Tumbuh Maksimum (%).

3.3.8.6. Keserempakan Tumbuh (%)

Keserempakan tumbuh benih dihitung berdasarkan persentase kecambah normal pada hari ke- 7. Keserempakan tumbuh dihitung dengan rumus (Sa'adati *et al*, 2023) :

$$KST = \frac{Jumlah KN hari ke-7}{Jumlah Benih yang Ditanam} \times 100\%$$

Keterangan :

K_{ST} = Keserempakan Tumbuh (%)

KN = Kecambah normal.

3.4. Rancangan Penelitian

3.4.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Faktor pertama adalah varietas kedelai yang terdiri atas dua varietas yaitu varietas Detap 1 (V1) dan varietas Grobogan (V2). Faktor kedua adalah jenis antioksidan dan konsentrasi antioksidan yang digunakan, terdiri atas 7 taraf yaitu tanpa *coating* (K1), ekstrak kulit buah naga 1% (K2), ekstrak kulit buah naga 3% (K3), ekstrak kulit buah naga 5% (K4), ekstrak kulit nanas 1% (K5), ekstrak kulit nanas 3% (K6), dan ekstrak kulit nanas 5% (K7). Masing-masing perlakuan dikombinasikan sehingga didapatkan 14 kombinasi perlakuan. Masing-masing kombinasi perlakuan benih diulang 3 kali sehingga terdapat 42 satuan percobaan. Setiap ulangan terdiri atas 25 benih, maka total terdapat 1.050 satuan pengamatan.

Tabel 3. Kombinasi Perlakuan Varietas Kedelai dengan Jenis Antioksidan dan Konsentrasi

| | K1 | K2 | K3 | K4 | K5 | K6 | K7 |
|----|------|------|------|------|------|------|------|
| V1 | V1K1 | V1K2 | V1K3 | V1K4 | V1K5 | V1K6 | V1K7 |
| V2 | V2K1 | V2K2 | V2K3 | V2K4 | V2K5 | V2K6 | V2K7 |

Keterangan :

V1K1 = Kedelai varietas Detap 1 tanpa *coating*

V1K2 = Kedelai varietas Detap 1 diberi antioksidan ekstrak kulit buah naga 1%

V1K3 = Kedelai varietas Detap 1 diberi antioksidan ekstrak kulit buah naga 3%

V1K4 = Kedelai varietas Detap 1 diberi antioksidan ekstrak kulit buah naga 5%

V1K5 = Kedelai varietas Detap 1 diberi antioksidan ekstrak kulit nanas 1%

V1K6 = Kedelai varietas Detap 1 diberi antioksidan ekstrak kulit nanas 3%

V1K7 = Kedelai varietas Detap 1 diberi antioksidan ekstrak kulit nanas 5%

V2K1 = Kedelai varietas Grobogan tanpa *coating*

V2K2 = Kedelai varietas Grobogan diberi antioksidan ekstrak kulit buah naga 1%

V2K3 = Kedelai varietas Grobogan diberi antioksidan ekstrak kulit buah naga 3%

V2K4 = Kedelai varietas Grobogan diberi antioksidan ekstrak kulit buah naga 5%

V2K5 = Kedelai varietas Grobogan diberi antioksidan ekstrak kulit nanas 1%

V2K6 = Kedelai varietas Grobogan diberi antioksidan ekstrak kulit nanas 3%

V2K7 = Kedelai varietas Grobogan diberi antioksidan ekstrak kulit nanas 5%.

3.4.2. Metode Analisis Data

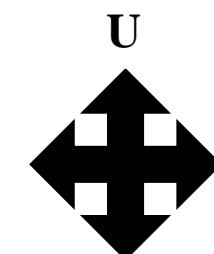
Data pengamatan dalam bentuk anova yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara faktor V (Varietas) dan K (Konsentrasi Antioksidan), kemudian dilanjutkan dengan uji banding model DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%, untuk mengetahui perlakuan mana yang terbaik.

3.5. Denah Percobaan

Denah percobaan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial pada penelitian ini sebagai berikut :

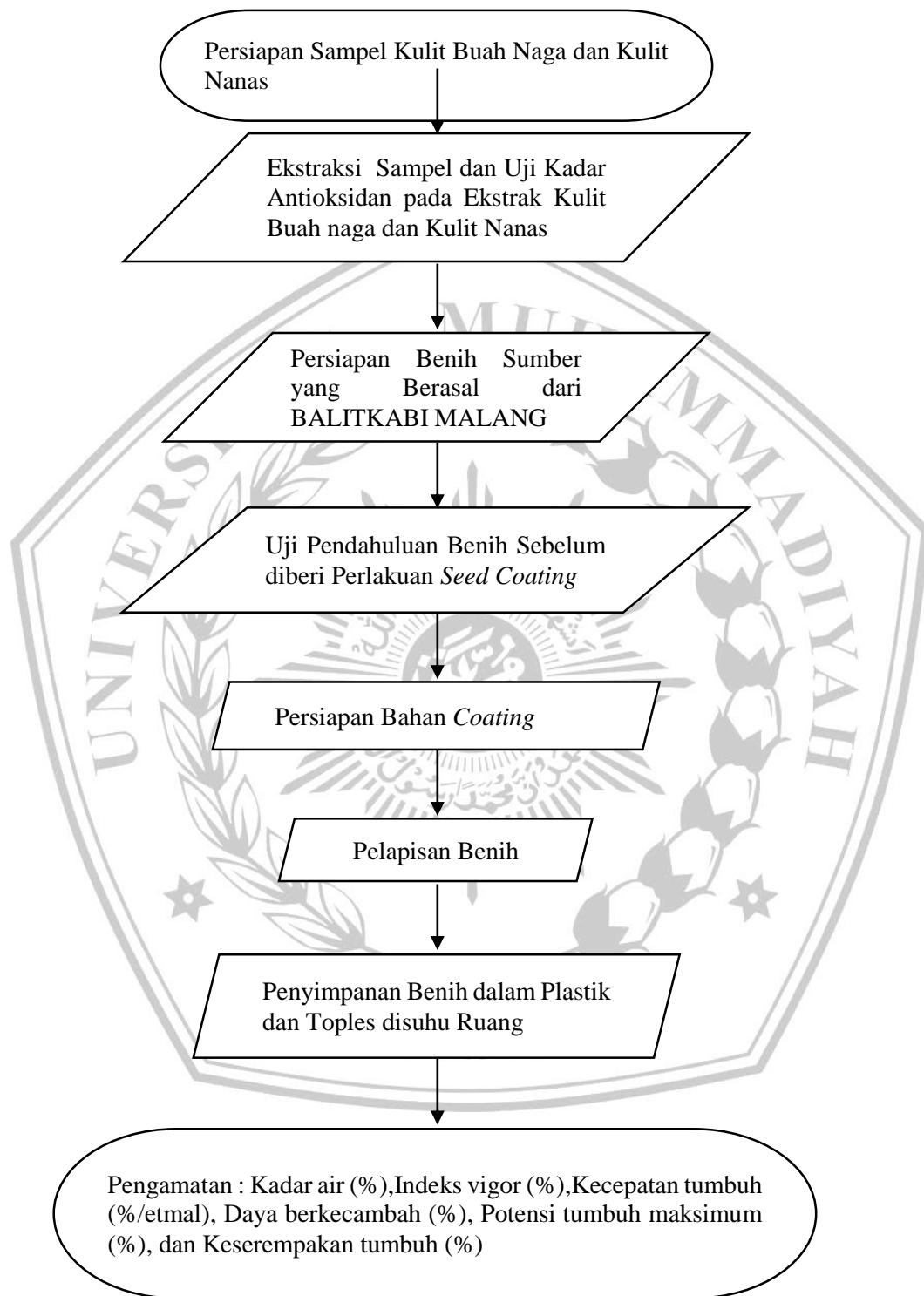
| | | | | | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| V1K1(I) | V1K3(I) | V1K4(II) | V1K3(III) | V2K4(I) | V2K3(II) | V2K6(II) |
| V1K5(III) | V2K2(I) | V2K3(I) | V2K2(III) | V2K1(II) | V1K2(III) | V1K2(II) |
| V2K4(II) | V1K1(II) | V1K5(II) | V2K5(III) | V1K4(III) | V1K6(II) | V2K4(III) |
| V1K2(I) | V1K4(I) | V2K1(I) | V1K6(III) | V1K7(II) | V2K5(II) | V1K5(I) |
| V1K7(III) | V1K6(I) | V2K5(III) | V2K1(II) | V1K7(I) | V2K5(I) | V2K6(III) |
| V2K1(III) | V2K7(III) | V2K7(II) | V1K1(III) | V2K6(I) | V1K3(II) | V2K7(I) |

Gambar 11. Denah Percobaan



3.6. Diagram Alir Penelitian

Tahapan penelitian dapat diuraikan dalam diagram alir sebagai berikut :



Gambar 12. Diagram Alir Penelitian