

3. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan di lahan Dadaprejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu dengan ketinggian 610 mdpl. Suhu minimum pada lahan 15,1°C dan maksimum 27,4 °C dengan jenis tanah inseptisol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2015 sampai Juni 2015.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain kertas pembungkus bunga jagung, stapler, spidol permanen, ayakan, pinset, cawan petri, spatula, plastik, kulkas, timbangan digital, gelas ukur, erlenmeyer, kompor listrik, botol, pipet, kaca preparat, *cover glass*, penggaris, meteran, jangka sorong, alat tulis, mikroskop, dan kamera digital. Bahan yang digunakan adalah polen dari galur jagung ketan dan larutan YKI (yodium kalium iodida).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini mempunyai dua macam perlakuan, perlakuan pertama adalah perlakuan suhu yang terdiri dari dua taraf yaitu suhu *freezer* (-5 °C) dan suhu *fridge* (5 °C). Perlakuan kedua terdiri dari 4 taraf yaitu lama penyimpanan selama 4 hari, 8 hari, 12 hari dan 16 hari. Data diolah dengan menggunakan uji t pada taraf 5%.

Pengujian fertilitas polen dilakukan dengan menggunakan metode Yodium Kalium Iodida (YKI) (Nath *et al.*, 1959). Pewarnaan polen menggunakan metode YKI adalah metode yang mudah dan paling sering digunakan (Pinto, *et al.*, 2012). Sampel diambil dari polen yang sudah diberi perlakuan suhu (*freezer* = -5 °C dan *fridge* = 5 °C) dan perlakuan penyimpanan (4 hari, 8 hari, 12 hari, dan 16 hari). Perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut :

1. Suhu -5 °C, penyimpanan 4 hari
2. Suhu -5 °C, penyimpanan 8 hari
3. Suhu -5 °C, penyimpanan 12 hari

4. Suhu -5 °C, penyimpanan 16 hari
5. Suhu 5 °C, penyimpanan 4 hari
6. Suhu 5 °C, penyimpanan 8 hari
7. Suhu 5 °C, penyimpanan 12 hari
8. Suhu 5 °C, penyimpanan 16 hari

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini terbagi atas kegiatan di lapang dan kegiatan di laboratorium. Kegiatan di lapang meliputi :

1. Pengumpulan Polen

Sebagai persiapan untuk melakukan kastrasi pada penyerbukan silang jagung, membungkus bunga jantan dalam rangka mengumpulkan polen dengan amplop coklat. Amplop coklat dibuat sedemikian rupa agar dapat membungkus malai bunga jantan jagung sehingga polen tersebut tidak terkontaminasi oleh polen asing. Bunga jantan yang diisolasi adalah bunga jantan yang baru keluar malai namun kantong polennya belum pecah.

2. Pengambilan Polen

Pengambilan polen dilakukan pada saat bunga jantan pada jagung sudah mekar. Pengambilan polen sebaiknya dilakukan pada pagi hari antara pukul 10.00-11.00 karena pada waktu tersebut malai mulai membuka karena terkena sinar matahari. Pengambilan polen dilakukan dengan cara menyungkupkan amplop coklat ke bunga jantan dengan rapat untuk menghindari serbuk sari jatuh atau beterbangan, kemudian menepukkan bunga jantan yang terbungkus tersebut sehingga polen dapat menempel pada kantong kertas dan memastikan diperolehnya tepung sari yang cukup.

3. Penyimpanan Polen

Polen yang sudah dipanen, diayak terlebih dahulu agar terpisah antara polen dan kantong polennya kemudian dimasukkan dalam kantong plastik selanjutnya disimpan pada suhu *freezer* (suhu < 0 °C atau lebih rendah dari -5 °C) dan suhu *refrigerator* (0,2 - 5 °C) selama 0, 4, 8, 12, dan 16 hari.

4. Pengujian Fertilitas Polen

Larutan YKI dibuat dengan melarutkan 0,6 gram Yodium dan 0,7 gram Kalium pada 50 ml aquades. Pembuatan preparat untuk mengetahui fertilitas polen dilakukan dengan cara mengambil polen jagung dan diletakkan di atas kaca obyek, selanjutnya ditetesi dengan 1-2 tetes larutan YKI kemudian ditutup dengan kaca penutup. Preparat diamati di mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

5. Penyerbukan

Kegiatan penyerbukan dimulai dengan melakukan penyungkupan (penutupan) bunga jantan yang baru keluar malai namun kantong polennya belum pecah dan pembungkusan bunga betina. Sembari menunggu serbuk sari lainnya matang, dilakukan penyimpanan polen berdasarkan suhu dan hari yang sudah ditentukan, karena tidak semua serbuk sari pada setiap tongkol jagung matang pada saat yang bersamaan. Serbuk sari yang sudah dipanen kemudian dibagi dan diberi perlakuan sesuai dengan ketentuan, setelah perlakuan selesai diberikan barulah dilakukan penyerbukan. Untuk perlakuan tanpa penyimpanan pada suhu rendah dan rentang hari, polen digunakan langsung sesaat setelah polen diambil. Persilangan pada bunga jagung dilakukan dengan meletakkan polen (yang sudah diberi perlakuan ataupun tidak) ke bunga tanaman jagung betina yang akan disilangkan, yaitu pada tongkol yang telah keluar rambut di bagian ujungnya.

Polen yang sudah diberi perlakuan, dibiarkan sekitar 5-10 menit untuk menyesuaikan suhu setelah disimpan, kemudian sesegera mungkin penyerbukan dilakukan pada 5 tanaman dalam setiap perlakuannya. Setelah itu, menutup kembali tongkol yang telah diserbuki untuk mencegah terjadinya penyerbukan dari tanaman lain. Setelah selesai penyerbukan, dilakukan pelabelan.

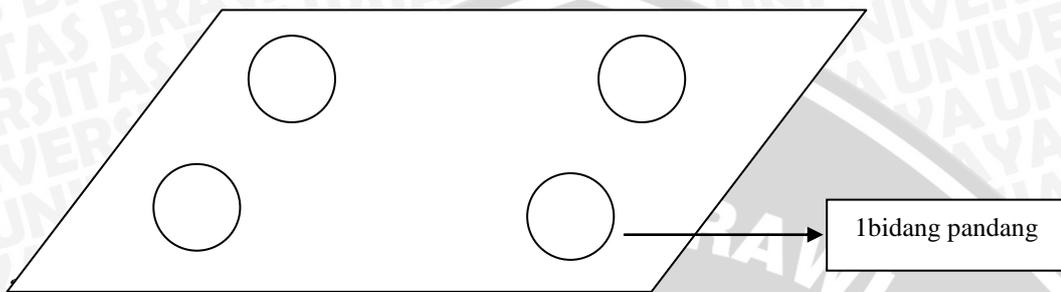
3.5 Variabel Pengamatan

Dalam penelitian untuk membuktikan pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap fertilitas polen jagung ketan ini terdapat beberapa variabel yang diamati, antara lain:

1. Fertilitas Polen (%)

Pengamatan dilakukan saat setelah polen diberi perlakuan penyimpanan. Untuk perlakuan tanpa penyimpanan pada suhu rendah dan rentang hari (kontrol),

polen langsung diamati sesaat setelah dipanen dari lapang. Pengamatan ini dilakukan dengan membagi preparat menjadi 4 bidang pandang. Pengamatan dengan menggunakan metode 4 bidang pandang ialah dengan mengamati dan menghitung rata-rata polen fertil pada masing-masing bidang pandang (satu-persatu) kemudian diambil nilai rata-rata dari kelima bidang pandang tersebut.



Gambar 5. Pengamatan miikroskop pada empat bidang pandang

Persentase polen fertil diamati di bawah mikroskop dengan membandingkan jumlah polen fertil dengan jumlah polen total yang ada pada preparat dikalikan 100% (Bolat *et al.*, 1999). Rumus perhitungan persentase polen fertil ialah sebagai berikut :

$$\% \text{ fertilitas polen fertil} = \frac{\sum \text{polen fertil}}{\sum \text{polen total}} \times 100 \%$$

2. Keberhasilan Persilangan (%)

Persentase keberhasilan dihitung berdasarkan tongkol yang dihasilkan dibagi dengan jumlah bunga yang disilangkan dikalikan 100 %. Rumus perhitungan persentase keberhasilan persilangan ialah sebagai berikut :

$$\text{keberhasilan persilangan} = \frac{\sum \text{biji persilangan}}{\sum \text{biji kontrol}} \times 100 \%$$

3. Jumlah baris pada tongkol
4. Panjang tongkol (cm)
5. Diameter tongkol (cm)
6. Berat tongkol (gram)
7. Jumlah biji
8. Berat biji (gram)

3.6 Analisis Data

Semua data yang diperoleh, baik data dari lahan maupun di laboratorium diuji menggunakan uji t pada taraf 5%.

