

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di sub-laboratorium Balai Pengawasan Dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan Dan Hortikultura (UPT PSBTPH) di Desa Mangli Kecamatan Kaliwates Kabupaten Jember provinsi Jawa Timur. Waktu penelitian dimulai akhir November 2010 – Maret 2011.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah sabit, alat perontok (treshser), rak perkecambahan, palet tempat meletakkan karung benih, bak perkecambahan, ayakan pasir, pinset, mechanical divider, timbangan analitik, seed burrow, sendok plastik, pengukur kadar air dole 400 (moisture meter), pelubang media, germinator, gembor, garis mistar, gunting, kamera, dan alat-alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah benih dasar (BD) kedelai varietas Gepak kuning, kantong plastik kedap udara, karung plastik, media pasir, air, media kertas (kertas koran).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Tersarang (Nested Design) Gabungan yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama Kadar air dengan 4 taraf kadar air tiap varietas yaitu (Ka1, Ka2, Ka3 dan Ka4) sebagai sebagai petak utama (mainplot), dan faktor kedua waktu simpan (P) dengan sembilan taraf (P0, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7,dan P8) sehingga diperoleh kombinasi perlakuan 1 varietas x 4 kadar air x 9 waktu simpan yaitu 36 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Untuk total berat benih yang diperlukan pada setiap perlakuan adalah sebanyak $9 \times 1/2 \text{ kg} = 4 \frac{1}{2} \text{ kg}$ untuk tiap kadar air sehingga untuk 4 taraf kadar air dibutuhkan sekitar 54 kg benih kedelai varietas Gepak Kuning.Dengan faktor percobaan sebagai berikut :

- Faktor pertama perlakuan kadar air (Ka) :

Ka1 : Kadar air benih 11 % (10,5% s/d 11,5 %)

Ka2 : Kadar air benih 12 % (11,5% s/d 12,5 %)

Ka3 : Kadar air benih 13 % (12,5% s/d 13,5 %)

Ka4 : Kadar air benih 14 % (13,5% s/d 14,5 %)

- Faktor kedua waktu simpan (P):

P0 : Waktu simpan 0 hari

P1 : Waktu simpan 15 hari

P2 : Waktu simpan 30 hari

P3 : waktu simpan 45 hari

P4 : waktu simpan 60 hari

P5 : waktu simpan 75 hari

P6 : waktu simpan 90 hari

P7 : waktu simpan 105 hari

P8 : waktu simpan 120 hari

Kombinasi dari kedua faktor yang diujikan tersebut :

Ka1P0	Ka1P1	Ka1P2	Ka1P3	Ka1P4	Ka1P5	Ka1P6	Ka1P7	Ka1P8
Ka2P0	Ka2P1	Ka2P23	Ka2P3	Ka2P4	Ka2P5	Ka2P6	Ka2P7	Ka2P8
Ka3P0	Ka3P1	Ka3P2	Ka3P3	Ka3P4	Ka3P5	Ka3P6	Ka3P7	Ka3P8
Ka4P0	Ka4P1	Ka4P2	Ka4P3	Ka4P4	Ka4P5	Ka4P6	Ka4P7	Ka4P8

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Persiapan Benih Kedelai

Varietas Gepak kuning yang diperoleh dari lahan pertanaman kedelai yang ditanam di Desa Gambirono, Kecamatan Bangsalsari, Kabupaten Jember pada tanggal 29 Juli 2010 dan dipanen pada akhir Oktober 2010. Panen dilakukan pada fase masak fisiologis yaitu fase pertumbuhan R9 (polong lewat masak). Brangkasan kedelai yang dipanen kemudian dijemur pada lantai jemur dengan ketebalan jemur kurang lebih 8 cm (penjemuran awal). Setelah penjemuran brangkasan dilakukan pemisahan brangkasan dengan polong biji kedelai menggunakan alat perontok threshher. Setelah kadar air pemisahan brankasan dan perontokan mencapai 15,8%, dilakukan pengukuran kadar air awal pada semua benih sebelum mendapatkan kadar air yang di inginkan dalam penelitian. Pengukuran kadar air awal bertujuan untuk menentukan berapa lama penjemuran benih untuk mendapatkan kadar air yang sesuai dengan perlakuan. Ketebalan penjemuran adalah sekitar 1,5 cm untuk semua perlakuan benih. Penjemuran benih menggunakan alas dari karung/terpal. Ditengah-tengah waktu penjemuran dilakukan pembalikan benih yang bertujuan agar benih yang tadinya berada dibawah jadi berada diatas dan agar kering benih merata. Pengukuran kadar air awal bertujuan untuk menentukan berapa lama penjemuran benih untuk mendapatkan kadar air yang sesuai dengan perlakuan.

3.4.2 Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air benih varietas berbiji kecil (varieas Gepak Kuning) menggunakan metode praktis yaitu menggunakan alat pengukur kadar air (moisture tester). Cara mengukur kadar air benih yaitu pertama menimbang benih dengan berat acuan benih 140 gr dan diulang 2 kali untuk mendapatkan kadar air yang konstan (ISTA,2008). Benih kedelai yang sudah dirontok kemudian dikeringkan dengan sinar matahari yang optimum sehingga mencapai standart masing-masing perlakuan yang telah ditentukan yaitu Ka1 dengan

kadar air benih 11%, Ka2 dengan kadar air benih 12%, Ka 3 dengan kadar air benih 13% dan Ka4 dengan kadar air benih 14%. Sebelum mencapai standar masing-masing perlakuan kadar air yang telah ditentukan yaitu Ka1 dengan kadar air benih 11% (10,5% - 11,5%), Ka2 dengan kadar air benih 12% (11,5%-12,5%), Ka3 dengan kadar air benih 13% (12,5%-13,5%), dan Ka4 dengan kadar air benih 14% (13,5%-14,5%). Kemudian Dilakukan penjemuran bertahap dari kadar air perontokan dan pemisahan brankasan 15,8% menuju 14 dan 13 %. Kadar air 11% dan 12% dilakukan pada hari berikutnya karena untuk menjaga mutu benih agar tidak rusak. Kadar air sebelum penjemuran harus diukur yang bertujuan untuk mengetahui kadar air sebelum awal penjemuran agar tidak terjadi kesalahan dalam menentukan lama penjemuran untuk memperoleh standart masing-masing kadar air perlakuan yang diujikan. Berdasarkan penelitian pendahuluan apabila panas matahari stabil maka setiap satu jam penjemuran kadar air akan turun sebesar $\pm 1\%$.

3.4.3 Persiapan Tempat dan Penyimpanan.

Tempat yang digunakan untuk penyimpanan benih kedelai yaitu Gudang Benih milik PT Sang Hyang Sri Jember. Sebelum digunakan sebagai tempat penyimpanan ruangan gudang dibersihkan dan dipasang palet untuk tempat meletakkan benih. Benih kedelai yang telah dijemur sesuai kadar air masing-masing perlakuan dikemas di dalam plastik innerbag dengan berat masing-masing 1/2Kg dan dibuat sebanyak 9 kantong tiap masing-masing perlakuan sehingga didapatkan 108 kantong plastik kedap udara, kemudian setiap perlakuan dikemas dimasukkan ke dalam karung plastik, pengemasan dengan karung plastik dijadikan 4 berdasarkan taraf kadar air. Selanjutnya ditempatkan pada palet-palet benih yang telah disediakan pada gudang penyimpanan.

3.4.4 Pengujian Laboratorium

Uji laboratorium dilakukan bertujuan mengetahui kadar air benih, laju perkecambahan, dan daya tumbuh benih. Pada pengujian kadar air benih untuk

mengetahui hasil penurunan kadar air pada waktu simpan yaitu dengan cara mengukur kadar air benih menggunakan alat pengukur kadar air dole 400 (moistur meter)

Pada pengujian laju perkecambahan dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak jumlah benih yang cepat tumbuh setelah mengalami penyimpanan, sedangkan untuk pengujian daya tumbuh kecambah yaitu dilakukan untuk mengetahui potensi perkecambahan dari masing-masing benih untuk memperoleh kecambah yang normal. Kecambah normal adalah kecambah yang semua struktur esensialnya berkembang dengan baik, lengkap, proposisional (seimbang) dan sehat.

3.4.4.1 Pengukuran Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan Moistur tester dole 400. Pengukuran kadar air awal benih dilakukan sebelum penjemuran. Hal ini dilakukan dengan tujuan menentukan lama penjemuran agar didapatkan kadar air yang sesuai dengan perlakuan. Sampel benih yang digunakan untuk mengukur kadar air adalah seberat 140 g. Setelah penjemuran dilaksanakan dan didapat kadar air yang diharapkan, maka benih dimasukan ke dalam kantong plastik kedap udara dengan berat masing-masing $\frac{1}{2}$ kg dengan jumlah sesuai ulangan dan perlakuan.

Pengujian daya tumbuh dan laju perkecambahan dilakukan sebanyak 9 kali selama penelitian berlangsung yaitu pada 0 hari simpan, 15 hari simpan, 30 hari simpan, 45 hari simpan, 60 hari simpan, 75 hari simpan, 90 hari simpan, 105 hari simpan, dan 120 hari simpan.

3.4.4.2 Pengujian Daya Kecambah

1. Pengambilan sampel Benih Kedelai Untuk Perkecambahan

Pengambilan benih kedelai dari setiap kombinasi perlakuan tersebut secara acak sebanyak 200 benih, jadi untuk 3 ulangan dibutuhkan 600 benih pada masing-masing kantong plastik yang berisikan $\frac{1}{2}$ kg benih kedelai.

2. Persiapan Media Kecambah

Pasir diayak dan dibasahi kemudian dimasukan kedalam bak perkecambahan. Ketebalan timbunan pasir ± 8 cm, Kemudian media pasir dilubangi menggunakan alat pelubang media jumlah bak perkecambahan yang dibutuhkan dari masing-masing perlakuan ,dan sebanyak 3 ulangan , jadi jumlah bak yang dipakai untuk perkecambahan sebanyak 36 buah.

3. Penanaman Benih

Sebelum benih dari setiap perlakuan dikecambahan terlebih dahulu dicampur dengan menggunakan mechanical divider untuk mendapatkan benih yang homogen. Kemudian menyiapkan media perkecambahan, media yang digunakan untuk pengujian daya tumbuh menggunakan media pasir. Setelah media yang digunakan untuk perkecambahan selesai disiapkan, kemudian benih dimasukkan satu persatu sebanyak 200 butir benih kedalam pasir yang sudah diberi lubang menggunakan alat pelubang media sebanyak 100 lubang per bak yang telah disediakan, kemudian 1 lubang hanya diisi 1 butir benih. Kemudian benih ditimbun dengan pasir dengan ketebalan 0.5 - 1 cm.

4. Penyiraman

Penyiraman dilakukan jika pada media tumbuh kecambah mulai kering dan penyiraman dilakukan secara merata pada tiap-tiap bak perlakuan.

5. Pengamatan

Pengamatan untuk daya kecambah meliputi

- 1) Kecambah Normal
- 2) Kecambah Abnormal
- 3) Benih Mati
- 4) Field emergence

Untuk Pengamatan “field emergence” dilakukan pada hari ke tiga sampai hari ketujuh setelah benih ditabur dengan cara mengamati kotyledon sudah tumbuh di atas permukaan media pasir. Sedangkan pengamatan daya

kecambah dilakukan pada hari ketujuh, dengan cara membongkar media pasir dan memilah dari kecambah normal dengan kecambah abnormal dan benih mati.

3.4.4.3 Pengujian Laju Perkecambahan

1. Persiapan Media Untuk Laju Perkecambahan

Media yang digunakan untuk pengujian laju perkecambahan adalah media kertas. Kertas media yang dipakai adalah kertas koran dengan metode yang digunakan untuk pengujian laju perkecambahan yaitu metode UKD_{dp} (Uji Kertas Digulung Didirikan dalam Plastik). Cara penyiapan media kertas yaitu memotong media substrat dengan ukuran 20 x 30 cm (3 – 4 lembar), kemudian dibasahi. setelah itu diletakkan di atas plastik dengan ukuran yang sama. Jumlah media yang diperlukan adalah sebanyak 48 buah. Tiap media kertas ditanami benih sebanyak 100 benih sehingga untuk tiap perlakuan diperlukan 4 media untuk satu ulangan.

2. Persiapan Benih Kedelai Untuk Perkecambahan

Cara pengambilan benih kedelai dari masing-masing kombinasi perlakuan tersebut yaitu dengan pengambilan secara acak sebanyak 100 benih per kombinasi, jadi untuk 3 ulangan dibutuhkan 300 benih pada masing-masing kantong plastik kedap udara yang berisikan 1/2 kg benih kedelai. Pengacakan benih dilakukan dengan menggunakan “mechanical divider”.

3. Penanaman Benih

Sebelum benih diperkecambahkan terlebih dahulu dicampur dengan menggunakan mechanical divider untuk mendapatkan benih yang homogen dari benih kedelai varietas Gepak kuning. Media digunakan untuk perkecambahan selesai disiapkan, benih ditaruh satu persatu pada media kertas koran. kemudian digulung dan diletakkan kedalam germinator.

4. Penyiraman

Pada media kertas tidak dilakukan penyiraman dikarenakan untuk menghindari pengaruh penyiraman yang tidak merata yang nantinya akan mempengaruhi laju perkembahan benih. Dengan menggunakan plastik kelembaban pada media kertas akan dikendalikan sehingga tidak diperlukan penyiraman atau penambahan air pada media.

5. Pengamatan Laju Perkecambahan

Pengamatan dilakukan pada hari ke satu, dua, dan ke tiga setelah benih di tabur yaitu dengan cara menghitung jumlah tanaman yang tumbuh. Tanaman dikatakan tumbuh apabila saat pengamatan radikel sudah muncul pada media kertas dengan tinggi minimal 0,5 cm.

3.4.4 Pengujian Vigor Benih

Benih yang cepat tumbuh menunjukkan benih tersebut mampu mengatasi segala macam kondisi sub optimum. Pengamatan kecambah kedelai yang vigor dilakukan pada hari ke 7 setelah pananaman pada media pasir. Kecambah vigor ditunjukkan oleh banyaknya jumlah kecambah normal pada hitungan pertama yaitu hari ke-7 dalam pengujian Daya kecambah.

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Laju Perkecambahan

Laju perkecambahan dapat diukur dengan menghitung jumlah hari yang diperlukan untuk munculnya radikel

Rumus Laju Perkecambahan :

$$\text{Rata - rata hari} = \frac{N1T1 + N2T2 + \dots + NXTX}{\text{Jumlah benih yang berkecambah}}$$

Dimana :

N = jumlah benih yang berkecambah pada satuan waktu tertentu.

T = menunjukkan jumlah waktu antara awal pengujian sampai dengan akhir dari interval tertentu suatu pengamatan.

(Sutopo, 2004)

3.5.2 Daya Kecambah

Pengamatan dilakukan pada hari ke – 7 setelah benih tabur dengan cara membongkar media pasir dan mengamati satu persatu. Tanaman kemudian dipisahkan antara kecambah normal , abnormal, dan biji mati atau busuk.

Rumus Daya Tumbuh Kecambah dan Persentase Penurunan Benih

$$DB = \frac{\sum KN}{\sum \text{Benih yang dikecambahan}} \times 100\%$$

Keterangan :

DB = Daya berkecambah

KN = Kecambah normal

(Sutopo,2004)

- a. Kecambah dikatakan normal apabila memiliki akar, batang, keping biji dan helai daun.

- b. Kecambah dikatakan abnormal apabila pertumbuhan tidak sempurna dan tidak memiliki salah satu atau lebih bagian tanaman yang meliputi akar, hypokotil, keping biji dan helai daun.
- c. Biji dikatakan mati atau busuk apabila biji pada akhir pengamatan tidak berkecambah atau busuk.

3.5.3 Vigor

Pengamatan vigor benih dilakukan pada hari ke 7 atau bersamaan dengan pengamatan daya kecambah, pada pengamatan vigor benih yang diamati adalah kecambah yang normal vigor dengan kecambah normal less vigor.

Rumus Vigor Benih

$$\%Vg = \frac{\sum \text{Vigor}}{\sum \text{ Benih yang dikecambahan}} \times 100\%$$

Keterangan :

Vg = Persentase viogor

(Sutopo, 2004)

3.5.4 Field Emergence

Pada variabel pengamatan field emergence, pengamatan dilakukan pada hari ke 4 yang mana yang diamati adalah jumlah kecambah yang muncul pada media pasir.

3.6 ANALISIS DATA

Untuk mengetahui adanya respon varietas gepak kuning terhadap kadar air awal berbeda pada penurunan mutu fisiologis benih menggunakan analisa Rancangan Tersarang (Nested Design).

Jika nilai ragam galat semua lingkungan homogen maka dapat menggunakan satu sumber galat untuk melakukan analisis ragam gabungan masing masing lokasi (Tabel 1)

Analisis ragam gabungan di empat taraf kadar air awal dilakukan untuk mengetahui adanya interaksi Ka (kadar air) x P (lama simpan) yang mempengaruhi masing-masing perlakuan P (lama simpan) di keempat kadar air awal yang berbeda. Analisis ragam gabungan ditampilkan pada Tabel 1

Model untuk rancangan gabungan Tersarang (Nested Design) sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j(i) + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = respon pengamatan dari perlakuan kadar air ke-i, lama simpan ke-j dan ulangan ke-k.

μ = nilai tengah umum

α_i = pengaruh perlakuan kadar air awal ke-i

$\beta_j(i)$ = pengaruh lama simpan ke-j yg tersarang pada kadar air awal ke-i

ϵ_{ijk} = pengaruh galat percobaan pada kadar air awal ke-I, Lama simpan ke-j yang tersarang pada kadar air awal ke i dan ulangan ke-k.

Tabel 1. Anova Gabungan

Sumber keragaman	Db	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F hitung	
				5%	1%
P (lama simpan)	P-1	JK _P	KT _P		
Ulangan/ Ka	Ka (U-1)	JK _{UXKa}	KT _{UXKa}	KT P/ KT Ka	
Ka (kadar air)	Ka-1	JK _{Ka}	KT _{Ka}	KT Ka/KT P	
Ka x P	(Ka-1)(P-1)	JK _{KaXP}	KT _{KaXP}	KT P/KT KaP	
Galat	P(U-1)(Ka-1)	JK _{galat}	KT _{galat}	KT KaP/KTG	
Total	KaPU-1	JK _T			

Semua data yang diperoleh dianalisa dengan sidik ragam taraf nyata 5%. Untuk perlakuan yang berbeda nyata dilakukan uji lanjutan Duncan multiple Range Test (DMRT).

Data dengan persentase antara 0% sampai dengan 100% dilakukan transformasi arc sin. Sebelum dilakukan trasformasi semua nilai 0 diganti dengan $(1/4(n))$ dan semua nilai 100 dengan $(100 - (1/4(n)))$, dimana n adalah banyaknya satuan yang data persentase tersebut dibuat (yaitu penyebut yang digunakan dalam menghitung persentase). (Gomez and Gomez, 1995).

