

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Green House Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Jawa Timur dengan ketinggian tempat 25-50 mdpl pada bulan November 2018 sampai dengan bulan Desember 2018.

3.2. Bahan dan Alat

3.2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi benih brokoli, rockwool, cocopeat, kertas merang, hidroton, air, dan air kelapa. Bahan untuk pengujian kandungan klorofil yaitu 2700 ml aseton 80%. Bahan untuk pengujian kadar serat pangan yaitu kertas saring, 25 ml bufer fosfat 0.08 M pH 6.0, 50 µl termamyl, 5 ml NaOH 0.275 N + 50 µl protease, HCl 0.325 N, 150 µl AMG, 140 ml dan etanol 95%. Bahan untuk pengujian kandungan sulforaphane yaitu 50 ml Petroleum eter, larutan standard Sulforaphane 0,1-1%.

3.2.2. Alat

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini meliputi bak plastik atau wadah plastik ukuran 17x13x4 cm, cutter, paku, botol semprotan (spray) , gunting, penggaris, label plastik, kamera, dan alat tulis.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan faktorial yang terdiri dari dua faktor dan tiga ulangan yang disusun secara Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Faktor Pertama : Media Tanam

M1 : Media tanam rockwool

M2 : Media tanam cocopeat

M3 : Media tanam kertas merang

M4 : Media tanam hidroton

Faktor Kedua : Penyemprotan Air Kelapa

S1 : Penyemprotan air biasa

S2 : Penyemprotan air kelapa konsentrasi 100%

Kombinasi perlakuan dari dua faktor tersebut diperoleh hasil seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Kombinasi Perlakuan 2 Faktor

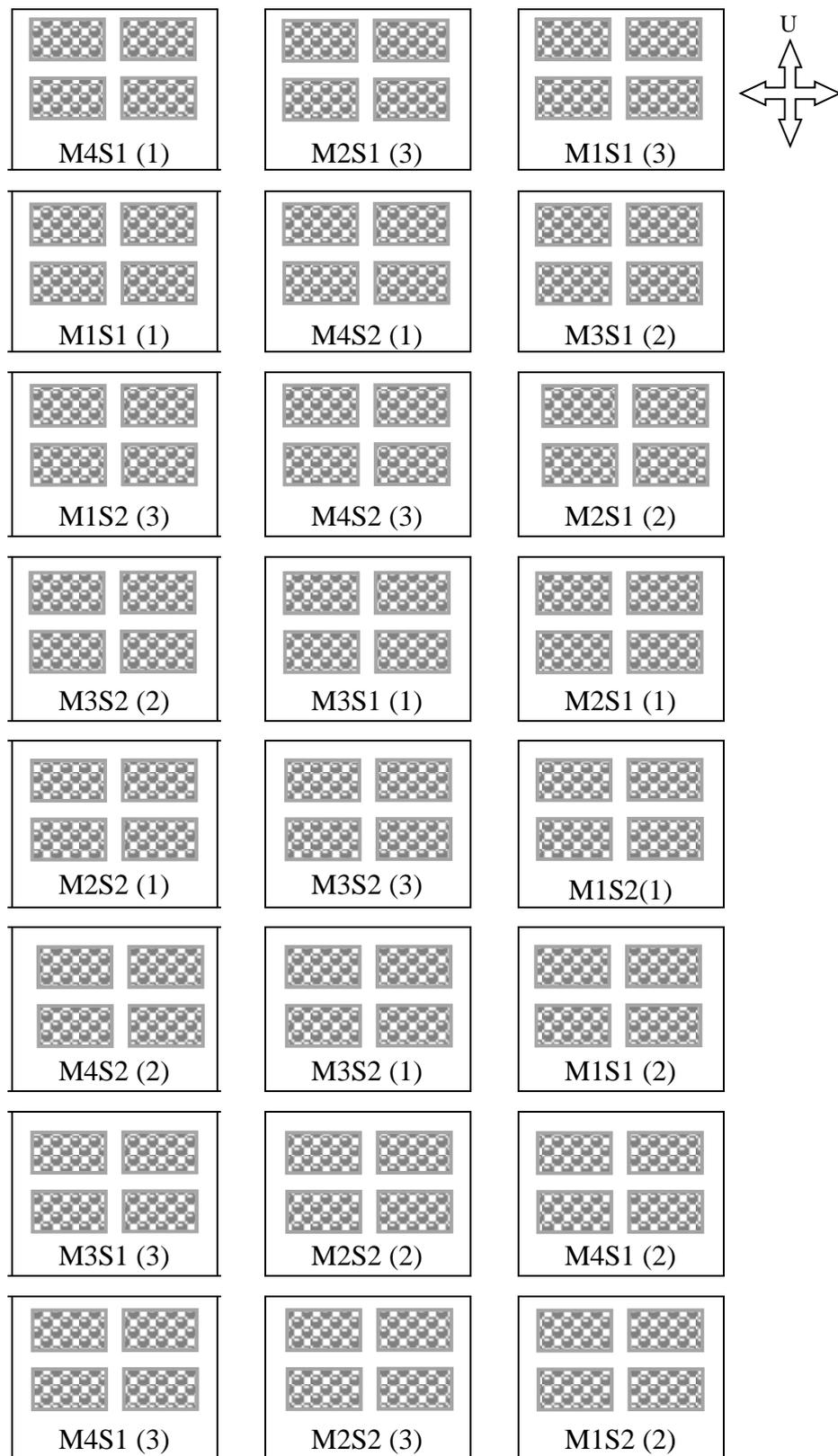
Penyemprotan	Media Tanam			
	M1	M2	M3	M4
Penyemprotan air biasa (S1)	M1S1	M2S1	M3S1	M4S1
Penyemprotan air kelapa (S2)	M1S2	M2S2	M3S2	M4S2

Keterangan :

- M1S1 : Media tanam berupa rockwool dengan penyemprotan air biasa
M2S1 : Media tanam berupa cocopeat dengan penyemprotan air biasa
M3S1 : Media tanam berupa kertas merang dengan penyemprotan air biasa
M4S1 : Media tanam berupa hidroton dengan penyemprotan air biasa
M1S2 : Media tanam berupa rockwool dengan penyemprotan air kelapa konsentrasi 100%
M2S2 : Media tanam berupa cocopeat dengan penyemprotan air kelapa konsentrasi 100%
M3S2 : Media tanam berupa kertas merang dengan penyemprotan air kelapa konsentrasi 100%
M4S2 : Media tanam berupa hidroton dengan penyemprotan air kelapa konsentrasi 100%

3.4. Denah Perobaan

Denah percobaan dibuat setelah dilakukan pengacakan untuk menentukan letak perlakuan-perlakuan pada setiap bak plastik percobaan, maka hasil pengacakan dapat dilihat pada gambar 3.1.



Keterangan : 1= Ulangan I, 2 = Ulangan II, 3= Ulangan III

Gambar 3.1. Denah Percobaan

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui dapat tidaknya suatu penelitian dilaksanakan di daerah yang akan dijadikan tempat penelitian. Penelitian pendahuluan untuk microgreens ini sangat penting karena penelitian microgreens di Indonesia masih belum banyak dilakukan penelitian. Penelitian microgreens tanaman brokoli akan dilakukan di Green House UPN “Veteran” Jawa Timur dengan suhu 33-34⁰C tetapi syarat tumbuh untuk suhu microgreens tanaman brokoli tersebut adalah 18-23⁰C, setelah dilakukan penelitian pendahuluan microgreens tanaman brokoli dapat tumbuh dengan baik di daerah Surabaya dengan salah satu media tanam yang akan digunakan yaitu rockwool. Hasil penelitian pendahuluan microgreens tanaman brokoli tingginya melebihi kriteria panen yaitu 5-10 cm, faktor yang menyebabkan yaitu karena terlalu lama ditempatkan di tempat yang gelap pada awal penanaman sehingga mengalami etiolasi. Penempatan microgreens pada penelitian selanjutnya diletakkan di greenhouse dengan memasang paranet disekeliling tempat untuk penanaman microgreens. Hasil penimbangan dari berat tiap microgreens tanaman brokoli yaitu 0,08 g, hal tersebut sangat penting diketahui untuk menentukan jumlah microgreens tanaman brokoli yang ditanam sehingga dapat mencukupi kebutuhan parameter pengujian.

3.5.2. Persiapan Tanam

Persiapan yang dilakukan sebelum menanam microgreens tanaman brokoli yaitu menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Alat-alat yang dipersiapkan adalah wadah plastik ukuran 17x13x4cm sebanyak 96 buah, cutter, paku, botol semprotan (spray), gunting, penggaris, label plastik ukuran 6,8x4,8cm, kamera, dan alat tulis. Bahan-bahan yang dipersiapkan adalah benih brokoli, media tanam, dan air kelapa. Benih brokoli yang dibutuhkan untuk penanaman sebanyak 4800 butir dan 200 butir sebagai cadangan. Media tanam rockwool yang dibutuhkan berukuran 15x11x2 cm sebanyak 24 buah, media tanam cocopeat sebanyak 4320g untuk 24 bak plastik (masing-masing bak plastik berisi 180g cocopeat), media tanam kertas merang sebanyak 480 lembar berukuran 15x11 cm untuk 24 bak plastik (masing-masing bak plastik berisi 20 lembar kertas merang ukuran 15x11

cm) dan media tanam hidroton sebanyak 3240 g untuk 24 bak plastik (masing-masing bak plastik berisi 135 g hidroton). Penyemprotan yang dibutuhkan yaitu air sebanyak 4,8 liter/hari, dan air kelapa sebanyak 4,8 liter/hari.

3.5.3. Perlakuan Penelitian

Perlakuan penelitian yang dilakukan meliputi media tanam dan penyiraman. Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini ada empat jenis yaitu media tanam rockwool (M1), media tanam cocopeat (M2), media tanam kertas merang (M3), dan media tanam hidroton (M4). Media tanam yang digunakan berukuran 15x11x2 cm, ukuran tersebut lebih kecil dari bak plastik yang digunakan.

Penanaman microgreens tanaman brokoli pada penelitian ini menggunakan bak plastik dengan ukuran 17x13x4 cm yang berjumlah 96 buah dengan rincian 24 buah bak plastik untuk pengamatan parameter pertumbuhan, 24 buah bak plastik untuk pengujian kandungan klorofil, 24 buah bak plastik untuk pengujian kadar serat pangan (dietary fiber), dan 24 buah bak plastik untuk pengujian kandungan sulforaphane.

Perlakuan pada penyiraman menggunakan (S1) air biasa dan (S2) air kelapa dengan konsentrasi 100% yang diberikan pada masing-masing unit percobaan mulai penanaman sampai pemanenan. Penyiraman dilakukan dengan cara spray dengan volume penyiraman yang diberikan yaitu 100 ml/hari untuk masing-masing bak plastik, dan diberikan pada saat sore hari pukul 17.00 WIB.

3.5.4. Penanaman

Penanaman microgreens tanaman brokoli dilakukan di bak plastik ukuran 17x13x4 cm berjumlah 96 buah untuk dua faktor perlakuan dengan masing-masing sebanyak tiga ulangan. Media tanam ditempatkan kedalam bak plastik, kemudian dilakukan penyiraman dengan cara spray sesuai dengan perlakuan penelitian yang telah ditentukan yaitu dengan menggunakan air biasa dan air kelapa volume 100 ml/bak plastik. Media tanam yang telah basah kemudian dilubangi menggunakan paku untuk lubang penanaman benih microgreens tanaman brokoli. Benih yang dibutuhkan untuk masing-masing bak plastik yaitu 50 butir benih, setelah benih ditanam kemudian bak plastik ditempatkan di greenhouse dengan sungkup paranet.

3.5.5. Pemeliharaan

Pemeliharaan yang dilakukan mulai dari penanaman sampai panen adalah penyiraman. Penyiraman dilakukan mulai dari penanaman sampai panen dengan cara spray, volume penyiraman yang diberikan yaitu 100 ml/ hari untuk masing-masing bak plastik dan diberikan pada saat sore hari pukul 17.00 WIB.

3.5.6. Pemanenan

Pemanenan microgreens tanaman brokoli dilakukan ketika telah memenuhi syarat sebagai microgreens tanaman brokoli yaitu telah tumbuh daun kotiledon dan daun sejati pertama atau yang biasa disebut dengan daun asli pertama. Pemanenan dilakukan apabila microgreens tanaman brokoli telah tumbuh dengan tinggi 5-10 cm minimal 75 % dari total microgreens yang ditanam per bak plastik. Cara memanen microgreens tanaman brokoli yaitu dengan memotong microgreens tanaman brokoli satu centimeter diatas garis tanah dengan menggunakan gunting atau alat potong yang tajam.

3.6. Peubah Pengamatan

Peubah pengamatan microgreens tanaman brokoli yang diamati ada dua jenis pengamatan yaitu pengamatan pertumbuhan dan hasil produksi. Pengamatan pertumbuhan yang diamati meliputi tinggi microgreens, persentase perkecambahan, dan umur panen microgreens. Pengamatan hasil produksi meliputi berat segar microgreens, berat kering microgreens, kadar air microgreens, klorofil total daun microgreens, kandungan serat, dan kandungan sulforaphane microgreens tanaman brokoli. Peubah pengamatan yang diamati dari kedua jenis pengamatan tersebut adalah sebagai berikut :

3.6.1. Persentase Perkecambahan (%)

Persentase perkecambahan adalah jumlah kecambah yang tumbuh normal dari jumlah total benih yang ditanam pada setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung kecambah yang tumbuh setiap harinya mulai hari pertama penanaman sampai hari dimana tidak ada benih yang tumbuh lagi. Persentase perkecambahan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Perkecambahan} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

3.6.2. Tinggi Microgreens (cm)

Pengamatan tinggi microgreens dilakukan dengan cara mengukur batang utama dari atas permukaan media tanam sampai titik tumbuh tertinggi dengan menggunakan penggaris pada saat panen. Sampel yang diambil secara acak setiap bak berjumlah lima tanaman microgreens dan kemudian dirata-rata.

3.6.3. Umur Panen Microgreens (HST)

Umur panen microgreens tanaman brokoli adalah pada hari keberapa setelah tanam microgreens tanaman brokoli siap untuk dipanen. Pemanenan dapat ditentukan dengan melihat daun kotiledon dan daun sejati pertama berwarna hijau tua yang sudah tumbuh minimal 75% pada masing-masing bak plastik dan tingginya 5-10 cm.

3.6.4. Berat Segar Per Microgreens (mg)

Berat segar microgreens diukur setelah pemanenan, penimbangan dilakukan dengan mengambil microgreens pada bak plastik setiap perlakuan meliputi batang, daun kotiledon, dan daun sejati. Berat segar microgreens ditimbang menggunakan timbangan analitik dalam satuan miligram (mg).

3.6.5. Berat Kering Per Microgreens (mg)

Berat segar microgreens yang telah ditimbang kemudian dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 85°C hingga diperoleh berat yang konstan kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik dalam satuan miligram (mg).

3.6.6. Kadar Air Microgreens (%)

Kadar air merupakan persentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat segar atau berdasarkan berat kering. Berikut ini merupakan rumus dari kadar air :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{BS}-\text{BK}}{\text{BS}} \times 100 \%$$

Keterangan : BS = Berat Segar Per Microgreens (mg)

BK = Berat Kering Per Microgreens (mg)

3.6.7. Kandungan Klorofil Total Daun Microgreens (mg/kg)

Kandungan klorofil total diukur menggunakan metode spektrofotometri. Daun microgreens tanaman brokoli yang digunakan yaitu sepasang daun kotiledon dan daun sejati ditimbang beratnya 5 g, digerus dengan menggunakan mortar. Sampel diekstraksi dengan 100 ml aseton 80% diaduk hingga klorofil larut. Ekstrak klorofil disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapat dimasukkan ke dalam cuvet untuk diukur kandungan klorofil menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm. Setelah didapat nilai absorbansi, kandungan klorofil dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Harborne, 1987) :

$$\text{Klorofil total (mg/kg)} = (17,3 \times A_{645}) + (7,18 \times A_{663})$$

Keterangan : A_{645} = absorbansi pada panjang gelombang 645 nm

A_{663} = absorbansi pada panjang gelombang 663 nm

3.6.8. Kadar Serat Pangan /Dietary Fiber (%)

Analisis kadar serat pangan dilakukan dengan metode enzimatik-gravimetri, sebelum analisis dilakukan keberadaan lemak, protein, dan pati dalam sampel dihilangkan terlebih dahulu melalui perlakuan enzimatik dengan menggunakan termamyl (α -amilase tahan panas), protease, dan amiloglukosidase untuk menghilangkan protein dan pati. Diagram alir prosedur analisis serat pangan menggunakan metode enzimatik-gravimetrik seperti pada Gambar 3.2., berikut ini merupakan rumus untuk menghitung Total Serat Pangan atau Total Dietary Fiber (Muchtadi dan Ayustaningwarno, 2010) :

$$\text{Total Dietary Fiber} = \frac{(W_2 - W_1) - (W_4 - W_3 - W_5)}{W_s} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_1 = Bobot kertas saring sampel kosong setelah dikeringkan di dalam oven

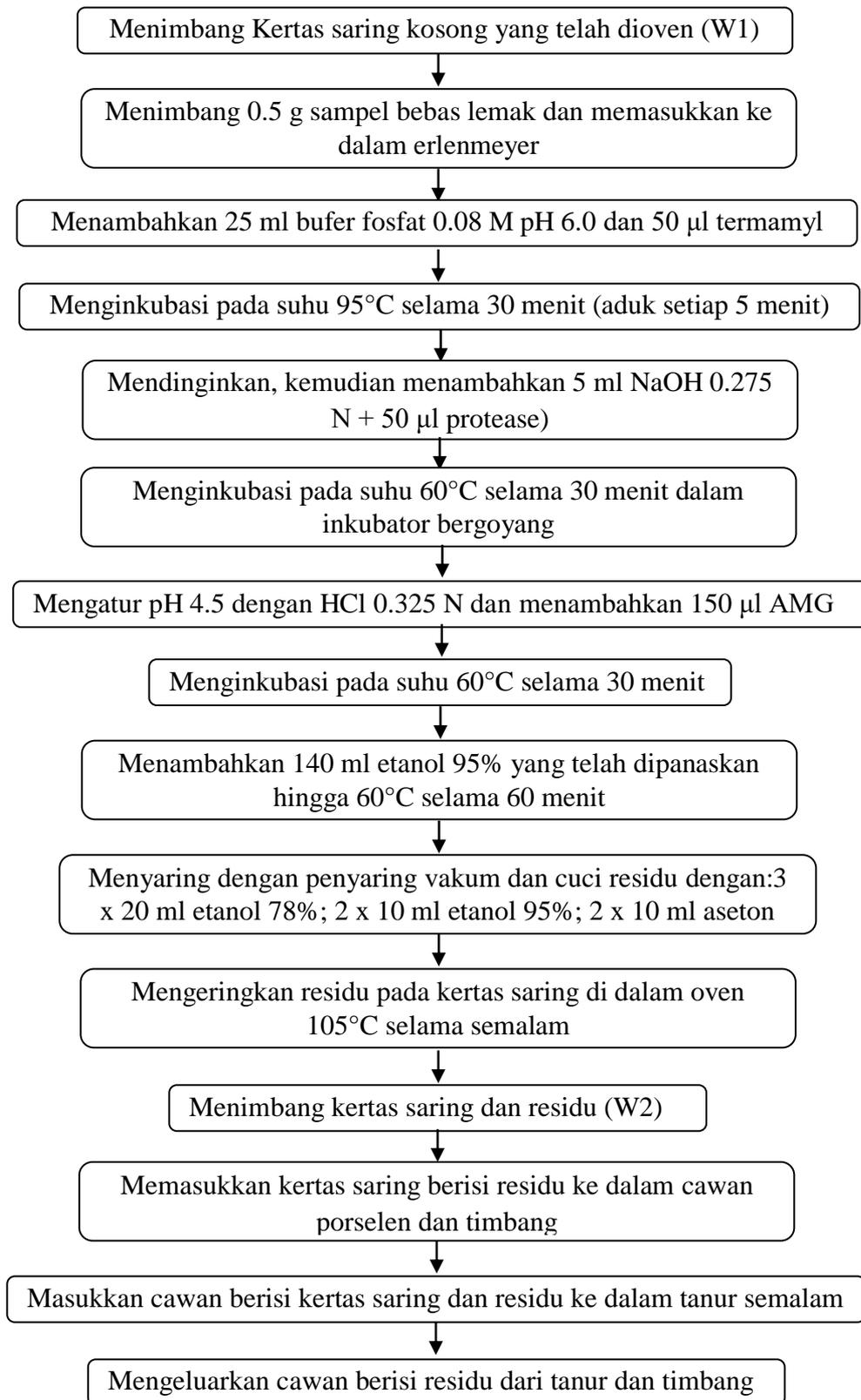
W_2 = Bobot kertas saring+sampel setelah dikeringkan dalam oven

W_3 = Bobot cawan kosong

W_4 = Bobot cawan+kertas saring+abu

W_5 = Bobot abu kertas saring

W_s = Bobot sampel

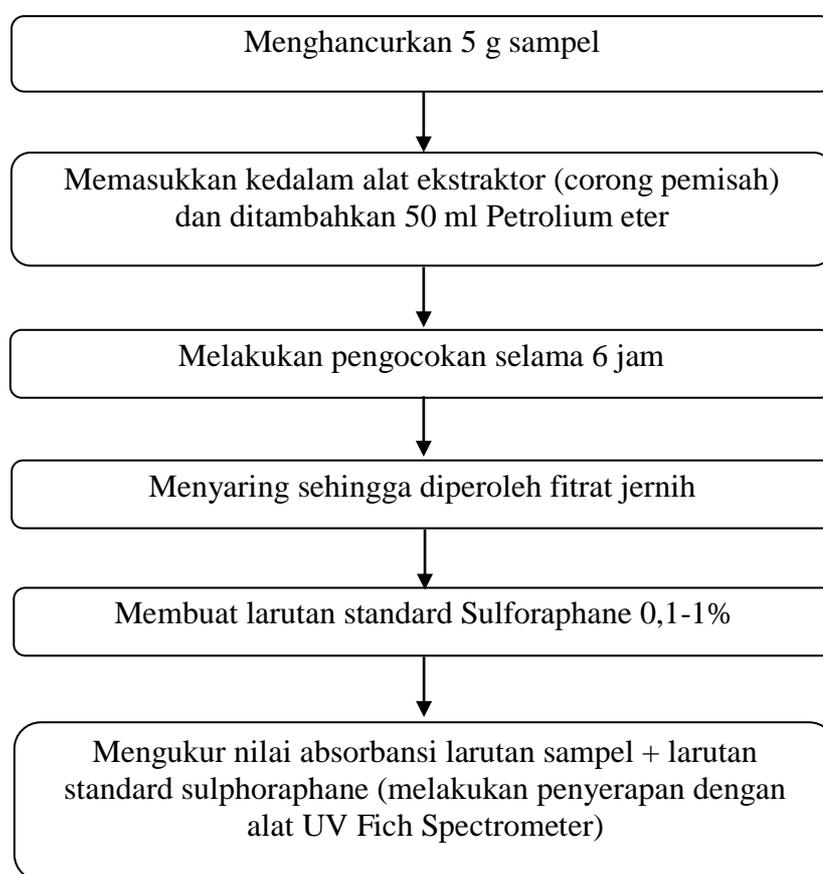


Gambar 3.2. Diagram Alir Prosedur Analisis Serat Pangan (Dietary Fiber) Metode Enzimatik – Gravimetrik

3.6.9. Kandungan Sulforaphane (mg/kg)

Kandungan sulforaphane dapat diketahui dengan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Diagram alir prosedur analisis kandungan sulforaphen menggunakan metode HPLC seperti pada gambar 3.3., berikut ini merupakan cara menghitung kandungan sulforaphen menggunakan metode HPLC (Campas-Baypoli *et al*, 2009) :

$$\text{Kadar Sulphorapane} = \frac{\text{Nilai absorbansi sampel}}{\text{Nilai absorbansi standard}} \times \text{Konsentrasi Standard}$$



Gambar 3.3. Diagram Alir Prosedur Analisis Kandungan Sulforaphen Metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

3.7. Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan data dari hasil penelitian menggunakan analisis ragam sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu percobaan faktorial dengan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan tersebut hasilnya nyata atau tidak nyata dengan uji F. Kaidah keputusan uji F tersebut apabila F_{hitung} lebih besar daripada F_{tabel} pada perlakuan satu persen dikatakan sangat nyata, jika lebih besar daripada F_{tabel} pada perlakuan lima persen dan lebih kecil daripada F_{tabel} pada perlakuan satu persen dikatakan nyata, jika F_{hitung} lebih kecil daripada F_{tabel} pada taraf lima persen dikatakan tidak nyata (Sastrosupadi, 1995).

Data hasil pengamatan selama penelitian diolah menggunakan microsoft excel menurut analisis keragaman Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan persamaan linear sebagai berikut (Sunarlim, 2013):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

i = 1,2,3,.....t

j = 1,2,3,.....r

Y_{ij} = Pengamatan dari perlakuan ke-i pada kelompok ke-j

μ = Rataan umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada perlakuan ke-i pada ulangan ke-j

Hipotesis tentang pengaruh perlakuan diuji melalui uji F, bila uji F nyata (signifika) maka perhitungan dilanjutkan perbandingan antar kombinasi perlakuan yaitu uji BNJ 5%. Uji BNJ 5% dengan model umum sebagai berikut :

$$BNJ_{\alpha} = Q_{\alpha}(p,v,a) \times \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

Keterangan :

Q = Nilai taraf nyata

p = Jumlah perlakuan

V = Db galat

a = Taraf nyata (5%)

KTG = Kuadrat Tengah Galat

r = Ulangan

3.8. Analisis Korelasi

Analisis korelasi adalah metode analisis statistika yang digunakan untuk menentukan kuatnya atau derajat hubungan linier antara dua variabel atau lebih. Semakin nyata hubungan linier (garis lurus), maka semakin kuat atau tinggi derajat hubungan garis lurus antara kedua variabel atau lebih. Korelasi dilambangkan dengan r dengan ketentuan nilai r tidak lebih dari harga $(-1 \leq 0 \leq 1)$. Apabila nilai $r = -1$ artinya korelasi negatif sempurna; $r = 0$ artinya tidak ada korelasi; dan $r = 1$ artinya korelasinya sangat kuat (Nurussadad dkk, 2011).

Analisis korelasi antar parameter diolah menggunakan microsoft excel. Koefisien korelasi menunjukkan nilai keeratan hubungan linier dua variabel dengan skala data interval atau rasio. Rumus yang digunakan sebagai berikut (Supranto, 2008) :

$$r_{(x,y)} = \frac{n(\sum xy) - (\sum x) \cdot (\sum y)}{\sqrt{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2) \cdot (n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}}$$

Ket :

$r_{(x,y)}$ = koefisien korelasi x terhadap y
 x = variabel x
 y = variabel y

Dasar pengambilan keputusan dalam analisis korelasi dapat menggunakan nilai r tabel sebagai pembanding untuk nilai r hitung atau nilai koefisien korelasi. Membandingkan nilai r hitung dengan nilai r tabel jika nilai r hitung $>$ r tabel maka ada korelasi antar variabel yang dihubungkan, jika nilai r hitung $<$ r tabel maka tidak ada korelasi antar variabel yang dihubungkan. Membandingkan nilai signifikansi (sig.) dengan nilai α 0,05 (Supranto, 2008).