

### 3. METODE DAN PELAKSANAAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di PT. BISI International Tbk. Jl. Raya Pare Wates Km 9 Desa Kencong Kec. Kepung Kab. Kediri dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas pertanian Universitas Brawijaya. Lokasi penelitian terletak pada ketinggian  $\pm 125$  mdpl dengan di dalam rata-rata  $22-29^{\circ}$  C penelitian dilaksanakan pada bulan Desember – Maret 2015.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian saat dilapang meliputi alat budidaya, pinset, kertas label, benang, cutter, fhia film, penggaris, jangka sorong, timbangan analitik, alat tulis, kamera digital dan peralatan yang digunakan saat di laboratorium yaitu pipit tetes, cawan petri, dan mikroskop. Bahan yang digunakan pada saat dilapang ialah bahan tanaman cabai yang telah berbunga HP 1113 A sebagai tetua betina yang bersifat mandul (steril) dan HP 1113 C sebagai tetua jantan yang bersifat subur (fertile) sebagai restorer, NPK mutiara, KN03, SP36, KCL, insektisida dan fungisida. Sedangkan bahan yang digunakan untuk menguji viabilitas serbuk sari ialah asetocarmin 1%, glacial acetic acid 45ml, air destilasi 55ml.

#### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) dengan 2 fakror dan 3 ulangan. Faktor pertama adalah penyimpanan serbuk sari (H) yang terdiri dari :

- H1 = waktu penyimpanan 3 hari
- H2 = waktu penyimpanan 7 hari
- H3 = waktu penyimpanan 14 hari
- H4 = waktu penyimpanan 21 hari
- H5 = waktu penyimpanan 30 hari

Sedangkan untuk faktor ke 2 adalah di dalam penyimpanan pollen (S) yang terdiri dari :

- S1 = ruangan ( $24-27^{\circ}\text{C}$ )
- S2 = freezer ( $-5^{\circ}\text{C}$ )

Dari kedua faktor tersebut didapatkan 10 kombinasi perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 30 petak percobaan

Tabel 1. Kombinasi perlakuan

No.	Kombinasi	Perlakuan
1	H1S1	waktu penyimpanan 3 hari dan disimpan dalam kamar
2	H1S2	waktu penyimpanan 3 hari dan disimpan dalam <i>freezer</i>
3	H2S1	waktu penyimpanan 7 hari dan disimpan dalam kamar
4	H2S2	waktu penyimpanan 7 hari dan disimpan dalam <i>freezer</i>
5	H3S2	waktu penyimpanan 14 hari dan disimpan dalam ruangan
6	H3S2	waktu penyimpanan 14 hari dan disimpan dalam <i>freezer</i>
7	H4S1	waktu penyimpanan 21 hari dan disimpan dalam kamar
8	H4S2	waktu penyimpanan 21 hari dan disimpan dalam <i>freezer</i>
9	H5S1	waktu penyimpanan 30 hari dan disimpan dalam kamar
10	H5S2	waktu penyimpanan 30 hari dan disimpan dalam <i>freezer</i>

Penelitian dilakukan dengan mengambil bunga dari suatu populasi yang terdapat di dalam green house dengan ukuran 9 x 43 meter dengan jumlah populasi 820 tanaman yang dibagi menjadi 5 bedeng dengan populasi sebanyak 164 tanaman tiap bedeng. Penerapan perlakuan dilakukan dengan menyilangkan bunga jantan dan betina, bunga betina dipilih yang terbaik dan siap untuk dipolinasi masing-masing 10 bunga dalam satu tanaman. Bunga betina yang akan dipolinasi harus dalam kondisi sehat, segar dan tidak terkena penyakit maupun virus. Pada penelitian ini terdapat 10 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali. Setiap kombinasi perlakuan terdapat 5 bunga contoh. Setiap ulangan terdiri dai 10 x 20 bunga, sehingga terdapat 600 bunga yang dipolinasi.

### 3.4. Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan yang dilaksanakan dalam penelitian meliputi:

#### 3.4.1 Pemilihan tetua

Dalam penelitian ini dipilih kode tanaman HP 1113 A sebagai tetua betina dengan sifat mandul (steril) dan HP 1113 C sebagai tetua jantan yang bersifat fertil. Nantinya hasil persilangan tanaman kode tanaman ini berupa cabai besar varietas hibrida



Gambar 1. Morfologi bunga cabai (A) Bunga Betina (steril), (B) Bunga Jantan (fertile)

#### 3.4.2 Persiapan

Dalam melakukan polinasi perlu disediakan alat – alat antar lain Selontop (alat untuk polinasi), stik, alkohol, gelas kecil yang diberi lubang (otok) dan fial film. Selontop ini berfungsi untuk meletakkan serbuk apabila sudah akan dilaksanakan polinasi. Kayu kecil ini digunakan untuk polinasi apabila serbuk sarinya sedikit. Alkohol ini berfungsi untuk mensterilkan alat apabila habis dipakai untuk polinasi kode tanaman lainnya. Gelas kecil ini berfungsi untuk merontokkan serbuk sari sedangkan fial film untuk menyimpan serbuk sari.



Gambar 2. Alat fertilisasi (a). Selontop dan stik, (b). Gelas yang berlubang, (c). Fial film

### 3.4.3 Pengambilan Bunga Jantan

Pengambilan bunga jantan ini dilakukan dengan cara mengambil bunga yang sudah mekar dengan menggunakan tangan dan dikumpulkan ke dalam kantong atau tempat kecil. Tujuan dari pengambilan bunga jantan ini untuk mendapatkan serbuk sari yang akan digunakan untuk polinasi.



Gambar 3. Pengambilan bunga jantan

### 3.4.4 Pengambilan dan penjemuran pollen

Pollen diambil dari bunga jantan yang sudah diambil. Pengambilan pollen dapat dilakukan dengan menggunakan pinset atau tangan. Pada kegiatan ini tangan dan pakaian harus bersih dari serbuk lain. Apabila tercampur dengan serbuk lain maka kemurnian dari benih tersebut akan rendah. Pollen dikumpulkan diatas kertas dan diratakan. Langkah selanjutnya yaitu dijemur pada sinar matahari yang tidak langsung yaitu di greenhouse. Penjemuran ini berfungsi agar serbuk sari lebih mudah terpisah dari pollennya. Lama penjemuran ini akan mempengaruhi viabilitas dari serbuk sari tersebut. Lama penjemuran pollen antara 1 jam – 2 jam.



Gambar 4. Pengumpulan kotak sari dan Penjemuran kotak sari

### 3.4.5 Perontokan Pollen

Perontokan pollen ini dilakukan apabila pollen sudah dijemur. Tujuan dari perontokan ini untuk mendapatkan serbuk sari. Alat yang digunakan untuk perontokan ini dua gelas yang bagian ujungnya diberi lubang dan diantara lubang itu terdapat kain dan koin. Apabila serbuk sari sudah terkumpul diambil dan dimasukkan ke dalam fial film.



Gambar 5. Perontokan kotak sari menjadi Serbuk sari

### 3.4.6 Penyerbukan (polinasi)

Penyerbukan merupakan suatu kegiatan meletakkan serbuk sari ke kepala putik. Untuk teknik penyerbukan dilakukan dengan menggunakan selontop dan kayu yang ujungnya lancip. Apabila menggunakan kayu yang ujungnya lancip dilakukan dengan cara mengambil serbuk sarinya dan langsung meletakkan ke kepala putik. Penggunaan selontop dilakukan dengan cara misi serbuk sari dan didekatkan sampai menyentuh ke kepala putik. Setelah itu untuk menandai sudah dilakukan polinasi maka mahkota bunganya disobek sedikit dengan tangan. Menurut Syukur (2015) penyerbukan untuk tanaman cabai bisa dilakukan dengan menggunakan kuas, pinset atau tusuk gigi alat tersebut dicelupkan ke kumpulan pollen dan dioleskan ke stigma. Keberhasilan dari polinasi bisa dilihat 3 hari setelah polinasi dengan ciri – ciri tangkai bunga tetap segar tetapi kelopak sudah rontok.



Gambar 6. Polinasi dengan menggunakan slontop

#### 3.4.7 Pelabelan

Pada kegiatan pelabelan ini bertujuan agar hasil polinasi tidak tercampur dengan polinasi lainnya. Pada kegiatan pelabelan ini hanya dilakukan untuk prog breeding sedangkan untuk prog produksi benih tidak dilakukan pelabelan. Di label ini berisi tanggal polinasi, kode tanaman dan perlakuan.



Gambar 7. Pelabelan tanaman

### 3.5 Parameter Pengamatan

Parameter Pengamatan yang diamati saat penelitian idalah sebagai berikut :

1. Presentase bunga jadi buah (%), dihitung setelah 4 hari dilakukan polinasi dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Bunga jadi buah} = \frac{\text{Jumlah buah yang terbentuk}}{\text{jumlah bunga yang dipolinasi}} \times 100\%$$

2. Persentase buah panen (%), dihitung dari buah yang terbentuk sampai panen dengan kriteria buah masak secara fisiologis, dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Buah panen} = \frac{\text{Jumlah buah yang dipanen}}{\text{jumlah buah yang terbentuk}} \times 100\%$$

3. Diameter buah (cm), diukur menggunakan jangka sorong pada bagian tengah buah. Pengukuran dilakukan setelah buah dipanen selama pemanenan.

4. Panjang buah (cm), dilakukan dengan menggunakan penggaris diukur dari pangkal buah sampai ujung buah. Dilakukan setelah buah dipanen selama pemanenan.
5. Bobot buah segar (g), dihitung dengan menimbang seluruh buah yang dipanen masing-masing perlakuan.

6. Jumlah biji per dihitung dengan menggunakan rumus :  $\frac{\text{Jumlah biji seluruh buah}}{\text{jumlah buah yang dipanen}}$

7. Bobot benih kering (g), dihitung dengan menimbang benih yang telah dikeringkan di dalam mesin pengring (dryer) dengan di dalam 38°C selama 2 x 24 jam.

8. Rendemen benih dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Rendemen benih} = \frac{\text{Bobot benih kering}}{\text{Bobot buah segar}} \times 100\%$$

9. Kualitas benih dilihat dengan cara melakukan uji daya tumbuh, uji daya tumbuh dilakukan dengan metode UDK (Uji Diatas Kertas) dengan mangambil 50 benih contoh setelah itu dilakukan pemeraman selama 10 hari. Hasil dari UDK dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Kualitas benih} = \frac{\text{Benih yang tumbuh}}{\text{jumlah seluruh benih}} \times 100\%$$

10. Viabilitas pollen, dilakukan dengan metode staining pengamatan pada awal sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.

➤ Persiapan pollen

Persiapan pollen dilakukan dengan menyimpan pollen dengan di dalam dan waktu sesuai perlakuan.

➤ Persiapan larutan acetocarmin

Panaskan larutan asam asetat 45% (45ml acid/55ml asetat glasial air suling) sampai mendidih Tambahkan 0.5 g Carmine dan terus dipanaskan selama 15-20 menit sambil diaduk dinginkan larutan yang dihasilkan, larutan tersebut kemudian disaring untuk menghilangkan endapan

- Pembuatan Preparat

- Pembuatan preparat dilakukan dengan menyiapkan *cover glass*, preparat, *tissue*, dan larutan acetocarmin..



Gambar 8. Persiapan preparat

- masukan serbuk sari yang akan diamati kedalam preparat, kemudian tetesi acetocarmin
- serbuk sari yang telah diletakkan kedalam preparat kemudian tutup dengan *cover glass*
- Menyiapkan microscope, kemudian letakkan preparat di meja objek.
- Mengatur pencahayaan pada microscope, kemudian atur fokus pada microscope
- Mengamati objek pada perbesaran 400x kemudian apabila menemukan objek yang diamati, tekan capture maka gambar akan tersimpan.

dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Viabilitas pollen} = \frac{\text{jumlah pollen yang tumbuh}}{\text{jumlah seluruh pollen}} \times 100\%$$

### 3.6 Analisa Data

Data yang didapatkan selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Jika perhitungan analisis ragam menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT pada taraf 5%.