



III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi dan kebun percobaan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dari bulan November 2012 sampai dengan April 2013.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan plastik, Beaker glass, cover glass, objek glass, gelas ukur, spatula, *Hammer Mill*, *Frize Drayer*, silet, pipet tetes, erlenmeyer, mikroskop binokuler, timbangan elektrik, kertas saring, kertas label, tissue, aluminium foil, kulkas, polybag, dan alat dokumentasi. Sedangkan bahan yang digunakan adalah biji kembang sunghang yang diperoleh dari koleksi pribadi warga Bandar Lampung, benih cabai merah keriting diperoleh dari toko pertanian, safranin, aquades, tanah dan pupuk kandang.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini disusun secara faktorial menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan empat ulangan. Faktor pertama adalah cara perendaman,

terdiri atas 2 taraf yaitu perendaman biji cabai dengan ekstrak air biji kembang sungsang dan perendaman kecambah cabai dengan ekstrak air biji kembang sungsang. Faktor kedua adalah konsentrasi terdiri atas 5 taraf perlakuan yaitu 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1% dan 0%, (kontrol).

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan ekstrak air biji kembang sungsang

Ekstrak air biji kembang sungsang dibuat menggunakan metode *Harborne* (1987). Seratus gram biji kembang sungsang dibersihkan kemudian dikeringkan. Setelah kering, biji digiling menggunakan *Hammer mill*. Biji yang telah menjadi serbuk kemudian dimaserasi dalam aquades dengan perbandingan 1:1 selama 3 x 24 jam, setelah itu disaring. Maserasi serbuk uji diulang sebanyak tiga kali. Hasil maserasi disebut maserat, dipekatkan dengan suhu -68°C dalam *Frize Dryer* sehingga dihasilkan ekstrak pekat 0,5 gr (Harborne, 1987) dengan tujuan meminimalkan resiko kerusakan komponen kimia dan senyawa fenolik pada bahan yang akan dianalisa.

2. Pembuatan larutan untuk perlakuan

Hasil ekstrak pekat sebanyak 0,5 gr dilarutkan dengan aquades sampai 100 ml sehingga diperoleh larutan stok awal. Larutan stok dibagi menjadi beberapa konsentrasi ekstrak biji kembang sungsang yaitu 0%, 0,025%, 0,05%, 0,075% dan 0,1% masing- masing diperoleh melalui pengenceran

dengan cara mencampurkan larutan stok dengan aquades sampai 10 ml yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Larutan

Konsentrasi*	Ekstrak(gr)	Aquades (ml)
0%	0	10
0,025%	0,5	9,5
0,05%	1	9
0,075%	1,5	8,5
0,1%	2	8

*karena konsentrasi stok awal larutan 0,5%, maka data pengenceran menggunakan rumus $N_1 V_2 = N_2 V_1$ dengan konsentrasi stok 0,5%

3. Pemberian perlakuan pada sampel

3.1. Perendaman benih dalam ekstrak

Sebanyak kurang lebih 30 biji cabai merah keriting direndam selama 48 jam di dalam cawan plastik yang berisi ekstrak air biji kembang sungang 0%, 0,025%, 0,05%, 0,075%, dan 0,1%. Setelah direndam, benih kemudian dicuci dengan aquades lalu ditiriskan. Selanjutnya, benih ditumbuhkan dalam cawan petri yang telah dialasi dengan kertas saring dan dibasahi dengan aquades hingga tumbuh. Setiap hari dilakukan penambahan akuades ke dalam cawan petri untuk menjaga kelembaban benih.

3.2. Perendaman kecambah dalam ekstrak

Sebanyak kurang lebih 30 biji cabai merah keriting ditumbuhkan dalam cawan petri yang telah dialasi kertas saring dan dibasahi aquades sampai berkecambah dan tumbuh akar sepanjang 3 – 5 mm.

Kecambah dijaga jangan sampai kering dengan menambahkan aquades pada cawan. Selanjutnya benih yang telah berkecambah direndam selama 48 jam di dalam cawan plastik yang berisi ekstrak air biji kembang sunghang dengan konsentrasi 0%, 0,025%, 0,05%, 0,075%, dan 0,1%.

4. Penyemaian benih

Lubang tanam pada media tanah steril dalam polybag berukuran kecil dibuat seukuran diameter pensil dengan kedalaman 2 cm dan jarak 4x4 cm. Selanjutnya kecambah cabai dimasukkan kedalam lubang tanam dengan posisi calon akar di bawah. Kemudian ditutup dengan media tanah setinggi 0,5 cm. Semaian disiram pagi dan sore untuk menjaga kelembabannya. Penyemaian dilakukan selama 15-21 hari.

5. Penanaman

Sebanyak 40 polybag tanaman yang berisi 20 benih hasil terbaik dari perendaman benih dalam ekstrak dan 20 benih hasil terbaik dari perendaman kecambah dalam ekstrak ditanam pada media tanah (campuran tanah ; pupuk kandang = 1 ; 1) dalam polybag yang masing – masing berdiameter 25 cm dan tinggi 30 cm. Lubang tanam berdiameter 5 cm dibuat dengan kedalaman 5 – 8 cm, setiap lubang digunakan untuk satu semaian cabai yang berumur 15-21 hari dan memiliki 5 daun sejati. Tanaman disiram setiap pagi dan sore.

6. Preparasi anatomi daun

Daun yang akan diamati diambil dari daun kesepuluh dari setiap tanaman cabai yang sudah dewasa. Daun yang belum dewasa memiliki tingkat perkembangan sel epidermis dan stomata belum sempurna. Sisi permukaan bawah daun dikerik menggunakan silet yang tajam sampai diperoleh suatu lapisan yang tipis (transparan). Warna hijau daun yang terbawa dibersihkan dengan aquades. Selanjutnya sampel diwarnai dengan pewarnaan Safranin (Sass, 1951) ditaruh di atas gelas obyek dan ditutup dengan gelas penutup. Sampel kemudian diamati di bawah mikroskop. Pengukuran stomata diukur dengan bantuan mikrometer pada perbesaran 1000x. Pengamatan indeks stomata dilakukan dengan perbesaran 400x (dibantu minyak imersi). Pengambilan foto dilakukan pada setiap perlakuan sampel dari setiap unit percobaan.

E. Parameter yang diamati

Parameter anatomi yang diamati adalah indeks stomata, ukuran sel stomata dan ukuran sel epidermis. Pengukuran sel stomata dan epidermis dilakukan sebanyak 10 kali pada setiap permukaan bawah daun sampel. Ukuran yang diambil adalah ukuran yang terendah dan yang tertinggi. Indeks Stomata (IS) dihitung pada 3 bidang pandang pada setiap sampel dan ditentukan dengan menggunakan rumus menurut Royer (2001) :

$$IS = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Jumlah stomata} + \text{Jumlah sel epidermis}} \times 100\%$$

F. Analisis data

Data yang diperoleh diuji Analisis Ragam. Perbedaan antara perlakuan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%. Sedangkan data ukuran sel stomata dan sel epidermis dianalisis menggunakan nilai kisaran tertinggi dan terkecil.