

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2015 di Ruang Teknologi Benih, Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah plastik *polypropylene* sebagai wadah pembungkus benih di penyimpanan, kotak perkecambahan (*seed bag*), hand sprayer untuk menjaga kelembaban benih pada saat tahap penkecambahan, gelas ukur untuk mengukur volume, timbangan analitik, kertas plano sebagai alas untuk mengeringkan benih, refrigator, oven, pinset, dan penggaris.

Bahan yang digunakan adalah benih karet klon PB 260 dan klon GT 1 dari Balai Penelitian Sungei Putih, *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000 sebagai pelapis benih dalam penyimpanan, fungisida dengan bahan aktif *phyraclostrobin* + *metiram*, aquades sebagai pelarut, pasir, label, dan air.

3.3 Metode Penelitian

Pada penelitian ini model rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor.

Faktor pertama ialah Klon (K) yang terdiri dari 2 klon perlakuan, yaitu:

K_1 = Klon GT 1

K_2 = Klon PB 260

Faktor kedua ialah Periode Simpan (P) yang terdiri dari 4 periode, yaitu:

P_1 = Penyimpanan 2 minggu

P_2 = Penyimpanan 4 minggu

P_3 = Penyimpanan 6 minggu

P_4 = Penyimpanan 8 minggu

Percobaan ini dilakukan dengan empat ulangan sehingga terdapat 32 satuan percobaan, yaitu 4 x 8 kombinasi perlakuan atau 4 x 2 x 4 unit percobaan. Setiap satuan percobaan menggunakan 100 butir benih untuk disimpan. Gambaran kombinasi dari kedua faktor dapat dilihat pada Lampiran 3.

Data pengamatan diuji dengan menggunakan uji F, jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka akan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5 %.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan benih dan perlakuan dengan PEG

Benih yang digunakan adalah benih karet klon PB 260 dan GT 1 yang didapatkan dari Balai Penelitian Sungei Putih. Pada tahap awal, benih dicuci bersih untuk membersihkan kotoran luar. Setelah benih dibersihkan, benih kemudian direndam kedalam campuran larutan PEG 6000 dengan taraf konsentrasi 30% dan fungisida yang mengandung bahan aktif *phyraclostrobin* dengan dosis 40g/1 kg benih selama 10 menit. Caranya PEG 6000 yang telah diencerkan dengan konsentrasi 30 % dicampur dengan 54.68 g fungisida diletakkan di wadah plastik dengan volume 1400 ml. Benih kemudian direndam di dalamnya. Benih tersebut selanjutnya dikeringanginkan selama 4 jam (Fazilla *et al.*, 2014). Proses pengeringanginan dilakukan dengan cara benih dialasi dengan kertas dan diletakkan pada tempat yang dimungkinkan terkena angin meskipun tidak terkena sinar matahari secara langsung.

3.4.2 Penyimpanan benih

Benih karet kedua klon tersebut masing-masing disimpan dalam kemasan plastik *polypropylene* beraerasi yang diletakkan dalam alat refrigotor dengan suhu 7-10°C selama interval waktu yang ditentukan, yaitu 2, 4, 6, dan 8 minggu.

3.4.3 Penanaman dan pengujian viabilitas benih

Benih yang telah diberi perlakuan *seed coating* dengan PEG 6000 dan telah dibersihkan serta dikeringkan akan dikecambahkan pada bak perkecambahan dengan media pasir setinggi 10 cm selama 21 hari. Pada percobaan ini setiap satu satuan percobaan terdiri dari 100 butir benih dikurangi benih yang berjamur dan berkecambah di penyimpanan.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Pengamatan benih setelah penyimpanan

a. Persentase benih berkecambah di penyimpanan

Dilakukan dengan menghitung persentase benih berkecambah dalam penyimpanan dengan batasan bila radikula telah mencapai panjang 1 cm dihitung dengan rumus ISTA (2006):

$$\text{Benih Berkecambah (\%)} = \frac{\text{Benih Berkecambah}}{\text{Jumlah Benih Disimpan}} \times 100\%$$

b. Persentase benih berjamur di penyimpanan (%)

Dilakukan dengan menghitung persentase benih berjamur dalam penyimpanan ISTA (2006):

$$\text{Benih Berjamur (\%)} = \frac{\text{Benih Berjamur}}{\text{Jumlah Benih Disimpan}} \times 100\%$$

c. Kadar Air Benih (%)

Pengukuran kadar air benih dilakukan sebelum dan sesudah penyimpanan, masing-masing digunakan sebanyak 5 biji dengan 2 ulangan. Pengukuran kadar air dilakukan dengan dioven pada suhu 105°C selama 24 jam dengan rumus (ISTA 2006):

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{BB - BK}{BB} \times 100\%$$

Keterangan:

BB = Bobot Basah

BK = Bobot Kering

3.5.2 Pengujian Benih Setelah Penanaman

a. Daya berkecambah (DB)

Daya berkecambah benih dilakukan dengan menghitung persentase benih berkecambah dalam pengecambahan 21 hari setelah persemaian benih, dihitung dengan rumus (ISTA 2006):

$$\% \text{ Daya Berkecambah} = \frac{\text{Benih Berkecambah Normal}}{\text{Jumlah Benih Dikecambahkan}} \times 100\%$$

b. Kecepatan Tumbuh (K_{CT})

Tolok ukur kecepatan tumbuh mengindikasikan vigor kekuatan tumbuh (V_{KT}). K_{CT} diukur berdasarkan persentase kecambah normal pada waktu mulai tanam sampai akhir pengamatan, yaitu 21 hari setelah tanam. Pengamatan dilakukan setiap hari, terhadap persentase pertambahan kecambah normal pada hari pengamatan dibagi dengan etmal (24 jam). Unit tolak ukur K_{CT} adalah % per hari atau % per etmal, dengan rumus sebagai berikut (ISTA, 2006):

$$K_{CT} = \frac{N_1}{W_1} + \frac{N_2}{W_2} + \dots + \frac{N_a}{W_a}$$

Keterangan:

K_{CT} = Kecepatan Tumbuh (% KN/etmal)

$N_{1,2,\dots,a}$ = Persentase pertambahan kecambah normal pada waktu pengamatan, yaitu pada $W_{1,2,\dots,a}$ (%)

$W_{1,2,\dots,a}$ = Waktu pengamatan / jumlah hari setelah tanam (etmal)

a = Akhir pengamatan (hari ke-21)

c. Kecerempakan Tumbuh (K_{ST})

Vigor kekuatan tumbuh dengan tolak ukur Kecerempakan Tumbuh (K_{ST}) yang diukur berdasarkan persentase kecambah normal pada hari di antara pengamatan I dan pengamatan II (Indeks Vigor dan Daya Berkecambah), yaitu 7 dan 21 HST. Sehingga untuk pengamatan K_{ST} dilakukan pada 14 HST, dengan rumus sebagai berikut:

$$K_{ST} = \frac{\sum \text{KN pada 14 HST}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Keterangan:

K_{ST} = Kecerempakan Tumbuh

KN = Kecambah normal

d. Indeks Vigor (IV)

Nilai Indeks Vigor merupakan data yang diperoleh pada pengamatan hari ke-7 (Copeland dan McDonald, 1995).

$$IV (\%) = \frac{\text{Benih Berkecambah Normal pada Hari ke-7}}{\text{Jumlah Benih Dikecambahkan}} \times 100\%$$

e. Bobot Kering Kecambah Normal (BKKN)

Bobot Kering Kecambah Normal (BKKN) merupakan bobot kering dari semua kecambah normal. Pengamatan BKKN dilakukan pada hari terakhir pengamatan (21 HST) terhadap kecambah normal dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 24 x 3 jam. Setelah dikeringkan kemudian benih ditimbang dengan satuan gram (g) (Saryoko, 2011).

f. Panjang Hipokotil

Pengukuran panjang hipokotil dilakukan mulai dari leher akar sampai dengan pangkal kotiledon. Pengukuran dilakukan pada hari terakhir pengamatan atau hari ke-21 setelah tanam terhadap kecambah normal.

g. Panjang Akar

Pengukuran panjang akar dimulai dari pangkal leher akar primer sampai dengan ujung akar primer. Pengukuran dilakukan pada hari terakhir pengamatan atau hari ke-21 setelah tanam terhadap kecambah normal.

h. Panjang Epikotil (cm)

Pengukuran dimulai dari atas hipokotil sampai dengan titik tumbuh dengan menggunakan penggaris. Panjang epikotil diukur ketika berumur 21 HST.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis ragam atau uji F (analisis ragam dapat dilihat pada Tabel 1). Apabila uji F menunjukkan pengaruh nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

Tabel 1. Analisis ragam RAL faktorial.

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F-hitung	F-tabel
Klon (K)	k-1	JK(K)	KT(K)	KT(K)/KTG	$F_{(\alpha, db-K, db-G)}$
Periode Simpan (P)	p-1	JK(P)	KT(P)	KT(P)/KTG	$F_{(\alpha, db-P, db-G)}$
Interaksi (KxP)	(k-1)(p-1)	JK(KP)	KT(KP)	KT(KP)/KTG	$F_{(\alpha, db-KP, db-G)}$
Galat	kp(r-1)	JK(G)	KTG		
Total	kpr-1	JKT			