

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Botani dan Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Biologi FMIPA Unila selama September 2012- Mei 2013.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah timbangan, cawan petri, kertas roti, mortal, spatula, jarum suntik 10 ml, gelas ukur 100 ml, *mikrotube*, tabung reaksi, *sentrifuge*, *waterbath shaker*, *spektrofotometer*, kertas label, transformator dan solenoida. Bahan yang digunakan antara lain kacang merah dan kacang buncis hitam (*Phaseolus vulgaris* L.) yang diperoleh dari Balai Benih Lampung, aquades, amoxylin, chloramphenicol, pati 0,1 %, HCl 1 N, iodine, buffer phosphate, NaCl.

C. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Kelompok Teracak Lengkap dengan 3 kali ulangan yang dijadikan sebagai kelompok dan setiap kelompok diulang 3 kali (triplo). Lama pemaparan

medan magnet yang digunakan yaitu 0 menit (kontrol), 7'48", 11'44", dan 15'36" dengan kuat medan magnet sebesar 0,1 mT.

Parameter yang diamati adalah aktivitas enzim α -amilase pada kecambah.

Variabel bebasnya adalah lama pemaparan medan magnet. Aktivitas enzim α -amilase diukur pada kecambah utuh saat umur kecambah 12 jam, 1 sampai 7 hari; pada kecambah utuh saat tinggi hipokotil 1 cm, 3 cm, 5 cm, 7 cm, dan 9 cm; pada kotiledon kecambah saat tinggi hipokotil 1 cm, 3 cm, 5 cm, 7 cm, dan 9 cm; serta pada hipokotil kecambah saat tingginya 1 cm, 3 cm, 5 cm, 7 cm, dan 9 cm.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pemilihan Biji

Biji kacang buncis hitam dan kacang merah dipilih menurut ukuran dan bentuk yang hampir sama (dari jenis yang sama). Kemudian kedua jenis biji yang sudah dipilih dimasukkan ke dalam cawan petri, selanjutnya masing-masing diambil sebanyak 20 biji kemudian dimasukkan ke dalam media perkecambahan.

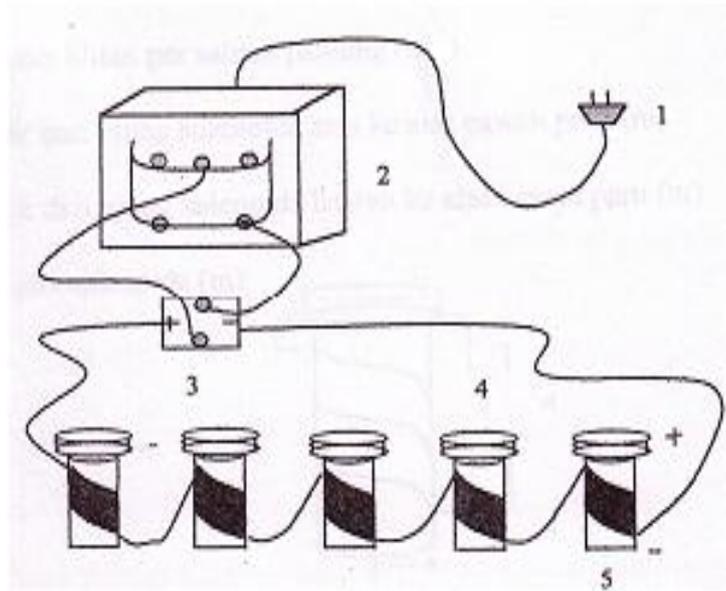
2. Pembuatan Media Perkecambahan

Media perkecambahan menggunakan kertas roti yang dipotong sesuai dengan ukuran cawan petri, selanjutnya kertas roti diletakkan dalam cawan petri dan diberi aquades secukupnya.

3. Perlakuan Medan Magnet

Sumber medan magnet menggunakan solenoida yang dihubungkan dengan transformator yang telah diberi dioda. Kuat arus, jumlah lilitan, jari-jari solenoida ditentukan sedemikian rupa sehingga dapat dihasilkan kuat medan magnet sesuai dengan yang diinginkan dalam penelitian ini, yaitu 0,1 mT.

Dua buah cawan petri yang masing-masing telah diberi alas kertas roti dan aquades secukupnya, kemudian di atasnya ditebar biji kacang merah dan biji kacang buncis hitam setelah itu ditambah dengan 3 tetes *amoxylin* dan *chloramphenicol* sebagai antibiotik untuk mencegah tumbuhnya jamur. Selanjutnya kedua cawan petri tersebut diletakkan di atas solenoida dan diberi perlakuan medan magnet 0,1mT dengan lama pemaparan 0 menit (kontrol), 7'48", 11'44", dan 15'36".



Gambar 3. Cawan petri tempat pertumbuhan kecambah kacang merah dan kacang buncis hitam di atas solenoida yang terhubung dengan transformator (Agustrina, 2008).

Keterangan :

1. Stop kontak
2. Transformator
3. Dioda
4. Petridish
5. Solenoida
6. Arah medan magnet

4. Perkecambahan

Biji di dalam cawan petri yang telah diberi perlakuan medan magnet kemudian diletakkan di tempat yang aman pada suhu ruangan.

Perkecambahan diamati sampai hari ke-7.

5. Ekstraksi Enzim

Sebanyak 0,5 gram (biji/kecambah) digerus dengan menggunakan mortal dan diberi 2 ml NaCl dan 2 ml buffer fosfat. Penggerusan dilakukan di dalam wadah yang memiliki suhu 4⁰C, yaitu dengan meletakkan mortal di dalam wadah yang sudah diberi batu es. Selanjutnya biji yang telah halus dimasukkan ke dalam *microtube*, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 3 menit, kemudian supernatant diambil sebagai enzim kasar.

6. Uji Aktivitas Enzim

Sebanyak 250 µl enzim diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian di tambah dengan 250 µl pati 0,1%, setelah itu diinkubasi dengan menggunakan *waterbath shaker* dengan suhu 30⁰C selama 10 menit. 250 µl HCl 1N, dan 250 µl iodine ditambahkan ke dalam tabung reaksi, dan aquades sebanyak 4 ml. Nilai absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 575 nm. Sedangkan untuk kontrol dilakukan seperti pada uji sampel, namun HCl

1N ditambahkan terlebih dahulu pada 250 μ l enzim baru kemudian diinkubasi.

Data absorbansi enzim α -amilase selanjutnya dihitung aktivitasnya dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Fuwa,1954) :

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times \text{FP} \times 2 \times 4$$

Keterangan : FP : faktor pengenceran.

Nilai aktivitas enzim α -amilase pada masing-masing lama pemaparan medan magnet selanjutnya dianalisis dengan perbandingan rata-rata aktivitas yang diperoleh dari tiap perlakuan.