

III.METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Desember 2014 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *beaker glass*, *erlenmeyer*, gelas ukur, tabung reaksi dan raknya, corong, *mortar* dan penggerus, pipet volume, pipet tetes, neraca digital, oven, nampan, gelas plastik, gunting, tissue, kapas, kertas label, karet gelang, penggaris, spektrofotometer UV, sentifus, kertas saring Whatman no 1.

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih padi sawah varietas Ciherang yang diperoleh dari Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSB) Provinsi Lampung, aquades, NaCl, ethanol 95%..

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilaksanakan dalam faktorial 2x3. Faktor A adalah konsentrasi NaCl dengan 2 taraf yaitu 0 mM dan 25 mM. Faktor B adalah konsentrasi Asam Askorbat dengan 3 taraf yaitu 0% b/v, 10% b/v, 20% b/v. Setiap kombinasi perlakuan diulang 4 kali. Jumlah satuan percobaan adalah 24. Notasi faktor, taraf, kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Notasi faktor, taraf, dan kombinasi perlakuan

| Faktor | Taraf | A | |
|--------|----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | a ₁ | a ₂ |
| B | b ₁ | a ₁ b ₁ | a ₂ b ₁ |
| | b ₂ | a ₁ b ₂ | a ₂ b ₂ |
| | b ₃ | a ₁ b ₃ | a ₂ b ₃ |

Keterangan : a₁b₁ = NaCl 0 mM, asam askorbat 0% b/v
a₁b₂ = NaCl 0 mM, asam askorbat 10% b/v
a₁b₃ = NaCl 0 mM, asam askorbat 20% b/v
a₂b₁ = NaCl 25 mM, asam askorbat 0% b/v
a₂b₂ = NaCl 25 mM, asam askorbat 10% b/v
a₂b₃ = NaCl 25 mM, asam askorbat 20% b/v

D. Variabel dan Parameter

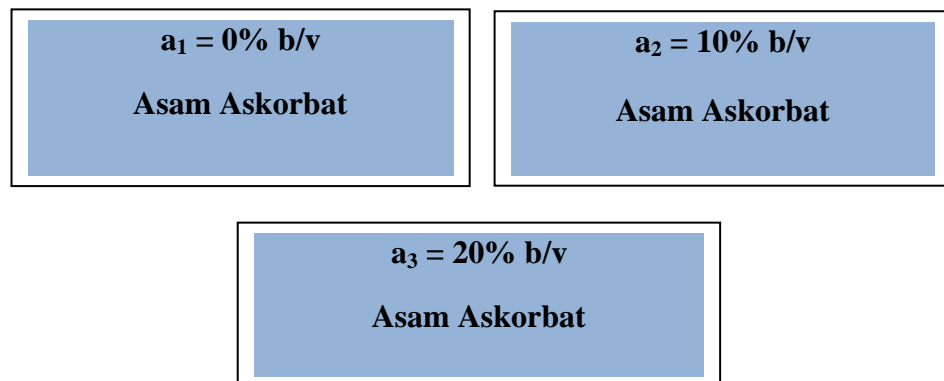
Variabel dalam penelitian ini adalah daya kecambah, panjang tunas, berat segar kecambah, berat kering kecambah, rasio tunas akar, kandungan air relatif, klorofil a, b dan total. Parameter dalam penelitian ini adalah nilai

tengah (μ) panjang tunas, berat segar kecambah, berat kering kecambah, kadar air relatif, rasio tunas akar, klorofil a,b, dan total.

E. Cara Kerja

1. Studi efek asam askorbat terhadap daya kecambah benih padi

Berdasarkan jumlah taraf dari faktor B maka jumlah nampan plastik yang digunakan sebagai wadah untuk pengecambahan benih padi adalah 3 buah. Nampan dicuci bersih dengan sabun cuci dan di lap kering. Nampan dilabel dengan taraf dari faktor B. 100 benih padi direndam dalam larutan asam askorbat selama 24 jam. Setiap nampan dilapisi tissue kemudian dibasahi dengan aquades lalu ditaburi dengan benih padi yang telah direndam.



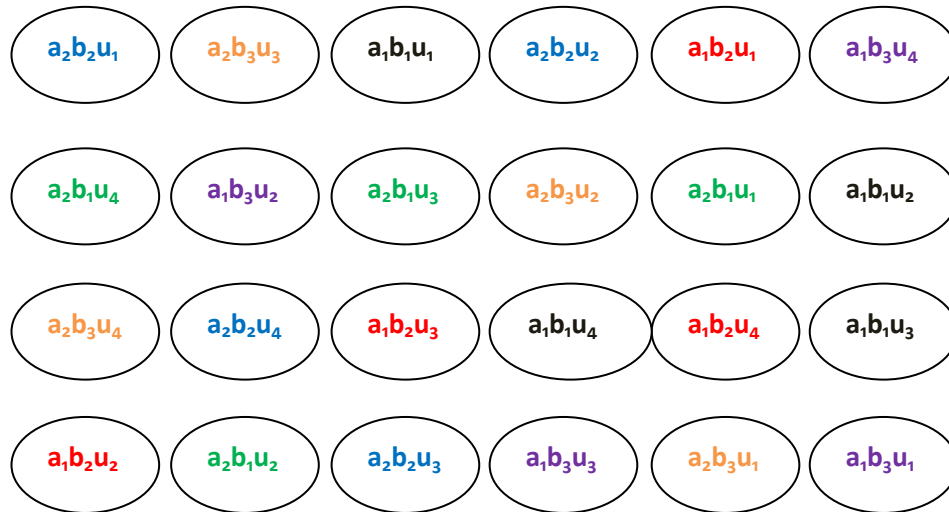
Gambar 6. Tata letak benih padi yang dikecambahkan dalam nampan

Pengamatan benih yang berkecambah dilakukan setiap hari. Penghitungan jumlah benih padi yang berkecambah dilakukan 7 hari setelah penaburan benih. Menurut ISTA (2006), daya kecambah dihitung berdasarkan persentase benih yang berkecambah dengan rumus :

$$\frac{\Sigma \text{benih yang berkecambah}}{100} \times 100\%$$

2. Studi pertumbuhan benih selanjutnya

Berdasarkan jumlah satuan percobaan maka jumlah gelas plastik yang digunakan sebagai wadah pertumbuhan benih selanjutnya adalah sebanyak 24 buah. Gelas plastik dicuci bersih dengan sabun cuci dan di lap kering. Gelas plastik dilabel dengan notasi kombinasi perlakuan dan ulangan. Masing-masing gelas plastik di isi dengan kapas yang telah dibasahi dengan larutan NaCl. Kemudian benih padi yang telah berkecambah dipindahkan ke gelas plastik. Untuk setiap gelas plastik berisi 3kecambah padi. Tata letak satuan percobaan setelah pengacakan dapat dilihat pada gambar berikut :



Keterangan :

a_1b_1 = NaCl 0 mM, asam askorbat 0% b/v

a_1b_2 = NaCl 0 mM, asam askorbat 10% b/v

a_1b_3 = NaCl 0 mM, asam askorbat 20% b/v

a_2b_1 = NaCl 25 mM, asam askorbat 0% b/v

a_2b_2 = NaCl 25 mM, asam askorbat 10% b/v

a_2b_3 = NaCl 25 mM, asam askorbat 20% b/v

$u_1 - u_4$ = Ulangan perlakuan

Gambar 7. Tata Letak Satuan Percobaan Setelah Pengacakan

2.1 Panjang tunas

Panjang tunas dilakukan 7 hari setelah periode pertumbuhan diukur dari pangkal batang sampai ke ujung batang dengan menggunakan mistar. Panjang tunas dinyatakan dengan cm.

2.2 Berat segar

Akar dipisahkan dari *shoot* (batang+daun). Selanjutnya akar dan shoot ditimbang dengan neraca digital dan dinyatakan dengan gram.

2.3 Berat Kering

Kecambah yang sudah diukur berat segarnya dikeringkan dengan panas oven 130⁰c selama 2 jam. Setelah itu ditimbang kembali sebagai berat kering dan dinyatakan dalam gram.

2.4 Penentuan Rasio tunas akar

Rasio tunas akar ditentukan berdasarkan rumus :

$$\text{Rasio tunas akar} = \frac{\text{Berat batang} + \text{Daun}}{\text{Berat akar}} \quad (\text{Yuliana, 2013})$$

2.5 Penentuan Kandungan Klorofil

Penentuan kandungan klorofil dilakukan menurut Miazek (2002).

0,03 gram daun kecambah padi gogo digerus sampai halus didalam mortar
Kemudian ditambahkan 10ml ethanol 95%. Selanjutnya cairan disaring
kedalam Erlenmeyer. Sisa gerusan daun yang masih melekat dikertas
saring digerus dan disaring kembali kedalam Erlenmeyer. Volume akhir
d disesuaikan menjadi 100ml dengan menambahkan ethanol 95%. Ekstrak
siap ditentukan kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total.

Ekstrak klorofil ini diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV
masing-masing pada panjang gelombang 648 dan 664. Kandungan klorofil
dinyatakan $\mu\text{g}/\text{gram}$ jaringan yang diekstraksi dan dihitung berdasarkan
persamaan berikut :

$$\text{Chla} = 13.36.A_{664} - 5.19.A_{648} \left(\frac{V}{1000 \times W} \right)$$

$$\text{Chlb} = 27.43.A_{648} - 8.12.A_{664} \left(\frac{V}{1000 \times W} \right)$$

$$\text{Chtotal} = 5.24.A_{664} + 22.24.A_{648}$$

Keterangan :

Chla = Klorofil a

Chlb = Klorofil b

A₆₆₄ = absorbansi pada panjang gelombang 664 nm

A₆₄₈ = absorbansi pada panjang gelombang 648 nm

V = Volume etanol

W = Berat daun

2.6 Pengukuran Kandungan Air Relatif

Kadar air kecambah ditentukan dengan rumus :

$$\text{Kadar air kecambah} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\% \text{ (Yamasaki, 1999)}$$

Keterangan:

M₁ = Berat segar kecambah

M₂ = Berat kering kecambah

F. Analisis Data

Data hasil penelitian ini di analisis data dengan taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan penentuan *simple effect* dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.