

## **. BAHAN DAN METODE**

### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan di Dusun Klerek, Desa Torongrejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur. dilakakukan pada bulan Maret – Agustus 2017.

### **3.2 Alat dan Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah genotip lokal padi hitam (Uungaran) generasi mutan 2 (M2) yang telah mengalami perlakuan pemberian kolkisin . Bahan lain yang digunakan ialah pupuk Urea (45% N), SP-36 (36% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) dan KCl (60% K<sub>2</sub>O), aquades, 8-Hydroxyquinolin, asam asetat, Asam Klorida (HCl. Alat yang digunakan antara lain mikroskop, bajak, garu, timbangan analitik, gelas arloji, bak semai, raffia, label, bambo, meteran, jaring, kamera digital dan alat tulis.

### **3.3 Metode penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Petak Tunggal dan pengambilan data menggunakan metode *single plant* yaitu pengamatan setiap individu tanaman yang ditanam di lapang agar semua kelas pengamatan yang diharapkan dapat terpenuhi. Penelitian ini dilakukan dengan menanam benih M2 hasil dari mutagen yaitu perlakuan pemberian kolkisin 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm dengan kode bahan tanam U-K0 (200 Tanaman), U-K250-67 (200 Tanaman), U-K250-68 (200 Tanaman), U-K500-79 (200 Tanaman), U-K500-83 (200 Tanaman), U-K750-5 (200 Tanaman), dan U-K750-41(200 Tanaman), dengan jumlah total 1400 tanaman.

### **3.4 Pelaksanaan penelitian**

#### **3.4.1 Tahapan budidaya padi**

##### **1. Persemaian benih**

Persemaian benih dilakukan didalam bak persemaian dengan menaburkan tiap-tiap benih kedalam bak persemaian yang sudah mengandung media tanah basah, setelah benih sudah ditaburkan kemudian ditutup tipis-tipis dengan campuran tanah dan pupuk kandang. Benih yang disemai pada bak pasir selanjutnya disiram setiap

hari untuk menjaga kelembaban dari media persemaian agar tidak kekeringan. Persemaian akan dilakukan selama 10 – 20 hari.

## 2 . Persiapan lahan

Lahan yang digunakan diolah dengan cara dibajak dan digaru dengan ukuran lahan 8m x 23.5m (Lampiran 1). Lahan dibajak dalam keadaan tergenang air untuk mempermudah pengolahan. Saat akan dilakukan penanaman genangan air dikurangi agar tanaman padi dapat tumbuh dengan baik.

## 3. Penanaman

Penanaman bibit padi dilakukan pada lahan yang telah diolah dengan jarak tanam 30 cm x 30 cm, dan jarak antar blok 1 meter (Lampiran 1 dan 2). Penggunaan jarak tanam lebar bertujuan untuk mempermudah pengamatan. Penanaman dilakukan dengan menancapkan bibit padi yang telah disemai. Jumlah bibit yang ditanam pada populasi U-K0 (116 Tanaman), U-K250-67 (129 Tanaman), U-K250-68 (194 Tanaman), U-K500-79 (167 Tanaman), U-K500-83 (165 Tanaman), U-K750-5 (157 Tanaman), dan U-K750-41(166 Tanaman).

## 4. pemeliharaan

### a. Pengairan

Pengairan pada lahan dilakukan dengan melihat kondisi lahan, apabila keadaan lahan masih basah pengairan dapat ditunda. Pengairan dilakukan dengan cara mengatur kondisi lahan dalam kondisi tergenang sekitar 5-10 cm setelah priode tanam, dilakukan pada interval 5 hari sekali.

### b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan pada jarak interval 15 hari sekali. Penyiangan gulma dilakukan dengan cara manual yaitu dengan mencabut gulma di sela-sela tanaman padi. Tujuan dilakukan penyiangan adalah untuk menghindari persaingan unsur hara yang terjadi antara tanaman padi dengan gulma.

### c. Pemupukan

Pemupukan menggunakan pupuk anorganik Urea 500 g/petak (277,5 kg/hektar), SP-36 400 g/petak (222 kg/hektar), dan KCl 300 g/petak (166,5 kg/hektar) (Lampiran 4).

Pemupukan diaplikasikan dengan cara disebar dengan waktu pemupukan dibagi menjadi tiga kali yaitu pada 7-15 hst, 25-30 hst, dan 45-50 hst.

d. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan secara kimiawi menggunakan pestisida dengan melihat kondisi serangan hama dan penyakit dilapang. Ketika serangan hama dan penyakit dilapang telah melebihi ambang batas maka pengendalian dengan kimiawi diaplikasikan.

5. Panen dan pasca panen

Panen dilakukan ketika tanaman telah menunjukkan ciri-ciri masak fisiologis yang ditandai dengan bulir padi berisi penuh, bulir padi mengeras, dan tanaman padi menguning secara keseluruhan. Pemanenan tidak dilakukan secara bersamaan, dikarenakan setiap individu tidak memiliki umur panen yang sama sehingga pemanenan dilakukan dengan cara memilih tanaman yang menunjukkan masak fisiologis saja. Umur panen tanaman padi hitam varitas lokal Ungaran populasi kontrol dan tanaman hasil mutasi kolkisin (M2) mencapai 105-147 hari. Panen dilakukan dengan memotong malai tanaman padi. Setelah dipanen selanjutnya bulir padi dipisahkan dari malainya dan dijemur .

**3.4.2 Parameter pengamatan**

Pengamatan dilakukan pada penelitian ini ialah karakter kuantitatif dan kualitatif. Pengamatan dengan karakter kuantitatif dan kualitatif diamati dengan mengamati total keseluruhan tanaman yaitu 1400 tanaman.

**a. Karakter kualitatif yang diamati ialah sebagai berikut :**

1. Warna kulit ari beras, beras pecah kulit diamati dan diklasifikasi dengan menggunakan Pantone *color chart* untuk mengetahui perbedaan warna dari beras.

**b. Karakter kuantitatif yang diamati ialah sebagai berikut :**

1. Jumlah anakan, dihitung pada tiap tanaman padi setelah fase pembungaan penuh.
2. Jumlah anakan produktif, dihitung pada setiap tanaman padi jumlah anakan yang menghasilkan malai, diamati ketika memasuki masa panen.
3. Umur berbunga, dihitung tiap tanaman mulai dari tanam hingga tanaman mengeluarkan malai secara penuh dengan satuan hari setelah tanam (hst)
4. Umur panen, dihitung pada tiap tanaman mulai dari tanam hingga malai matang (85% saat malai sudah matang) dengan satuan hari setelah tanam (hst)
5. Persentase gabah bernas, dihitung jumlah gabah yang bernas pada tiap tanaman, selanjutnya dikonversi ke persen (%) dengan menggunakan persamaan :  $( \frac{\text{Jumlah gabah bernas}}{\text{Jumlah gabah total}} \times 100 \% )$ .
6. Persentase gabah hampa, dihitung jumlah gabah yang hampa pada tiap tanaman, selanjutnya dikonversi ke persen (%) dengan menggunakan persamaan :  $( \frac{\text{Jumlah gabah hampa}}{\text{Jumlah gabah total}} \times 100 \% )$ .
7. Bobot Total Biji Per Tanaman, dihitung dengan menimbang total biji pada tiap tanaman dengan satuan gram (g)
8. Bobot 100 butir, dihitung dengan menimbang 100 butir padi bernas yang telah dikeringkan dan ditimbang dengan tepat menggunakan satuan gram (g).
9. Tinggi tanaman, diukur pada tiap tanaman padi mulai dari pangkal batang sampai ujung malai tertinggi, pengukuran ketika tanaman telah memasuki fase generatif dengan satuan sentimeter (cm).
10. Panjang daun, diukur pada daun di bawah daun bendera. Pengukuran dilakukan ketika tanaman mulai masuk fase generatif dengan satuan (cm).
11. Jumlah daun per rumpun, dihitung pada tiap rumpun tanaman padi ketika tanaman mulai memasuki fase generatif.
12. Jumlah gabah pertanaman, di hitung jumlah gabah dari masing masing tanaman.

**c. Uji Sitologi Tanaman**

Uji sitologi yang dilakukan adalah penghitungan jumlah kromosom pada tanaman yang telah diinduksi dengan kolkisin. Analisis jumlah kromosom dilakukan dengan metode *squash* (sediaan tekan) sesuai dengan yang dilakukan oleh Damayanti (2007). Analisis jumlah kromosom menggunakan bagian ujung akar tanaman sebagai *sample*. Diamati sebanyak lima *sample* akar setiap perlakuan termasuk kontrol. Uji sitologi dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x. Langkah-langkah untuk pengujian sitologi, yaitu :

1. Pilih akar yang masih muda dan sehat dengan ciri berwarna putih bersih dengan ujung berwarna kuning.  
↓
2. Pukul 08.15 – 08.45 WIB memotong bagian ujung akar  $\pm$  1-2 cm. Rendam dengan larutan 8-Hydroxyquinolin 0,002 M, letakkan di dalam lemari pendingin seama  $\pm$  3,5 jam.  
↓
3. Bilas dengan aquadest, rendam dalam asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 45% selama 15 menit.  
↓
4. Rendam dengan campuran Asam Asetat 45% dan Asam Klorida (HCl) 1 N, dengan perbandingan 3 : 1 – 4 : 1, panaskan dalam *waterbath* dengan suhu 60oC selama 7 menit.  
↓
5. Pindahkan ke gelas arloji dengan posisi ujung akar di bagian dalam gelas arloji. Teteskan aceto orcein 2% dan diamkan selama 30 menit. Letakkan ujung akar pada geas objek, potong ujung akar  $\pm$  1-2 mm.  
↓
6. Teteskan 2 tetes aceto orcein 2% dan tutup dengan gelas penutup. Lewatkan preparat di atas api bunsen 2-3 kai. Ketuk preparat menggunakan pensi berkaret.  
↓

- Amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x, jika didapat penyebaran kromosom yang baik lakukan pemotretan dan lapisi bagian pinggir preparat dengan cat kuku.

#### **d. Pemilihan Individu Terpilih**

Pemilihan individu terpilih dilakukan dengan cara memilih individu tanaman dengan kriteria jumlah anakan, anakan produktif, panjang daun, jumlah daun, jumlah gabah pertanaman, bobot total biji pertanaman, bobot gabah 100 butir, dan % gabah bernas yang memiliki jumlah/nilai lebih tinggi dibandingkan tanaman kontrol dan karena nomor dari individu terpilih muncul di semua karakter pengamatan kuantitatif, sedangkan untuk karakter pengamatan tinggi tanaman, umur berbunga, umur panen, % gabah hampa yaitu dengan memilih individu yang memiliki nilai lebih rendah dibandingkan tanaman kontrol (Tabel 9).

### **3.5 Analisa data**

Hasil penelitian terdiri atas data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif dianalisis menggunakan pendekatan statistika deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabel untuk katagori warna kulit ari beras agar mempermudah ketika interpretasi. Sedangkan untuk data kuantitatif dianalisis menggunakan uji T pada taraf 5%, dilakukan analisis menggunakan uji T pada taraf 5% dikarenakan untuk membandingkan tanaman dua populasi, yaitu populasi tanaman kontrol dengan populasi tanaman hasil pemberian kolkisin (M2). Untuk melihat tingkat keragaman tanaman, dilakukan pula penghitungan nilai ragam fenotip, ragam lingkungan, nilai ragam genetik, nilai koefisien keragaman genetik (KKG), dan heritabilitas yang ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut :

- Nilai ragam fenotip ( $\sigma^2p$ ) dihitung berdasarkan rumus

$$\sigma^2p = \frac{\sum \bar{x}_i^2 - (\sum \bar{x}_i)^2 / n}{n-1}$$

Keterangan :

$\sigma^2p$  = Ragam individu mutan

$\bar{X}$  = Rata-rata pengamatan mutan

n = Jumlah individu mutan yang diamati

2. Nilai ragam lingkungan ( $\sigma^2e$ ) dihitung berdasar rumus :

$$\sigma^2e = \frac{\sum \bar{x}_i^2 - (\sum \bar{x}_i)^2 / n}{n-1}$$

Keterangan :

$\sigma^2e$  = Ragam individu mutan

$\bar{X}$  = Rata-rata pengamatan mutan

n = Jumlah individu mutan yang diamati

3. Nilai ragam genetik ( $\sigma^2g$ ) ditentukan berdasarkan pada :

$$\sigma^2g = \sigma^2p - \sigma^2e$$

4. Nilai Koefisien Keragaman Genetik (KKG) ditentukan menggunakan metode yang dikemukakan oleh Singh and Chaudhry (1979) sebagai berikut :

$$KKG = \frac{\sqrt{\sigma^2g}}{\bar{X}} \times 100\%$$

Keterangan :

$\sigma^2g$  = ragam genotip

$\bar{X}$  = rata-rata nilai karakter

Nilai KKG reatif menurut Moedjiono dan Mejaya (1994), dalam Martono, (2004) yaitu :

Rendah :  $0\% < x \leq 25\%$

Agak rendah :  $25\% < x \leq 50\%$

Cukup tinggi :  $50\% < x \leq 75\%$

Tinggi :  $75\% < x \leq 100\%$

5. Nilai heritabilitas ( $h^2$ ) menurut Poespodarsono (1988) dapat ditentukan dengan menggunakan metode sebagai berikut :

$$h^2 = \frac{\sigma^2g}{\sigma^2p}$$

Keterangan :

$\sigma^2g$  = Ragam genetik

$\sigma^2p$  = Ragam individu mutan fenotip

Kriteria heritabilitas menurut Stenfield (1983) :

$h^2 < 0.2$  = Rendah

$0.2 \leq h^2 \leq 0.5$  = Sedang

$h^2 > 0.5$  = Tinggi