

1. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Karangploso, Malang dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman, UB Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2012 sampai dengan bulan Januari 2013.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah cawan petri, pipet, pinset, polybag, gelas ukur, alat bercocok tanam, *sprayer*, kertas merang, penggaris, label, timbangan analitik, mikroskop elektron, *Leaf Area Meter* (LAM), kamera dan alat tulis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih sawi (*Brassica rapa*) galur PC O2, pupuk kandang, dan pupuk NPK (16:16:16) sebagai pupuk susulan, media semai dan pestisida untuk pencegahan terhadap hama dan penyakit

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode RALF (Rancangan Acak Lengkap Faktorial) dengan menggunakan 2 faktor (konsentrasi dan lama perendaman), yaitu:

Perlakuan pertama:

S1: Perendaman dengan kolkhisin 0.01%

S2: Perendaman dengan kolkhisin 0.02%

Perlakuan kedua:

W1: Perendaman dengan kolkhisin selama 2 jam

W2: Perendaman dengan kolkhisin selama 4 jam

W3: Perendaman dengan kolkhisin selama 6 jam

W4: Perendaman dengan kolkhisin selama 8 jam

Dari perlakuan tersebut maka terdapat 8 kombinasi, yaitu:

S1W1 : Perendaman dengan kolkhisin 0,01% selama 2 jam

S1W2 : Perendaman dengan kolkhisin 0,01% selama 4 jam

S1W3 : Perendaman dengan kolkhisin 0,01% selama 6 jam

- S1W4 : Perendaman dengan kolkhisin 0,01% selama 8 jam
 S2W1 : Perendaman dengan kolkhisin 0,02% selama 2 jam
 S2W2 : Perendaman dengan kolkhisin 0,02% selama 4 jam
 S2W3 : Perendaman dengan kolkhisin 0,02% selama 6 jam
 S2W4 : Perendaman dengan kolkhisin 0,02% selama 8 jam

Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali sehingga didapatkan 40 petak percobaan dan setiap petak terdapat 10 tanaman. Kombinasi percobaan yang dipakai sebagai berikut:

Tabel 1. Kombinasi percobaan.

		W1	W2	W3	W4
U1	S1	S1W1U1	S1W2U1	S1W3U1	S1W4U1
	S2	S2W1U1	S2W2U1	S2W3U1	S2W4U1
U2	S1	S1W1U2	S1W2U2	S1W3U2	S1W4U2
	S2	S2W1U2	S2W2U2	S2W3U2	S2W4U2
U3	S1	S1W1U3	S1W2U3	S1W3U3	S1W4U3
	S2	S2W1U3	S2W2U3	S2W3U3	S2W4U3
U4	S1	S1W1U4	S1W2U4	S1W3U4	S1W4U4
	S2	S2W1U4	S2W2U4	S2W3U4	S2W4U4
U5	S1	S1W1U5	S1W2U5	S1W3U5	S1W4U5
	S2	S2W1U5	S2W2U5	S2W3U5	S2W4U5

Tabel 2. Denah plot penanaman setelah pengacakan.

S1W2U1	S1W4U4	S1W4U2	S2W3U1
S1W3U5	S1W3U1	S2W3U4	S1W1U2
S2W2U2	S2W4U2	S1W2U5	S1W4U3
S1W1U3	S2W1U5	S2W4U1	S2W2U5
S1W3U4	S1W2U2	S1W4U1	S2W1U2
S2W1U4	S2W2U4	S1W1U4	S2W4U3
S2W2U1	S1W2U3	S1W4U5	S2W1U3
S1W3U2	S2W1U1	S2W3U2	S1W1U1
S2W3U5	S2W4U4	S1W2U4	S1W3U3
S1W1U5	S2W4U5	S2W2U3	S2W3U3

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan yang dilaksanakan dalam penelitian meliputi :

3.4.1 Induksi kolkhisin

Biji sawi dikecambahkan pada cawan petri yang telah berisi kertas merang yang dibasahi dengan air. Setelah kecambah berukuran kurang lebih 1 cm, diberi

perlakuan kolkhisin 0,01% dan 0,02% dengan waktu perendaman yang berbeda yaitu ; 2 jam, 4 jam, 6 jam dan 8 jam.

3.4.2 Persemaian

Kegiatan selanjutnya setelah induksi kolkhisin pada kecambah sawi adalah persemaian. Persemaian benih sawi dilakukan pada kantong plastik yang telah diisi media semai berupa tanah, cocopeat, dan kompos dengan perbandingan 1:2:1. Setelah 2-3 minggu, bibit sawi dapat ditanam di media tanam

3.4.3 Persiapan media tanam

Media tanam yang digunakan adalah tanah, arang sekam, dan pupuk kandang dengan perbandingan 2:1:1. Media tanam dicampur menjadi satu dengan menggunakan cangkul dan dimasukkan ke dalam polybag dengan ukuran 40cmx40cm. Pupuk kandang merupakan bahan organik yang dapat digunakan dalam media tanam sebagai pupuk dasar alami. Selain itu juga dapat menambah unsur hara dalam tanah sehingga media tanam yang digunakan dalam penanaman sawi memiliki kualitas yang bagus.

3.4.4 Penanaman

Penanaman dilakukan pada polybag yang telah diisi dengan media tanam. Penanaman bibit sawi yang telah berumur 2-3 minggu dapat diletakkan pada polybag dengan ketentuan 1 polybag berisi 1 bibit sawi.

3.4.5 Pemupukan

Pemupukan lanjutan pada tanaman sawi dilakukan 1 kali. Pemupukan lanjutan dilakukan pada saat setelah berumur 2 minggu setelah tanam (mst). Pupuk NPK diaplikasikan dengan dosis 150 kg/ha atau setara dengan \pm 3 gram untuk setiap tanaman. Aplikasi pupuk tersebut diberikan setelah dilakukan penyiraman agar pupuk tidak hanyut atau tercuci oleh air (Haryano dkk, 2006).

3.4.6 Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman meliputi beberapa kegiatan antara lain penyulaman, penyiangan, penyiraman, dan pengendalian hama dan penyakit. Penyiraman dilakukan dari awal tanam sampai panen dan dilakukan 2 kali yaitu pada pagi dan sore hari atau tergantung kondisi tanah pada polybag. Penyiangan dilakukan secara mekanis dengan mencabut menggunakan tangan ketika tumbuh gulma di areal

polybag dan dilakukan 1 kali dalam seminggu atau menyesuaikan dengan kondisi gulma.

Organisme pengganggu tanaman utama sawi adalah ulat daun (*Plutella xylostella*). Pengendalian dilakukan dengan cara manual dan penyemprotan pestisida. Hal ini karena melihat kondisi tanaman sawi yang terserang hama. Pengendalian manual dilakukan pada kondisi tanaman dalam tingkat serangan yang tidak terlalu parah. Pengendalian secara kimia dilakukan pada kondisi tanaman yang sudah terserang ulat dalam jumlah yang besar serta tidak bisa dilakukan pengendalian secara manual.

3.4.7 Panen

Cara panen ada 2 macam yaitu panen segar dengan mencabut seluruh tanaman dan memotong bagian pangkal batang yang berada di atas tanah serta panen benih yang dilakukan saat polong tanaman berwarna kecoklatan dan kering. Umur panen sawi segar \pm 40 hari setelah tanam, sebaiknya terlebih dahulu dilihat fisik tanaman seperti warna, bentuk dan ukuran daun.

3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap tanaman sawi terdiri dari :

1. Panjang tanaman (cm), diamati setiap minggu setelah tanam sampai panen segar.
2. Jumlah daun (buah), diamati setiap minggu setelah tanam sampai panen segar.
3. Luas daun (cm^2), diukur dengan menggunakan *Leaf Area Meter* (LAM) pada 28 hst.
4. Umur berbunga (hari), diamati saat pertama kali tanaman mulai berbunga (muncul bunga mekar sempurna dari 50% jumlah total tanaman).
5. Berat basah dan kering tanaman (gram), diamati pada saat panen segar dan setelah kering oven.
6. Jumlah benih (biji), dihitung dengan cara menghitung jumlah polong yang dihasilkan dan jumlah benih pada 10 polong sampel pertanaman.
7. Viabilitas benih atau daya berkecambah (%), pengamatan dilakukan pada F2 setelah perlakuan kolkhisin dan dihitung jumlah benih yang tumbuh atau

normal, abnormal dan benih mati pada waktu yang telah ditetapkan dalam satu substrat.

8. Vigor benih atau kekuatan tumbuh (%), pengamatan dilakukan pada F2 setelah perlakuan kolkhisin dan diukur dengan menghitung jumlah benih vigor dan less vigor.
9. Pengamatan kromosom, diamati dengan mengambil dari bagian ujung akar tanaman yang telah diinduksi kolkhisin sesuai dengan pada tanaman berumur 5 hari sepanjang 1-1,5 mm kemudian menyiapkan preparat dengan metode squash. Akar difiksasi dengan larutan ethanol, Acetic Acid Glucial (AAG), dan chloroform dengan perbandingan 6:3:1 yang berfungsi meluruhkan sel dan menghentikan aktifitas sel dan dilunakkan dengan Hcl 1 N selama 3 jam. Pewarnaan kromosom menggunakan acetocarmin 1% selama \pm 15 menit. Mengamati sel dan kenampakankromosom pada saat metafaseyang diamati dengan mikroskop.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan analisa ragam untuk mengetahui pengaruh kolkhisin yang mampu mempengaruhi kenampakan fenotip pada tanaman sawi dan apabila perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) maka perhitungan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (Honestly Significant Difference Test) pada taraf 5%.

Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	ab-1	JK P	JK (P / ab-1)	KT P/ KT G		
Faktor A	a-1	JK (A)	JK (A) / a-1	KT A/ KT G		
Faktor B	b-1	JK (B)	JK (B) / b-1	KT B/ KT G		
Interaksi	(a-1)(b-1)	JK (I)	JK (I) / (a-1)(b-1)	KT I/ KT G		
Galat	ab(r-1)	JK (G)	JK (G) / ab(r-1)			
Total	abr-1	JK T				

Hasil perhitungan di atas dapat dilanjutkan dengan uji BNJ, dengan rumus:

$$BNJ = q\alpha(p,v) \times \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

KTG = Kuadrat Tengah Galat

q = tabel nilai kritis uji perbandingan pada taraf nyata 1% atau 5%

α = taraf nyata

r = ulangan

p = banyaknya perlakuan

v = derajat bebas galat