

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro pada tanggal 27 Maret 2017 - 23 Mei 2017.

#### **3.1. Materi**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kakao baru panen yang diperoleh dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember, aquades untuk mengatur kadar air media simpan atau tingkat kelembaban media simpan, arang sekam dan serbuk gergaji sebagai media simpan untuk menjaga kadar air benih selama penyimpanan relatif stabil.

Bahan lain adalah air kapur, kantong plastik polypropelen yang dilubangi untuk menjaga aerasi udara, fungisida yang berbahan aktif carbendazim dan mankozeb untuk melindungi benih dari serangan jamur, wadah penyimpanan menggunakan toples kotak dan media pasir digunakan untuk menguji viabilitas benih kakao. Beberapa alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, gelas ukur, termohigrometer, *conductivity meter*, *handsprayer*, timbangan analitik dan kamera.

### 3.2. Metode

**Rancangan percobaan.** Penelitian ini merupakan percobaan Faktorial 3x4 menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan ulangan 3 kali. Faktor pertama adalah jenis media simpan yaitu:

P0 : kontrol (tanpa media simpan)

P1 : arang sekam

P2 : serbuk gergaji.

Faktor kedua adalah kelembaban media simpan yaitu:

K0 : kontrol (tanpa perlakuan kelembaban)

K1 : kadar air 15 %

K2 : kadar air 30%

K3 : kadar air 45 %.

Setiap perlakuan terdiri atas 3 ulangan, sehingga terdapat 36 satuan percobaan.

Masing-masing satuan percobaan terdiri dari 50 benih, sehingga total benih yang digunakan sebanyak 1.800 benih.

#### Layout percobaan.

P <sub>2</sub> K <sub>0</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>0</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>0</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>1</sub> U <sub>3</sub>
P <sub>1</sub> K <sub>0</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>0</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>2</sub> U <sub>3</sub>
P <sub>1</sub> K <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub> U <sub>1</sub>
P <sub>0</sub> K <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>0</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>1</sub> U <sub>2</sub>
P <sub>2</sub> K <sub>0</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>0</sub> U <sub>2</sub>
P <sub>1</sub> K <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> K <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>0</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> K <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> K <sub>3</sub> U <sub>1</sub>

**Prosedur Penelitian.** Penelitian dimulai dengan seleksi buah kakao, sebelum buah kakao dipecah, dilakukan penyortiran sehingga diperoleh buah dengan bentuk dan ukuran yang normal, sehat, tidak berkerut dan bebas bintik-bintik. Pemecahan buah secara melintang memakai alat pemukul, selanjutnya biji berdaging (pulp) dikeluarkan dari buah dan dihilangkan dagingnya dengan menggumpalkan dengan air kapur 2,5% (25 g/l air) sekitar 30 detik. Satu liter air tersebut digunakan untuk 1.000 butir benih. Biji dikeluarkan dari air kapur dan dicuci dengan air sampai bersih. Kemudian dilanjutkan dengan pengupasan kulit ari secara manual. Biji cacat, memar, dan lunak tidak diproses lebih lanjut. Benih direndam selama 10 menit dalam larutan fungisida konsentrasi 1% (1 g/l air). Kadar air benih kakao diturunkan dengan dikering-anginkan pada tempat teduh. Pengeriang-anginan benih dilakukan dengan menebar secara merata diatas kotak pengeriang.

Arang sekam dan serbuk gergaji sebelum digunakan terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran/benda lain yang ikut tercampur. Media simpan dikering-ovenkan pada suhu 105<sup>0</sup>C hingga kadar air 0%. Setelah media simpan dioven dilanjutkan dengan pengaturan tingkat kelembaban sebagai berikut : 1) 200 g masing-masing media simpan + 30 ml air, diperoleh kadar air media simpan  $\pm$  15%, 2) 200 g masing-masing media simpan + 60 ml air, diperoleh kadar air media simpan  $\pm$  30%, 3) 200 g masing-masing media simpan + 90 ml air, diperoleh kadar air media simpan  $\pm$  45%

Kemasan plastik yang digunakan sebanyak 36 lembar dengan ukuran 20 x 11 cm, digunakan untuk membungkus benih kakao yang akan disimpan dalam

stoples. Plastik polypropelen dilubangi sebelum digunakan, kemudian setiap plastik polypropelen diisi 50 butir benih, lalu ditutup. Benih yang sudah dikemas dalam plastik dimasukkan kedalam wadah simpan stoples kotak. Setiap stoples diisi satu kantong plastik dan diberi media simpan 200 g sesuai dengan perlakuannya dan selanjutnya kotak stoples ditutup.

Kegiatan pengujian viabilitas benih kakao dilakukan pada akhir masa penyimpanan (setelah 28 hari penyimpanan). Pengukuran kadar air benih dilakukan dengan metode oven suhu tinggi, sedangkan pengukuran DHL benih menggunakan alat *conductivity meter*. Pengujian dan pengamatan daya kecambah, vigor kecambah, kecepatan tumbuh, tinggi tanaman, jumlah daun, berat kering bibit dan indeks vigor hipotetik diuji dengan mengecambahkan benih kakao pada kotak semai dengan media pasir halus dengan jarak 2,5 cm x 4 cm dan benih ditanaman dengan kedalaman  $\pm 5$  cm.

**Parameter yang diamati.** Pengukuran parameter pengamatan dilakukan dengan cara sebagai berikut.

Kadar Air Benih (KA)

Pengukuran kadar air benih dilakukan dengan cara mengambil benih kakao untuk masing masing kombinasi perlakuan sebanyak 5 butir benih. Metode yang digunakan adalah metode oven suhu tinggi (105<sup>0</sup>C) selama 24 jam. Kadar air benih dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut (Palupi dkk., 2012):

$$KA = \frac{M1-M2}{M1} \times 100\%$$

Keterangan : M1 = Berat benih sebelum dioven

M2 = Berat benih setelah dioven

### Daya Hantar Listrik (DHL)

Pengujian DHL dilakukan pada 5 butir benih dan ditimbang beratnya, lalu direndam dalam 100 ml aquades selama 24 jam. Kemudian air rendaman diukur konduktivitas listriknya dengan menggunakan *conductivity meter*. Penghitungan konduktivitas per gram benih untuk masing-masing ulangan menggunakan rumus sebagai berikut (Halimursyadah, 2012):

$$\text{Nilai DHL } (\mu\text{S/cm}) = \frac{\text{Konduktivitas sampel - blanko } (\mu\text{S/cm})}{\text{berat benih per ulangan}}$$

### Daya Berkecambah (DB)

Daya berkecambah dihitung berdasarkan jumlah benih yang berkecambah normal. Kriteria kecambah normal adalah akar panjang, daun tegak, epikotil batang tumbuh baik dengan kuncup ujung yang utuh. Daya berkecambah dihitung pada pengamatan I (14 HST) dan pengamatan II (21 HST) (Palupi dkk., 2012), dengan rumus:

$$\text{DB} = \frac{\sum \text{KN Pengamatan I} + \sum \text{KN Pengamatan II}}{\sum \text{Benih yang diuji}} \times 100\%$$

Keterangan : KN = Kecambah Normal.

### Vigor Kecambah (VK)

Vigor kecambah ditentukan berdasarkan penampilan kecambah yang tumbuh kuat (vigor). Pengamatan dilakukan pada benih yang sama dengan benih pada pengujian daya kecambah dengan membandingkan kecambah yang satu dengan kecambah lainnya pada pengamatan ke-28. Vigor kecambah (VK) dihitung dengan menggunakan rumus (Palupi dkk., 2012):

$$VK = \frac{\sum \text{Benih yang bervigor kuat}}{\sum \text{Benih yang diuji}} \times 100\%$$

Kecepatan Tumbuh ( $K_{CT}$ )

Kecepatan tumbuh dihitung berdasarkan persentase total kecambah normal setiap hari dalam satuan per etmal (per 24 jam). Pengamatan dilakukan pada benih yang sama dengan pengujian daya berkecambah dan dilakukan setiap hari selama waktu perkecambahan 21 hari. Kecepatan tumbuh ( $K_{CT}$ ) dinyatakan dalam persen per etmal dan dihitung dengan rumus (Palupi dkk., 2012):

$$(K_{CT}) = \frac{B1}{T1} + \frac{B2}{T2} + \dots + \frac{Bn}{Tn}$$

Keterangan : B = Persentase kecambah normal (% etmal<sup>-1</sup>)  
 T = waktu perkecambahan (etmal = 24 jam)  
 n = akhir perkecambahan

Pertumbuhan Bibit (Jumlah Daun, Tinggi Tanaman dan Berat Kering Bibit Umur 28 Hari)

Pengamatan pertumbuhan dilakukan pada benih yang sama dengan pengujian daya kecambah. Pengamatan pertumbuhan bibit dilakukan tanpa pemindahan bibit dari lokasi persemaian, dilakukan dengan mengambil lima tanaman contoh dari kotak semai umur 28 HST pada setiap unit satuan percobaan. Daun diamati adalah daun yang telah terbentuk sempurna dan bukan daun dalam bentuk *flush* atau daun muda dengan panjang daun 1 cm dan lebar 0,5 cm. Tinggi bibit diukur mulai dari batas permukaan medium tanam hingga pucuk daun. Pengukuran bobot kering bibit (BKB) dilakukan dengan cara memisahkan kecambah normal dengan cadangan makanannya. Kecambah tersebut kemudian dimasukkan kedalam amplop dan dioven pada suhu 105<sup>0</sup>C selama 24 jam.

$$BKB (g) = K1 - K0$$

Keterangan : K1 = Bobot kecambah + amplop setelah dioven

K0 = Bobot amplop kosong.

Indeks Vigor Hipotetik (IVH)

Indeks vigor bibit, diukur berdasarkan pertumbuhan bibit meliputi jumlah daun bibit, tinggi, bobot kering bibit umur 28 HST. IVH dihitung dengan rumus sebagai berikut (Mandasari dkk., 2014) :

$$IVH = \frac{(\log TT + \log JD + \log BKB)}{\log T}$$

Keterangan :

IVH : indeks vigor hipotetik

TT : tinggi tanaman (cm)

JD : jumlah daun (helai)

BKB : berat kering bibit (g)

T : umur bibit (hari)

**Analisis data.** Model linier RAL Faktorial adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + K_j + (PK)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = pengamatan pada faktor jenis media simpan ke-i, tingkat kelembaban media simpan ke-j dan ulangan ke-k.

$\mu$  = *mean* populasi

$P_i$  = pengaruh perlakuan jenis media simpan ke-i (i = 1,2,3)

$K_j$  = pengaruh perlakuan tingkat kelembaban media simpan ke-j (j = 1,2,3,4)

$(PK)_{ij}$  = pengaruh interaksi jenis penyanggga ke-i dan tingkat kelembaban media simpan ke-j

$\varepsilon_{ijk}$  = Galat pada perlakuan jenis media simpan ke-i, tingkat kelembaban media simpan ke-j dan ulangan ke-k.

Susunan hipotesisnya sebagai berikut :

Pengaruh faktor jenis media simpan kelembaban (P) :

$H_0$  =  $P_0 = P_1 = P_2 = 0$ , (Tidak ada pengaruh jenis media simpan kelembaban terhadap respon yang diamati)

$H_1 = P_0 = P_1 = P_2 \neq 0$ , (Minimum ada satu pasang jenis media simpan yang berbeda terhadap respon yang diamati)

Pengaruh tingkat kelembaban media simpan (K) :

$H_0 = K_0 = K_1 = K_2 = K_3 = 0$ , (Tidak ada pengaruh tingkat kelembaban media simpan terhadap respon yang diamati)

$H_1 = K_0 = K_1 = K_2 = K_3 \neq 0$ , (Minimum ada satu pasang tingkat kelembaban media simpan yang berbeda terhadap respon yang diamati)

Pengaruh interaksi jenis media simpan dan tingkat kelembaban media simpan (PxK) :

$H_0 = P_0K_0 = P_1K_1 = \dots = P_nK_n = 0$ , (Tidak ada pengaruh interaksi jenis media simpan dan tingkat kelembaban media simpan terhadap respon yang diamati)

$H_1 = P_0K_0 = P_1K_1 = \dots = P_nK_n \neq 0$ , (Minimum ada satu pasang interaksi jenis media simpan dan tingkat kelembaban media simpan yang berbeda terhadap respon yang diamati).

Semua data dianalisis ragam dan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) apabila terdapat pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati.