

3. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di kebun Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang yang terletak di ketinggian ± 500 m dpl dan berjenis tanah Alfisol. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2010 hingga April 2011.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ialah gelas ukur, gelas kimia, petridish, pipet tetes, stopwatch, glove, kertas label, germinator, rol meter, tugal, sprayer, timbangan analitik, polybag, kamera, LI-6400 *Portable photosynthesis system*, spektrofotometer, dan mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan ialah benih F6 kedelai persilangan varietas Argomulyo dengan Brawijaya, colchicine, kertas saring, aquades, pupuk Urea (46% N) 50 kg ha^{-1} , SP 18 (18% P_2O_5) 200 kg ha^{-1} , KCl (60% K_2O) 50 kg ha^{-1} . Pestisida yang digunakan ialah insektisida Buldok dan fungisida bavistin.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap terdiri dari empat perlakuan konsentrasi yang direndam selama 60 menit, dengan delapan kali ulangan. Pada setiap perlakuan dalam satu ulangan terdiri dari dua tanaman per polybag. Berikut ialah konsentrasi perlakuan yang dipakai dalam penelitian :

K1 : konsentrasi 0 ppm

K2 : konsentrasi 100 ppm

K2 : konsentrasi 200 ppm

K4 : konsentrasi 300 ppm

Semua perlakuan diacak lengkap dengan penempatan seperti pada lampiran 3. Sedangkan untuk pengamatan kromosom dilakukan dengan metode Squashing pada tahap mitosis dibawah mikroskop pada perbesaran 1000x.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan lahan

Persiapan lahan dimulai dengan pengukuran lahan yang akan digunakan untuk penelitian, setelah itu lahan dibersihkan dari tumbuhan pengganggu maupun sisa-sisa panen dari tanaman sebelumnya. Lahan yang telah dibersihkan kemudian diolah, diratakan dan dibuat bedengan dengan ukuran 3 x 6 meter yang bagian atasnya diberi penutup plastik. Tujuan dari sungkup plastik agar terhindar dari limpasan air hujan.

3.4.2 Persiapan media tanam

Media yang digunakan untuk menanam kedelai adalah tanah Alfisol yang berasal dari Kebun Percobaan Jatikerto. Kemudian tanah dikeringanginkan dan dihaluskan, lalu dicampur kompos dengan perbandingan 3 : 1. Setelah itu media tanam dimasukkan ke dalam polybag berukuran 10 kg sebanyak 8 kg/polybag yang telah dilubangi bagian sampingnya, lalu ditata pada petak penelitian dan diberi label nama sesuai perlakuan. Media tanam disiapkan 1 minggu sebelum tanam.

3.4.3 Pembuatan larutan colchicine

Sebelum membuat larutan colchicine yang digunakan untuk perlakuan, terlebih dahulu membuat larutan stok colchicine. Sebanyak 0,1 g colchicine dilarutkan dengan 5 ml etanol, lalu ditambah 95 ml aquades dan diaduk hingga larut. Sehingga didapatkan larutan stok colchicine dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan stok ini dibuat larutan perlakuan 100, 200, dan 300 ppm, masing-masing sebanyak 50 ml dan 0 ppm (Aquades). 100 ppm (setara 0,01 g / 100 ml) ; 200 ppm (setara 0,02 g/ 100 ml) ; 300 ppm (setara 0,03 g/ 100 ml) pada setiap

perlakuan. Sedangkan perhitungan pembuatan masing-masing larutan dapat dilihat pada lampiran 6.

3.4.4 Persiapan bahan tanam

Bahan tanam yang digunakan ialah benih kedelai F6 hasil persilangan kedelai varietas Argomulyo dengan Brawijaya. Benih yang digunakan sebanyak 160 benih. Masing – masing perlakuan awalnya ditanam 5 benih per polybag. Benih yang digunakan direndam selama 1 jam sesuai konsentrasi colchicine yang digunakan. Masing-masing perlakuan membutuhkan 40 benih. Setelah direndam, biji kedelai dikecambahkan pada petridish selama $\pm$ 3 hari dalam germinator hingga muncul akar. Langkah kerja perlakuan colchicine dapat dilihat pada lampiran 5.

3.4.5 Penanaman

Benih yang akan digunakan sebagai bahan tanam yaitu benih F6 yang telah dikecambahkan sebelumnya. Penanaman benih dilakukan dengan cara ditugal pada kedalaman 3-4 cm dari permukaan tanah dengan menanam 1 benih per lubang tanam, kemudian lubang tanam ditutup dengan tanah halus. Masing – masing polybag diisi 5 tanaman untuk penanaman awal.

3.4.6 Penyulaman

Penyulaman dilakukan terhadap tanaman yang pertumbuhannya tidak normal atau mati yaitu pada saat tanaman berumur 7 hst.

3.4.7 Pemupukan

Pemupukan yang diberikan ialah pupuk urea, SP-18 dan KCl. Pupuk urea diberikan pada tanaman kedelai sebanyak 2 kali, dengan dosis 0,15 g/ Polybag. Pupuk urea sebanyak $\frac{1}{2}$ dosis diberikan pada saat tanam dan $\frac{1}{2}$ dosisnya lagi diberikan saat tanaman kedelai berumur 21 hst. Sedangkan pupuk SP-18 dan KCl diberikan pada saat tanam dengan dosis masing-masing 0,62 g dan 0,15 g/ Polybag. Pemberian pupuk dilakukan dengan cara ditugal dengan jarak 5 cm dari

lubang tanam, kemudian ditutup dengan tanah tipis untuk mencegah penguapan. Perhitungan pupuk dapat dilihat pada lampiran 4.

3.4.8 Penyiraman

Penyiraman dilakukan pada saat setelah penanaman, stadia perkecambahan (3-4 hst), stadia vegetatif (20-30 hst) dan stadia pemasakan biji (60-70 hst). Kelembaban tanah harus tetap terjaga agar tanaman tidak mengalami kekeringan. Pada stadia tersebut tanaman kedelai sangat memerlukan air untuk pertumbuhannya, selain itu pengairan juga disesuaikan dengan kondisi lingkungan.

3.4.9 Penjarangan

Penjarangan dilakukan bersamaan dengan penyulaman, yaitu ketika tanaman berumur 7 hst. Penjarangan dilakukan dengan cara memilih 2 tanaman per polybag yang pertumbuhannya paling baik untuk diamati dan mencabut tanaman yang pertumbuhannya tidak baik.

3.4.10 Penyiangan

Penyiangan dilakukan tiga kali yaitu penyiangan pertama pada saat tanaman berumur 2 minggu. Penyiangan kedua dilakukan pada saat tanaman berumur 5 minggu, dan terakhir apabila tanaman sudah berbunga ($\pm$ umur 7 minggu). Penyiangan dilakukan dengan mencabut gulma yang tumbuh di sekitar tanaman.

3.4.11 Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan cara kimiawi yang disesuaikan dengan jenis-jenis hama dan penyakit yang menyerang. Untuk mengurangi frekuensi pemberian insektisida maupun fungisida ialah dengan aplikasi insektida dan fungisida berdasarkan pemantauan hama dan cendawan.

3.4.12 Panen

Kedelai dapat dipanen jika sudah mencapai tingkat kemasakan biji yang tepat. Panen terlalu awal menyebabkan banyak biji keriput, panen terlalu akhir menyebabkan kehilangan hasil karena biji rontok. Ciri-ciri tanaman kedelai siap dipanen ialah daun telah menguning dan mudah rontok, polong biji mengering dan berwarna kecoklatan. Panen dilakukan dengan cara mencabut tanaman.

3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap tanaman kedelai yaitu pengamatan pertumbuhan, panen dan jumlah kromosom. Pengamatan pertumbuhan dilakukan secara destruktif dan non destruktif. Pengamatan destruktif dilakukan 1 kali yaitu pada saat 60 hst dan non destruktif dilakukan sebanyak 4 kali yaitu pada saat tanaman berumur 15, 30, 45, 60. Pengamatan panen dilakukan dengan mengamati seluruh individu tanaman dalam petak penelitian dan pengamatan jumlah kromosom dilakukan setelah panen.

A. Variabel pengamatan destruktif meliputi :

1. Kadar nitrogen daun, dilakukan dengan mengambil 4 lamina daun yang telah membuka sempurna. Analisa dilakukan melalui tiga fase, yakni destruksi, destilasi, dan titrasi.
2. Kadar khlorofil daun, penghitungan kadar klorofil dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan mengambil 6 lamina daun yang telah membuka sempurna. Analisa dilakukan menggunakan spektrofotometer.

B. Variabel pengamatan non destruktif meliputi :

1. Tinggi tanaman, diukur dari pangkal batang sampai ke titik tumbuh
2. Jumlah daun, dihitung daun trifolia yang telah membuka sempurna
3. Pengukuran laju fotosintesis menggunakan LI-6400 *Portable photosynthesis system* pada daun ketiga dari atas yang telah membuka sempurna, dilakukan pada saat pembentukan polong.

C. Pengamatan komponen hasil panen, meliputi:

1. Jumlah polong per tanaman, diperoleh dengan cara menghitung seluruh polong tanaman.
2. Jumlah biji per tanaman, diperoleh dengan cara menghitung seluruh biji tanaman.
3. Bobot kering biji per tanaman, diperoleh dengan menimbang biji tanaman yang telah dikeringkan dengan sinar matahari.
4. Berat kering polong per tanaman, diperoleh dengan menimbang polong tanaman yang telah dikeringkan dengan sinar matahari.
5. Bobot 100 biji, diperoleh dengan menimbang 100 biji per tanaman secara acak yang telah dikeringkan dengan sinar matahari.

D. Pengamatan kromosom

Dilakukan dengan mengecambahkan biji hasil panen. Kemudian diambil bagian ujung akarnya dibuat preparat dengan metode squashing pada tahap mitosis. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x.

3.6 Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (uji F) dengan taraf nyata $p = 0,05$ untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan. Dari analisis tersebut, apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT taraf 5%.