

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi larutan PEG 6000 (K) terdiri dari 4 taraf perlakuan. Faktor kedua adalah lama perendaman (L) di dalam larutan PEG 6000 yang terdiri dari 3 taraf perlakuan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah hasil kombinasi antar faktor dari seluruh taraf perlakuan. Dengan demikian, dalam penelitian ini terdapat 4 x 3 kombinasi atau 12 kombinasi.

Faktor I adalah konsentrasi *polietilena glikol* (PEG) terdiri dari 4 perlakuan yaitu:

K0 = Kontrol (0 %)

K1 = PEG dengan konsentrasi 2,5%

K2 = PEG dengan konsentrasi 5%

K3 = PEG dengan konsentrasi 7,5%

Faktor II adalah lama perendaman (L) yang terdiri dari 3 perlakuan yaitu:

L1 = 3 jam

L2 = 6 jam

L3 = 9 jam

Menurut Hanafiah (2009), penentuan banyaknya ulangan menggunakan rumus seperti berikut: $(t-1)(r-1) \geq 15$

Keterangan: t = Treatment / perlakuan

r = Replikasi / ulangan

Berdasarkan rumus diatas, maka perlakuan dalam penelitian ini masing-masing dilakukan dalam 3 kali ulangan, sehingga secara keseluruhan menghasilkan 36 kombinasi perlakuan, yaitu 3x12 kombinasi perlakuan atau 4x3x3 unit percobaan.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan antara konsentrasi dan lama perendaman

Lama Perendaman (L)	Konsentrasi (K)			
	K0	K1	K2	K3
L1	L1K0	L1K1	L1K2	L1K3
L2	L2K0	L2K1	L2K2	L2K3
L3	L3K0	L3K1	L3K2	L3K3

3.2 Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang di teliti terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat, yaitu:

- a. Variabel bebas meliputi: konsentrasi PEG 6000 yang terdiri dari K0 = 0% (kontrol), K1 = 2,5%, K2 = 5%, dan K3 = 7,5%, dan lama perendaman terdiri dari L1 = 3 jam, L2 = 6 jam, dan L3 = 9 jam.

- b. Variabel terikat yaitu meliputi: viabilitas benih kacang hijau (*Vigna radiata* var. kutilang) yang terdiri dari persentase daya berkecambah, keserempakan tumbuh, panjang kecambah, dan berat kering kecambah.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Juni 2013 di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu meliputi: Bak perkecambahan, oven, pinset, gelas beaker 100 ml, pipet tetes, penggaris, pengaduk kaca, botol semprot, gunting, kertas merang, kantong plastik, karet gelang dan timbangan analitik. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: benih kacang hijau (*Vigna radiata* var. kutilang), polietilena glikol (PEG) 6000 dan aquades.

3.5 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 1800 benih kacang hijau (*Vigna radiata* var. Kutilang) yang mempunyai viabilitas rendah, didapatkan dari Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI) di panen pada tahun 2009 dan disimpan pada suhu dingin. Penentuan jumlah benih berdasarkan jumlah keseluruhan unit percobaan sebanyak 12 kombinasi dengan 3 kali ulangan dan

tiap ulangan terdapat 50 benih kacang hijau. Jadi secara keseluruhan dibutuhkan 1800 (12x3x50) benih kacang hijau.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Larutan PEG 6000

Dalam pembuatan larutan PEG, terlebih dahulu menghitung berapa mg PEG yang dibutuhkan dalam perlakuan. Kemudian membuat larutan PEG dengan konsentrasi 0%, 2%, 4%, dan 6%.

Menurut Sutopo (2004), penentuan pengenceran larutan PEG 6000 dapat dilakukan mengikuti rumus sebagai berikut:

$$V1.M1 = V2.M2$$

Terlebih dahulu membuat larutan stok (larutan induk) PEG 6000, yaitu dengan membuat larutan 7,5% dibutuhkan sebanyak 7,5 mg PEG 6000 kemudian dilarutkan hingga mencapai 100 ml aquades. Larutan ini yang akan diencerkan menjadi beberapa konsentrasi sebagai berikut:

Tablel 3.2 Pengenceran PEG menjadi 4 konsentrasi

V2	M2	V1	M1	Penambahan air (ml)
Volume (ml)	(%)	Volume (ml)	(%)	
100	0	0	8	100
100	2,5	34	8	66
100	5	66	8	34
100	7,5	100	8	0

3.6.2 Perendaman Benih dan Perlakuan dengan PEG 6000

Benih kacang hijau (*Vigna radiata* var. kutilang) yang telah dipilih sebagai bahan penelitian direndam dalam larutan PEG 6000 selama 3 jam, 6 jam dan 9 jam dengan konsentrasi PEG 0% (kontrol), 2,5%, 5%, dan 7,5%.

3.6.3 Penyiapan Media Tanam

Metode yang digunakan untuk perkecambahan benih kacang hijau ini menurut Sutopo (2004) adalah dengan metode UKDdp (Uji Kertas Digulung Didirikan dalam Plastik) karena metode ini digunakan untuk menguji benih yang berukuran agak besar. Lapisan plastik tersebut berfungsi mencegah tembusnya substrat kertas oleh akar.

3.6.4 Pengujian Benih Kacang hijau

Pengujian dilakukan dengan cara menanam benih diantara lembar substrat lalu digulung, yaitu dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Disiapkan substrat kertas merang berukuran 20 x 30 cm dan plastik dengan ukuran yang sama
2. Kertas merang direndam dalam air selama 1-2 menit
3. Meletakkan lembaran substrat kertas merang berukuran 20 x 30 cm (3-4 lembar) yang telah dibasahi di atas plastik dengan ukuran yang sama
4. Menanam 50 benih kacang hijau yang sudah diberi perlakuan di atas lembaran substrat kertas merang (3 - 4 lembar) dan menyusunnya secara teratur
5. Substrat kertas yang telah ditanami benih kacang hijau, ditutup dengan kertas merang lainnya yang telah dibasahi dengan tebal yang sama (3 – 4 lembar), diberi label dan tanggal tanam

6. Substrat kertas tersebut digulung sesuai dengan jalur penanaman dan diikat dengan karet
7. Substrat yang telah digulung tersebut kemudian diletakkan secara didirikan di dalam bak perkecambahan.
8. Cara pemeliharaan dengan cara disiram dengan aquades menggunakan alat sprayer.

3.7 Variabel Pengamatan

Metode pengumpulan data yang digunakan adalah observasi. Data diperoleh pada waktu kecambah berumur 7 hari setelah tanam (HST). Setelah berumur 7 hari, kecambah dikeluarkan dari substrat, parameter yang diamati meliputi :

1. Persentase daya berkecambah (DB)

Persentase daya kecambah menunjukkan jumlah kecambah normal yang dapat dihasilkan oleh benih pada kondisi lingkungan tertentu dalam jangka waktu yang telah ditetapkan. Cara menghitung persentase daya berkecambah menurut Sutopo (2004) dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ DB} = \frac{\sum \text{KN}}{\sum \text{BT}} \times 100\%$$

Keterangan = % DB = Persentase daya kecambah

$\sum \text{KN}$ = Jumlah kecambah normal

$\sum \text{BT}$ = Jumlah total benih yang dikecambahkan

Kriteria kecambah menurut Hartati (1993) dibedakan seperti berikut :

a. Kecambah normal kuat

1. Akar : Akar primer tumbuh panjang dan akar sekunder
2. Hipokotil : panjangnya minimum empat kali panjang kotiledon dan tumbuh baik tanpa ada kerusakan
3. Kotiledon : Ada dua buah dan tidak ada kerusakan

b. Kecambah normal lemah

1. Akar : Akar primer tumbuh panjang dan ada atau tidak ada akar sekunder. Tidak ada akar primer tetapi ada akar sekunder dan tumbuh kuat
2. Hipokotil : panjangnya minimum empat kali panjang kotiledon dan tumbuh baik, ada kerusakan tetapi tidak sampai ke jaringan pengangkut
3. Kotiledon : Adda dua buah atau hanya ada satu dan tidak boleh ada kerusakan melebihi 50%

c. Kecambah abnormal

1. Akar : Tidak ada akar primer, atau akar primer pendek tanpa ada akar sekunder
2. Hipokotil : (a) Hipokotil membengkak dan pendek, (b) Hipokotil caca, pendek atau membengkak, (c) Hipokotil bercelah dalam atau luka-luka kecil
3. Kotiledon : keduanya busuk, rusak, atau tidak ada

2. Keserempakan Tumbuh

Pengamatan keserempakan tumbuh dilakukan satu kali pada hari ketujuh setelah tanam. Perhitungan keserempakan tumbuh ini berdasarkan pada kecambah

normal kuat, Menurut Sadjad (1993), cara menghitung persentase keserempakan tumbuh digunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ KT} = \frac{\Sigma \text{KN}}{\Sigma \text{BT}} \times 100\%$$

Keterangan : % KT = Keserempakan tumbuh

Σ KN = Jumlah kecambah normal kuat yang dihasilkan

Σ BT = Jumlah benih yang di tanam

3. Panjang Kecambah

Pengukuran panjang kecambah dimulai dari pangkal leher akar sampai pangkal kotiledon dengan menggunakan penggaris, pengukuran ini dilakukan setelah kecambah berumur 7 hari setelah tanam (HST).

4. Berat Kering Kecambah

Pengukuran berat kering kecambah dilakukan dengan cara kecambah dimasukkan ke dalam amplop yang telah diberi label perlakuan, kemudian dimasukkan ke dalam oven. Menurut Salisbury (1992), untuk mengetahui berat kering tanaman maka tanaman di oven selama 2X24 jam dengan temperatur 80° C, setelah itu menimbang berat kering kecambah tersebut menggunakan timbangan analitik.

3.8 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisis variansi (ANAVA) ganda. Apabila perlakuan berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5%.

3.9 Desain Penelitian

