

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat percobaan

Percobaan ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Februari 2025 di Laboratorium Produksi dan *Screen House* Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.

3.2 Bahan dan alat percobaan

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah: biji kakao klon hibrida nasional, kalsium karbonat (CaCO_3), asam klorida (HCl), aquades, air, tanah top soil, kompos, dan media tumbukan batu bata merah.

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah: labu takar 1000 ml, gelas ukur 1000 ml, baki perkecambahan ukuran 32 cm x 24 cm, sarung tangan plastik, batang pengaduk, jangka sorong, timbangan digital analitik ketelitian 0,0001 gram, *hygrometer*, *seed dryer* Indosaw, alat tulis, dan alat dokumentasi.

3.3 Metode percobaan

Percobaan ini dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 27 unit percobaan. Setiap unit menggunakan 20 benih, sehingga pada percobaan ini dibutuhkan 540 benih kakao untuk uji viabilitas dan 540 benih kakao untuk uji vigor. Perlakuan yang dicoba yaitu kombinasi antara letak biji dalam buah dan cara ekstraksi. Kombinasi perlakuannya sebagai berikut :

A = Letak biji pada bagian pangkal + ekstraksi air

B = Letak biji pada bagian tengah + ekstraksi air

C = Letak biji pada bagian ujung + ekstraksi air

D = Letak biji pada bagian pangkal + ekstraksi kalsium karbonat 6%

E = Letak biji pada bagian tengah + ekstraksi kalsium karbonat 6%

F = Letak biji pada bagian ujung + ekstraksi kalsium karbonat 6%

G = Letak biji pada bagian pangkal + ekstraksi asam klorida 2%

H = Letak biji pada bagian tengah + ekstraksi asam klorida 2%

I = Letak biji pada bagian ujung + ekstraksi asam klorida 2%

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan model linearnya adalah sebagai berikut: menurut Gomez (2015) :

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

Dengan :

$$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$$

$$j = 1, 2, 3$$

Keterangan :

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

B_j = Pengaruh ulangan ke-j

ϵ_{ij} = Pengaruh faktor random terhadap perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam (Uji F) pada taraf nyata 5% seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Daftar sidik ragam

Sumber Ragam	Db	JK	KT	F_{hit}	F_{tab} (0,05)
Ulangan (U)	2	$\frac{\sum x_i^2}{d} - FK$	JKU/DBU	KTU/KTG	3,63
Perlakuan (P)	8	$\frac{\sum x_i^2}{r} - FK$	JKP/DBP	KTP/KTG	2,59
Galat (G)	16	Jkt-Jkk-Jkp	JKG/DBG		
Total (T)	26	$\sum x_{iji} - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez (2015)

Kaidah pengambilan keputusan berdasarkan antara nilai F hitung dengan F_{tab} pada taraf 5%, dapat dilihat pada Tabel 2. Sebagai berikut :

Tabel 2. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisis	Kesimpulan Analisis	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Berbeda tidak nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda Nyata	Ada perbedaan pengaruh antar perlakuan

Sumber : Gomez & Gomez (2015)

Data dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam, jika nilai F hitung $>0,05$ perlakuan berpengaruh nyata (Tabel 2), maka dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda duncan (DMRT) taraf 5% dengan rumus sebagai berikut :

$$LSR = SSR \times S_x$$

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{r}}$$

$$SSR (\alpha, \text{dbg}, p)$$

Keterangan :

LSR = *Least Significant Rangers*

SSR = *Significant Studenstized Rangers*

S_x = Galat baku rata-rata

KTG = Kuadrat Tengah Galat

r = Jumlah ulangan pada tiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan

α = Taraf nyata

dbg = Derajat Bebas Galat

p = Perlakuan

3.4 Prosedur percobaan

3.4.1 Persiapan benih

Benih kakao varietas Forastero didapatkan dari CV Gintio Farm Kampung Ciketug, Desa Parakanhonje, Kecamatan Bantarkalong, Kabupaten Tasikmalaya. Benih kakao yang digunakan yaitu buah yang sehat dan telah matang secara fisiologis ditandai dengan kulit buah yang berubah menjadi warna kuning. Buah kakao yang digunakan adalah buah yang mempunyai ukuran panjang sekitar 16-20 cm. Kemudian benih dikeluarkan secara hati-hati untuk menghindari kerusakan pada benih dengan cara benih dipotong vertikal, setelah benih dikeluarkan kemudian pisahkan benih menjadi 3 bagian yaitu pada bagian pangkal, bagian tengah dan bagian ujung buah ke dalam masing masing wadah yang telah disiapkan sesuai letak benih (Syahputra dkk., 2021).

3.4.2 Pembuatan larutan

Pembuatan larutan dilakukan dengan mengencerkan zat kimia yaitu kalsium karbonat dan asam klorida (HCl) dengan kepekatan 55%. Perhitungan pembuatan

larutan kalsium karbonat (CaCO_3) dan asam klorida dapat dilihat pada (Lampiran 2). Kebutuhan dalam percobaan ini yaitu kalsium karbonat (CaCO_3) konsentrasi 6% dan larutan HCl konsentrasi 2%. Larutan kalsium karbonat dibuat dengan cara melarutkan 60 g kalsium karbonat dengan aquadest sampai volume larutan menjadi 1.000 ml dengan menggunakan gelas ukur sehingga didapatkan larutan kalsium karbonat 6%. Larutan HCl dibuat dengan cara melarutkan 36,36 ml HCl dengan aquadest sampai volume larutan menjadi 1.000 ml dengan menggunakan labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi larutan HCl 2%. Proses pembuatan larutan ini dilakukan di Laboratorium dasar.

3.4.3 Cara ekstraksi benih

Biji yang telah diambil berdasarkan letak biji dalam buah, kemudian biji diekstraksi sesuai dengan perlakuan sebagai berikut :

a) Ekstraksi dengan air

Ekstraksi menggunakan air dilakukan dengan cara biji direndam selama 24 jam. Setelah biji direndam, kemudian biji dicuci dengan air mengalir menggunakan saringan dan dikering-anginkan selama 15 menit, setelah itu biji siap untuk ditanam (Sahroni dkk., 2018).

b) Ekstraksi dengan kalsium karbonat (CaCO_3)

Ekstraksi menggunakan kalsium karbonat dilakukan dengan cara biji kakao yang telah dipisahkan sesuai letak biji pada masing-masing wadah direndam dengan larutan kalsium karbonat selama 60 menit. Setelah biji direndam, kemudian biji dicuci dengan air mengalir menggunakan saringan dan dikering-anginkan selama 15 menit, setelah itu biji siap untuk ditanam (Sugiatno dan Susanto, 2021). Pada air bekas perendaman kalsium karbonat sebaiknya tidak langsung dibuang ke tanah, limbah lebih baik didaur ulang atau diolah terlebih dahulu sebelum dibuang, misalnya melalui netralisasi dengan cara menambahkan agen netral seperti asam (jika limbah terlalu basa) atau basa (jika limbah terlalu asam) dan proses penyaringan (Bhagaskara, 2025).

c) Ekstraksi dengan asam klorida (HCl)

Ekstraksi menggunakan asam klorida dilakukan dengan cara biji kakao yang telah dipisahkan sesuai letak biji pada masing-masing wadah direndam dengan

larutan HCl 2% selama 2 jam. Setelah biji direndam, kemudian biji dicuci dengan air mengalir menggunakan saringan dan dikering-anginkan selama 15 menit, setelah itu biji siap untuk ditanam (Raganatha, Raka dan Siadi, 2014). Air bekas perendaman asam klorida sebaiknya tidak langsung dibuang ke tanah, limbah lebih baik didaur ulang atau diolah terlebih dahulu sebelum dibuang, misalnya melalui netralisasi dengan cara menambahkan agen netral seperti asam (jika limbah terlalu basa) atau basa (jika limbah terlalu asam) dan proses penyaringan (Bhagaskara, 2025).

3.4.4 Penanaman benih

a. Uji viabilitas

Pengujian viabilitas benih menggunakan media tanam tanah top soil yang dicampur dengan pupuk kompos dengan perbandingan 1:1, kemudian diberi label sesuai dengan perlakuan dan disusun sesuai dengan tata letak perlakuan. Benih ditanam sebanyak 20 benih dengan jarak tanam 5 cm × 5 cm tiap satuan percobaan dalam baki plastik perkecambahan 32 cm × 24 cm × 4 cm (Lesilolo, Patty dan Tetty, 2012).

b. Uji vigor

Pengujian vigor benih menggunakan media tanam tumbukan batu bata merah yang telah ditumbuk, kemudian diberi label sesuai dengan perlakuan dan disusun sesuai dengan tata letak perlakuan. Benih ditanam sebanyak 20 benih dan jarak tanam 5 cm × 5 cm tiap satuan percobaan dalam baki plastik perkecambahan 32 cm × 24 cm × 4 cm (Lesilolo, Patty, dan Tetty, 2012).

3.4.5 Pemeliharaan

Agar kondisi media tanam dan benih tetap dalam kondisi optimum, maka dapat dilakukan pemeliharaan sebagai berikut (Lesilolo, Patty, dan Tetty, 2012) :

a. Penyiraman

Penyiraman dilakukan sebanyak 2 kali pada pagi dan sore hari dan tergantung pada tingkat kelembababan tanah dengan menggunakan *hands sprayer*

b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan jika terdapat gulma yang tumbuh di sekitar perkecambahan yang dilakukan dengan cara mencabut gulma yang tumbuh pada

media perkecambahan dengan tangan yang dilakukan dengan hati-hati supaya pertumbuhan tanaman di sekitarnya tidak terganggu.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Pengamatan penunjang

Pengamatan penunjang merupakan pengamatan yang datanya tidak dianalisis secara statistik yang bertujuan untuk menentukan adanya faktor eksternal yang dapat mempengaruhi pertumbuhan selama percobaan berlangsung. Pengamatan penunjang terdiri dari pengamatan temperatur udara, kelembaban udara yang diamati menggunakan *thermohygrometer*, serta organisme pengganggu tanaman (OPT) .

3.5.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan parameter yang datanya dianalisis secara statistik untuk menentukan pengaruh utama yaitu :

1. Parameter uji viabilitas

a) Daya kecambah (%)

Pengamatan daya kecambah benih dilakukan dengan cara menghitung jumlah kecambah normal. Pengamatan ini dilakukan pada hari ke- 21 menggunakan rumus :

$$\% \text{ DB} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

(Nengsih, 2017)

b) Kecepatan berkecambah (%/etmal)

Kecepatan berkecambah dilakukan dengan cara menghitung jumlah benih yang berkecambah setiap harinya atau etmal. Pengamatan dilakukan setiap hari mulai dari perkecambahan awal sampai 21 hari dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{KcT (\%etmal)} = \sum_{i=1}^n \frac{\% \text{ Daya berkecambah pada etmal ke-i}}{\text{Pengamatan pada etmal ke-i}}$$

Keterangan :

Kct = kecepatan kecambah

1 etmal = 1 hari

(Undang dkk., 2022)

c) Panjang plumula

Plumula merupakan bagian dari embrio tumbuhan yang akan berkembang menjadi daun sejati pertama pada tumbuhan. Pengukuran panjang plumula dilakukan menggunakan jangka sorong dengan cara mengukur plumula dari pangkal hipokotil hingga ujung daun primer pada hari ke-21 setelah tanam menggunakan jangka sorong (Undang dkk., 2022).

d) Panjang radikula

Radikula merupakan bakal calon akar yang tumbuh selama masa perkecambahan. Pengukuran dimulai dari pangkal batang hingga ujung radikula yang terpanjang dengan cara membongkar kecambah pada hari ke-21 setelah tanam menggunakan jangka sorong (Undang dkk., 2022).

e) Bobot kering kecambah

Pengukuran bobot kering kecambah dilakukan pada hari ke-21 setelah benih berkecambah. Pengukuran bobot kering kecambah ini dilakukan dengan cara mencabut seluruh kecambah normal dari media perkecambahan, kemudian dibersihkan dari kotoran, dibungkus dengan menggunakan kertas merang dan dikeringkan di dalam *seed dryer* dengan suhu 50°C selama 2x24 jam, setelah itu ditimbang dengan menggunakan timbangan digital analitik (Ningsih, Widjati, dan Palupi, 2021).

2. Parameter uji vigor

a) Kecambah normal (%)

Kecambah normal (vigor) dihitung berdasarkan presentase benih yang tumbuh dengan normal. Pengamatan terhadap kecambah normal diamati pada akhir pengamatan yaitu pada hari ke-21 setelah tanam. Kecambah normal (vigor) dihitung menggunakan rumus menurut Sutopo (2017) sebagai berikut :

$$\text{Vigor} = \frac{\text{Jumlah kecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

b) Kecambah abnormal (%)

Pengamatan kecambah abnormal (*loss vigor*) dilakukan pada hari ke-21 setelah tanam. Kecambah abnormal merupakan kecambah yang tidak memperlihatkan potensi untuk berkembang menjadi kecambah normal. Kriteria

dari kecambah abnormal antara lain kecambah yang rusak, tanpa kotiledon, embrio yang pecah, akar primer pendek dan plumula atau radikula tidak tumbuh. Perhitungan kecambah abnormal atau *loss vigor* menggunakan rumus menurut Sutopo (2017) sebagai berikut :

$$\text{Kecambah abnormal} = \frac{\text{Jumlah kecambah abnormal}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

c) Benih mati (%)

Benih mati (*dead seeds*) diamati pada akhir pengamatan yaitu hari ke-21 setelah tanam. Benih mati dapat dilihat pada benih-benih yang belum tumbuh hingga batas waktu pengujian yang telah ditentukan dan dilaksanakan pada akhir pengamatan. Perhitungan benih yang mati (*dead seeds*) menggunakan rumus Sutopo (2017) sebagai berikut :

$$\text{Benih mati} = \frac{\text{Jumlah kecambah yang tidak berkecambah}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$