

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Penelitian ini termasuk eksperimen karena telah dilakukan manipulasi terhadap objek penelitian serta terdapat kontrol (Nazir, 2003: 63).

B. Desain Penelitian

Desain penelitian ini yaitu Rancangan Acak lengkap (RAL) karena semua sampel mendapat perlakuan yang sama. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Jumlah pengulangan ini ditentukan berdasarkan rumus pengulangan Sugandi & Sugiarto (1994) sebagai berikut :

$$\begin{aligned} t(r-1) &\geq 20 \\ 6(r-1) &\geq 20 \\ 6r - 6 &\geq 20 \\ 6r &\geq 26 \\ r &\geq 4,3 \approx 5 \end{aligned}$$

keterangan:

t = jumlah perlakuan
r = jumlah pengulangan
20 = derajat bebas untuk RAL

Desain plot untuk penelitian adalah sebagai berikut :

C5	C2	K2	A2	C1	E5
A5	B3	A1	B2	E4	K4
K5	K3	D4	D2	B1	E3
C4	B5	K1	D1	D5	A3
E1	C3	D3	E2	B4	A4

Keterangan :

K= tanaman kontrol

A,B,C,D,E = tanaman yang diberi perlakuan Cr

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah karakteristik morfologi dan kadar pigmen fotosintesis tanaman kacang hijau varietas Walet, Kenari dan Bhakti yang terpapar Cr. Sampel dalam penelitian adalah karakteristik morfologi dan kadar pigmen fotosintesis tanaman kacang hijau varietas Walet, Kenari dan Bhakti yang terpapar Cr selama 30 hari.

D. Tempat dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di dua tempat yaitu penanaman di rumah kaca dan pengukuran hasil dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Laboratorium Fisiologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI. Penelitian dilakukan bulan Maret sampai Juni 2010 dengan suhu maksimum 40,13°C-41,53°C, suhu minimum 20,56°C-21,13°C, kelembaban 81,12%-89,29% dan pH tanah 6-6,8.

E. Alat dan bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 3.1) adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1 Alat yang digunakan

No.	Nama Alat	Jumlah	Spesifikasi
1.	Timbangan analitik	1 buah	HF-100
2.	Gelas ukur	1 buah	Pyrex
3.	Pipet	1 buah	
4.	Gelas piala	30 buah	Pyrex
5.	Cawan petri	8 pasang	Ø 9 cm
6.	Botol kaca	5 buah	Ukuran 1 liter
7.	Polibag	90 buah 100 buah	Ukuran 15x10 cm Ukuran 13,5x5,5 cm
8.	Termometer	1	Alkohol

No.	Nama Alat	Jumlah	Spesifikasi
9.	Hygrometer	1	Kenko Dry Wet
10.	Max-min termometer	1	SATO BI-17 -20~50°C
11.	Oven	1	80°C
12.	Sentrifuge	1	H1-103N 3000rpm
13.	Tabung sentrifuga	30	Pyrex
14.	Spektrofotometer	2	Spectronic 20D
15.	Kuvet spektrofotometer	12	1'2" test tube
16.	Lumpang alu	1 pasang	
17.	Penggaris	1	
18.	Kertas label	1 pak	

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 3.2) adalah sebagai berikut :

Tabel 3.2 Bahan yang digunakan

No.	Nama Bahan	Jumlah
1	Biji kacang hijau varietas walet	250 gram
2	Biji kacang hijau varietas kenari	250 gram
3	Biji kacang hijau varietas bhakti	250 gram
4	Tanah lembang	12 karung (1 karung= 6 kg)
5	Pupuk kandang	18 kg
6	Air tanah	135 liter
7	Potasium dikromat ($K_2Cr_2O_7$)	100 gram
8	Isektisida Marshall	1 botol
9	Aseton	1500 ml
10	Aquades	600 ml
11	Kertas karkil	100 lembar

F. Langkah Kerja

1. Tahap Persiapan

a. Perkecambahan

Biji kacang hijau varietas Walet, Kenari dan Bhakti yang diperoleh dari Balai Besar Biogen Bogor diseleksi untuk memperoleh kualitas yang sama. Agar sampel yang diambil kohort dipilih kacang hijau yang memiliki berat yang sama (0,06 gram – 0,08 gram). Setelah diperoleh biji yang memiliki berat yang sama kemudian biji direndam dalam air selama 1 jam untuk menghentikan masa dorman. Setelah itu, biji direndam dalam insektisida Marshall selama 10 menit dan dikecambahkan hingga muncul daun trifoliolatus pertama. Kecambah dipindahkan ke dalam *polybag* berukuran lebih besar (15x10 cm) yang telah berisi tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 9 : 1 (Kusdianti, 1996: 15). Tanaman yang memiliki tinggi yang sama diatur posisinya sesuai dengan hasil pengacakan menggunakan tabel random (acak).

b. Analisis tanah dan air tanah

Sampel tanah dan air tanah yang digunakan dalam perlakuan diambil 100 gram dan 100 ml untuk keperluan analisis kandungan Cr. Analisis dilakukan sekali sebelum pemberian perlakuan.

c. Pembuatan larutan kromium

Pada penelitian digunakan konsentrasi Cr 26,4, 40, 80, 120 dan 160 ppm untuk mendapatkan konsentrasi Cr yang diinginkan maka jumlah potassium dikromat yang digunakan dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut (mengkonversikan ppm ke mg/L):

$$\text{Konsentrasi K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ (mg/L)} = \frac{\text{Mr K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times \text{konsentrasi Cr}}{\text{Ar Cr}}$$

d. Pra Penelitian

Pada pra penelitian digunakan konsentrasi Cr 2,6 ppm, 6,6 ppm, 13,2 ppm, 26,4 ppm, dan 52,8 ppm yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal Cr yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman kacang hijau. Hasil pada tahap ini menunjukkan perbedaan rata-rata tinggi tanaman dan berat basah tanaman yang signifikan ($\alpha=0,05$) antara kontrol dengan perlakuan pada konsentrasi Cr 52,8 ppm (Lampiran 1), sedangkan rata-rata panjang akar tidak berbeda signifikan ($\alpha=0,05$) antar perlakuan. Hasil penelitian tahap pertama ini menjadi rujukan dalam penentuan konsentrasi Cr pada tahap inti. Konsentrasi yang digunakan pada tahap inti adalah 0 ppm, 26,4 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm dan 160 ppm. Konsentrasi 40 sampai 160 yang digunakan pada penelitian inti berdasarkan Jamal *et al.*, (2006: 54).

2. Tahap pelaksanaan pengujian

a. Pemaparan tanaman terhadap Cr dalam media tanam

Tanaman yang telah diberi label dan disusun secara acak disimpan di rumah kaca. Penyiraman dilakukan setiap hari sebanyak 50 ml per *polybag* dan pengukuran parameter setelah 30 hari perlakuan. Selain itu, dilakukan pengukuran faktor abiotik, yaitu suhu maksimum dan minimum harian, kelembaban udara dan pH tanah.

b. Pengamatan

Parameter yang diukur adalah tinggi tanaman, panjang akar, luas permukaan daun, berat basah, berat kering dan kadar klorofil. Tinggi tanaman diukur dengan cara mengukur panjang batang dari mulai pangkal batang hingga pucuk. Panjang akar ditentukan dengan mengukur akar mulai dari pangkal batang hingga ujung akar keseluruhan yang terpanjang. Berat basah ditentukan dengan menimbang berat keseluruhan tanaman dengan timbangan analitik, sedangkan berat kering ditentukan dengan mengeringkan tanaman dalam oven 80°C hingga beratnya konstan.

Pengukuran luas permukaan daun menurut Sembiring dan Sulistyawati (2006: 4) dengan menggunakan kertas kalkir yang dibentuk bujursangkar dengan luas 1 cm², yang kemudian ditimbang. Potongan kertas ini akan menjadi standar untuk mengukur luas daun. Pola setiap helai daun digambar pada kertas kalkir dan ditimbang beratnya. Untuk mengetahui luas masing-masing daun tersebut digunakan rumus :

$$A = \frac{W_t}{W_i} \times 1 \text{ cm}^2$$

Keterangan : A = luas daun (cm²)

W_t = berat kertas dari masing-masing sampel daun (g)

W_i = berat kertas yang dijadikan standar (g).

Kadar total klorofil, klorofil a, klorofil b dan karotenoid ditentukan menggunakan metode Arnon (1949). Daun segar sebanyak 0,1 gram diekstrak dengan 10 ml aseton 80% kemudian disimpan pada tempat gelap dengan suhu 4°C selama 1 malam, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10

menit dan dilihat absorbansinya pada 645 nm, 663 nm dan 480 nm menggunakan spektrofotometer. Jumlah klorofil a, b, total klorofil dan karotenoid menurut Arnon (1949) :

$$\text{Total Klorofil (mg/L)} = (20,2) \times (A.645) + (8,02) \times (A.663)$$

$$\text{Klorofil a (mg/L)} = (12,7) \times (A.663) - (2,69) \times (A.645)$$

$$\text{Klorofil b (mg/L)} = (22,9) \times (A.645) - (4,68) \times (A.663)$$

Perhitungan kandungan karotenoid menurut Kirk & Allen (1965 dalam Jaleel *et al.*, 2009: 122) adalah :

$$\text{Karotenoid (mg/g)} = (A.480) + (0,114 \times A.663 - 0,638 \times A.645)$$

Tingkat toleran dari tiga varietas kacang hijau dapat dilihat dari derajat toksisitas relatif pada setiap parameter morfologi, yang didapatkan dengan menghitung derajat toksisitas relatif pada masing-masing parameter morfologi (Gyawali & Lekhak, 2006: 104) dengan rumus :

$$\text{Toksitas relatif (\%)} = \frac{X-Y}{X}$$

Keterangan :

X = Panjang akar, tinggi tanaman, luas permukaan daun, berat basah dan berat kering pada kontrol

Y = Panjang akar, tinggi tanaman, luas permukaan daun, berat basah dan berat kering pada perlakuan

Setelah didapatkan derajat toksisitas relatif Cr (VI) pada masing-masing parameter morfologi, dilanjutkan dengan pembuatan *radar chart* pada tiga varietas untuk mengevaluasi varietas yang toleran terhadap Cr (VI) dilihat dari

luas yang terbentuk dari garis-garis yang menghubungkan setiap parameter pada masing-masing varietas (Gyawali & Lekhak, 2006: 106)

G. Analisis Data

Hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan uji statistik. Langkah pertama yang dilakukan adalah analisis prasyarat yang meliputi 2 uji, yaitu Uji Homogenitas dan Uji Normalitas. Uji homogenitas menggunakan uji Lavene sedangkan Uji normalitas data menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa data tersebut variansinya homogen dan berdistribusi normal maka dilakukan uji hipotesis parametrik yaitu dengan ANOVA pada program SPSS 12. Dilakukan uji ANOVA (one way ANOVA) karena hanya satu variabel bebas yang digunakan yaitu konsentrasi logam krom. Hasil yang menunjukkan bahwa pada uji ANOVA H_0 ditolak maka dilakukan pengujian lanjut untuk mengetahui bagian yang berbeda signifikan yaitu dengan menggunakan uji Tukey apabila $n_1=n_2=n_3=n_4$. Hasil yang menunjukkan data tidak homogen atau tidak normal maka dilakukan uji non-parametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis.



Gambar 3.1. Alur penelitian