

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2017 sampai Juni 2017 di Greenhouse Fakultas Peternakan dan Pertanian. Pembuatan larutan mutagen dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.2. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah kedelai varietas Dering I, Sodium Azida (SA), Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), Hidrogen klorida (HCl), tanah salin dan aquades. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah *hand sprayer*, *hot plate stirrer*, *shaker*, *tray*, spatula, pH meter, EC meter, botol kaca, timbangan analitik, gelas beker, labu ukur, pipet, erlenmeyer, *polybag*, gembor, dan alat tulis.

3.3. Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan di *greenhouse* adalah Rancangan Acak Lengkap. Penelitian yang dilakukan terdiri dari 2 tahap yaitu perkecambahan dan pindah tanam ke *polybag*. Perkecambahan kedelai varietas Dering 1 menggunakan *tray* berdasarkan 11 perlakuan dosis mutagen yaitu 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,4; 12,8; dan 25,6 mM. Benih kedelai ditanam menggunakan *tray* sampai

menjelang pindah tanam pada 3 tingkat salinitas tanah yaitu 0; 2; dan 5 dS/m.

3.3.1. Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Larutan Stok. Pembuatan larutan mutagen kimia Sodium azida (SA) yaitu stok kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) ditimbang sebanyak 13,609 g. Larutan stok yang telah ditimbang, kemudian dilarutkan ke dalam 1 liter akuades. Larutan yang telah tercampur diaduk menggunakan *stirer*, kemudian dicek pH menggunakan pH meter. Tahap berikutnya, stok mutagen sodium azida ditimbang menggunakan timbangan analitik sesuai perhitungan volume/massa berdasarkan dosis perlakuan (Lampiran 2). Masing-masing dosis mutagen yang telah ditimbang, dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan dilarutkan dengan 200 ml buffer fosfat hingga homogen, kemudian cek pH awal larutan. Larutan mutagen yang telah dilarutkan dengan buffer fosfat ditambahkan lagi dengan larutan HCl 0,1 N menggunakan *stirer* hingga mencapai pH 3 dan volume 250 ml. Penambahan HCl 0,1 N adalah untuk menurunkan pH larutan hingga mencapai pH 3.

Perendaman Benih. Sebelum benih direndam dengan larutan mutagen sodium azida, benih direndam terlebih dahulu dengan air mengalir selama 5 jam dengan suhu 28°C. Benih kedelai varietas Dering direndam sebanyak 100 biji untuk masing-masing dosis mutagen SA yaitu 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,4; 12,8; dan 25,6 mM. Benih direndam pada larutan mutagen selama 2 jam dengan suhu 25°C. Benih yang telah direndam, kemudian ditiriskan dan dibilas menggunakan air mengalir selama 1,5 jam, kemudian benih ditiriskan kembali.

Penyemaian Benih. Benih generasi M1 dikecambahkan dalam bak perkecambahan dengan tray. Perlakuan dosis mutagen dengan benih kedelai

varietas Dering membentuk 11 populasi yaitu populasi 1 (Dering 0 mM), populasi 2 (Dering 0,05 mM), populasi 3 (Dering 0,1 mM), populasi 4 (Dering 0,2 mM), populasi 5 (Dering 0,4 mM), populasi 6 (Dering 0,8 mM), populasi 7 (Dering 1,6 mM), populasi 8 (Dering 3,2 mM), populasi 9 (Dering 6,4 mM), populasi 10 (Dering 12,8 mM), populasi 11 (Dering 25,6 mM).

Benih ditanam menggunakan *tray* yang berisi tanah. Penyemaian benih sebanyak 100 lubang dalam 1 dosis, kemudian menutup benih dengan tanah. Benih dirawat dan dilakukan penyemprotan dengan air dua kali sehari. Benih yang sudah dikecambahkan selama 14 hari, kemudian diseleksi dengan cara melihat kecambah yang hidup, abnormal, dan yang mati dari masing-masing dosis mutagen.

Pindah Tanam. Bibit kedelai yang hidup pada fase perkecambahan, kemudian di pindah tanam ke dalam polybag yang berisi 3 tingkat salinitas tanah yaitu 0; 2; dan 5 dS/m. Tanah 0 dS/m atau tanah non-salin didapatkan dari tanah tembalang. Tanah salin 2 dan 5 dS/m didapatkan dari tanah dekat tambak garam yang berada di Rembang, Jawa Tengah. Setiap jumlah bibit yang hidup pada masing-masing dosis mutagen kemudian ditanam pada 3 tingkat salinitas tanah (Lampiran 4).

3.3.3. Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati meliputi karakter untuk menentukan LD₅₀ dan karakter agronomi seperti tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah polong, berat polong (g), jumlah biji, dan berat biji (g) :

1. Karakter untuk menentukan LD₅₀ yaitu menghitung persentase daya berkecambah yang diamati setiap hari selama 7 HST (hari setelah tanam).

2. Tinggi tanaman.

Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah hingga ke titik tumbuh pada minggu ke-8 menggunakan mistar.

3. Jumlah daun

Menghitung seluruh jumlah daun tanaman kedelai pada minggu ke-8 setelah tanam.

4. Jumlah polong

Polong dipanen dan dihitung jumlah polong setiap tanaman pada minggu ke-8. Pemanenan dilakukan pada saat daun telah menguning dan rontok serta polong keras dan berubah warna menjadi kecokelatan.

5. Berat polong

Berat polong dihitung setelah proses pemanenan menggunakan timbangan analitik.

6. Jumlah biji

Menghitung jumlah biji hasil panen pada setiap tanaman

7. Berat biji

Menimbang berat biji setiap tanaman yang telah dihitung menggunakan timbangan analitik.

3.3.4. Analisis Data

Data hasil pengamatan daya berkecambah pada tiap taraf dosis mutagen sodium azida dihitung menggunakan aplikasi *Curve Expert 1.4* untuk penentuan nilai LD₅₀. Data karakter agronomi seperti tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah polong, berat polong, jumlah biji, dan berat biji kedelai dianalisis secara individu

pada setiap masing – masing tanaman dengan cara menghitung persentase kehilangan menurut Soepandi (1990), dengan rumus :

$$\% \text{ kehilangan} = \frac{(a - b)}{a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = rata-rata pengukuran parameter pada dosis 0 mM pada tanah non-salin

b = hasil pengukuran parameter/tanaman pada dosis mutagen

Menurut Soepandi (1990), terdapat beberapa kriteria tanaman sesuai persentase kehilangan pada setiap individu tanaman, diantaranya skor 0 (sangat rentan) sampai dengan skor 6 (sangat tahan), dan tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Kriteria Tanaman

% kehilangan	Skoring	Kriteria
>50%	0	Sangat rentan
35 – 49,99%	1	Rentan
15 – 34,99%	2	Moderat
5 – 14%	4	Agak tahan
0 – 4,99%	5	Tahan
<0%	6	Sangat tahan

Sumber : Soepandi (1990)