

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium lapangan terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dari bulan Juni 2014 sampai dengan September 2014, sedangkan perbanyakan virus dilakukan di lahan pekarangan Kampung Baru, Bandar Lampung. Pengamatan kemudian dilanjutkan di Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Universitas Lampung.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70%, zeolit, air, Furadan 3g, fungisida (*Dithane*) berbahan aktif *mancozeb* 80% , insektisida (*Decis*) berbahan aktif *delhtametrin* 25 g/l aquades. buffer fosfat, Urea 50 kg/ha, SP36 100 kg/ha, KCl 100 kg/ha dan pupuk organik (kandang) 10 g/tanaman dan pupuk kandang 10 ton/ha. Benih yang digunakan yaitu 120 tanaman dari populasi F<sub>3</sub> hasil persilangan Tanggamus x Taichung hasil pemuliaan Wanda dan 90 tetua kedelai yang terdiri atas varietas Tanggamus dan Taichung. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mortal, alu, *hand sprayer*, mistar, gunting, sungkup, cangkul, sabit, koret, golok, *knapsack sprayer*, polybag, *cotton bud*, botol aqua, gelas ukur, timbangan analitik, sabit, jaring, bambu, gembor, kantung, dan tali rafia.

### 3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rancangan perlakuan tunggal terstruktur bersarang. Percobaan tanpa ulangan karena dalam penelitian ini seluruh tanaman yang diuji diamati.

### 3.4 Analisis Data

Untuk menjawab pertanyaan dalam rumusan masalah dan menguji hipotesis, maka disusun metode penelitian dengan rancangan tanpa ulangan dengan analisis sebagai berikut.

Menurut Suharsono *et al.*(2006 ), ragam fenotipe ( $\sigma_f^2$ ) ditentukan dengan rumus:

$$\sigma_f^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \mu)^2}{N}$$

keterangan:

- $\sigma_f^2$  = varians fenotipe
- $X_i$  = nilai pengamatan tanaman ke -i
- $\mu$  = nilai tengah populasi
- $N$  = jumlah tanaman yang diamati

Ragam lingkungan ( $\sigma_s^2$ ) ditentukan dengan rumus :

$$\sigma_s^2 = \frac{n_1\sigma_{p1} + n_2\sigma_{p2}}{n_1 + n_2}$$

Keterangan:

- $p_1$  = simpangan baku tetua 1
- $p_2$  = simpangan baku tetua 2
- $n_1 + n_2$  = jumlah tanaman tetua

(Suharsono *et al.*, 2006).

Populasi tetua secara genetik adalah seragam sehingga ragam genetiknya nol. Oleh karena itu, ragam fenotipe yang diamati pada populasi tetua sama dengan ragam lingkungan. Tetua dan populasi keturunannya ditanam pada lingkungan yang sama maka ragam lingkungan tetua sama dengan ragam lingkungan populasi keturunan.

Dengan demikian ragam genetik ( $\sigma_g^2$ ) dapat dihitung dengan rumus :

$$\sigma_g^2 = \sigma_f^2 - \sigma_e^2$$

Keterangan :

$$\sigma_f^2 = \text{ragam fenotipe}$$

$$\sigma_e^2 = \text{ragam lingkungan}$$

(Suharsono *et al.*, 2006)

Menurut Wahyuni *et al.*, (2010), keragaman fenotipe dikatakan luas apabila keragaman fenotipenya lebih besar dua kali simpangan baku, sedangkan keragaman fenotipe dikatakan sempit apabila keragaman fenotipenya lebih kecil dua kali lipat dari standar deviasinya (SD).

Berdasarkan kriteria keragaman tersebut, digunakan rumus penghitungan

simpangan baku ( $\sqrt{\sigma^2}$ ) berdasarkan Walpole (1992) yaitu sebagai berikut:

$$\sqrt{\sigma^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \mu)^2}{N}}$$

Keterangan:

$$\sqrt{\sigma^2} = \text{simpangan baku}$$

$$X_i = \text{nilai pengamatan ke } -i$$

$$\mu = \text{nilai tengah populasi}$$

$N$  = jumlah tanaman yang diamati

Menurut Suharsono *et al.*, 2006, pendugaan heritabilitas dalam arti luas (H)

dengan menggunakan rumus :

$$H = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2}$$

Keterangan :

$H$  = heritabilitas arti luas

$\sigma_g^2$  = ragam genotipe

$\sigma_f^2$  = ragam fenotipe

Kriteria penilaian heritabilitas menurut Mendez-Natera *et al.*, (2012) adalah sebagai berikut:

1. Heritabilitas tinggi apabila  $H \geq 50\%$  atau  $H \geq 0,5$
2. Heritabilitas sedang apabila  $20\% < H < 50\%$  atau  $0,2 < H < 0,5$
3. Heritabilitas rendah apabila  $H \leq 20\%$  atau  $H \leq 0,2$

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan larutan bufer fosfat

Bahan pembuatan larutan bufer fosfat terdiri atas  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (larutan A: 1,36 g),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (larutan B: 1,78 g) dan akuades sebanyak dua liter. Alat yang digunakan adalah timbangan elektrik, dua buah gelas ukur berukuran 1000 ml dan satu buah berukuran 500 ml, pengaduk, dan botol berukuran 2 liter. Pembuatan bufer fosfat dapat dilakukan dengan menimbang 1,36 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan 1,78 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Untuk pembuatan larutan A, 1,36 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang telah ditimbang dilarutkan ke dalam satu liter akuades. Untuk pembuatan larutan B,

1,78 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  yang telah ditimbang dilarutkan ke dalam satu liter akuades pula. Satu liter bufer fosfat diperoleh dengan cara mencampurkan 510 ml larutan A dan 490 ml larutan B, kemudian dimasukkan ke dalam botol yang telah disediakan dan ditutup rapat.

### 3.5.2 *Perbanyakan Inokulum soybean mosaic virus*

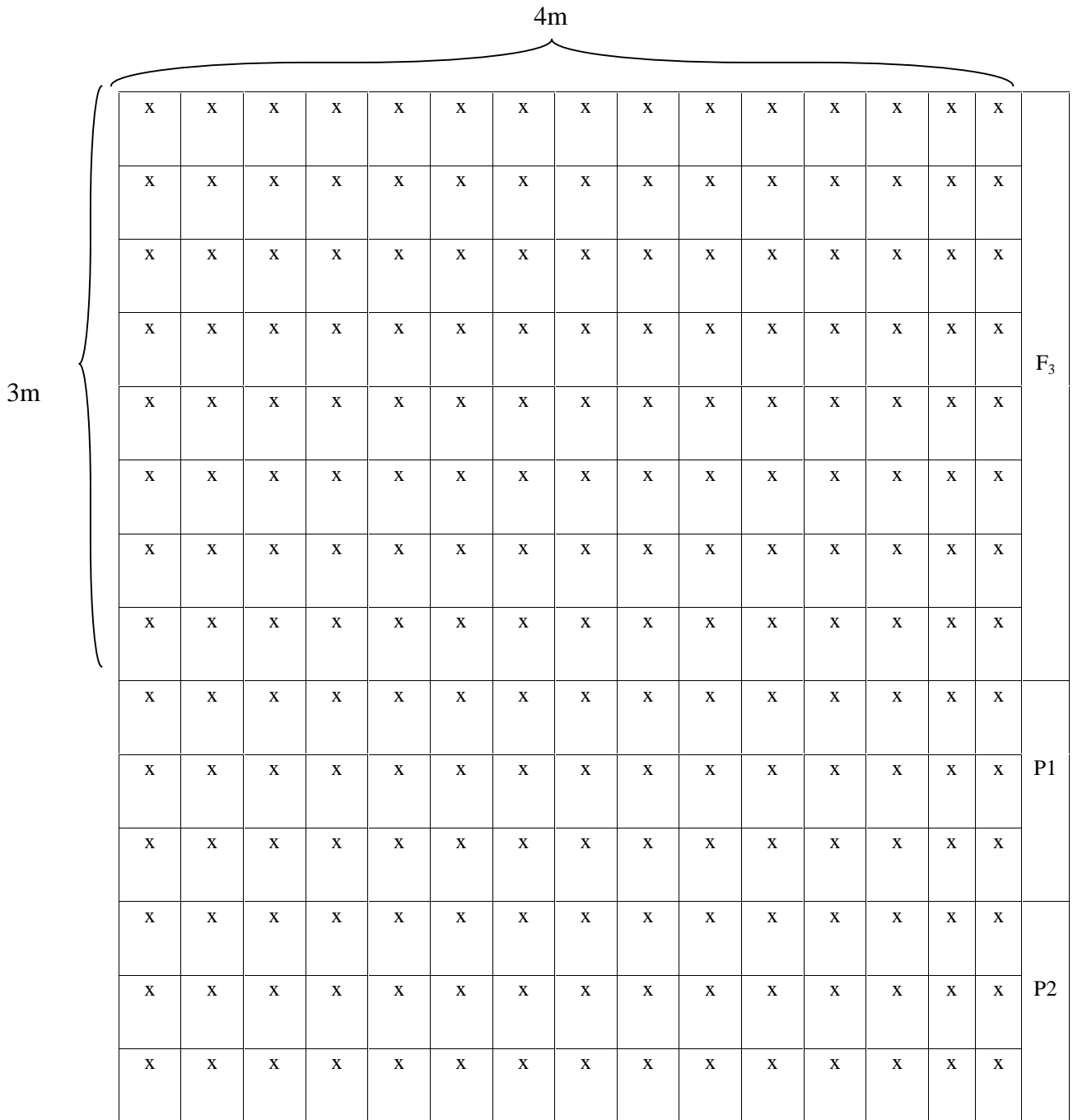
Benih kedelai yang digunakan untuk perbanyakan SMV yaitu benih varietas Tanggamus karena merupakan benih yang rentan terhadap virus. Kegiatan pertama yang dilakukan untuk perbanyakan inokulum SMV yaitu pembuatan sap/ekstrak daun. Sap dibuat dengan cara menggerus daun kedelai yang telah terinfeksi sebanyak 5g dengan menggunakan mortal dan alu yang diencerkan dengan buffer fosfat pH 7 sebanyak 50 ml. Inokulasi secara mekanik dilakukan sesuai dengan prosedur Akin (2006) Setelah daun berjumlah lebih dari 4 helai atau berumur 10 hari. Caranya yaitu sap (ekstrak daun) dioleskan pada permukaan daun tanaman yang mengalami luka mikro (*sublethal wounding or abrasi*) atau daun yang telah ditaburi zeolit. Setelah sap dioleskan, dilakukan pencucian menggunakan aquades dengan cara disemprot menggunakan *hand sprayer*.

### 3.5.3 *Persiapan Lahan*

Lahan diolah dengan menggunakan cangkul untuk memperbaiki sifat fisik tanah dan untuk membersihkan gulma. Kemudian tanah tersebut dicampur pupuk kandang secara merata untuk meningkatkan kesuburan tanah.

#### *3.5.4 Penanaman*

Pada penelitian ini ditanam 120 benih  $F_3$  hasil persilangan Tanggamus x Taichung. Penelitian ini dilakukan dengan menanam benih pada petak percobaan berukuran 3m x 4m. Tanaman tersebut ditanam dengan jarak tanaman 20cm x 50cm. Jarak antar baris 50 cm dan jarak tanaman dalam baris 20 cm. Pada setiap baris ditanam 15 benih yang sama dan tetua terdapat pada baris terluar. Tata letak penanaman kedelai  $F_3$  hasil persilangan Tanggamus x Taichung dan tetua dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2. Tata letak penanaman benih kedelai hasil persilangan Tanggamus x Taichung dan kedua tetuanya

Keterangan

P1 = Tetua Varietas Tanggamus

P2 = Tetua Varietas Taichung

F<sub>3</sub> = Persilangan Varietas Tanggamus x Taichung



### 3.5.5 Pemupukan

Pemupukan dilakukan dua kali yaitu pada awal tanam dan pada fase generatif. Pupuk yang diaplikasikan yaitu KCl 100 kg/ha, SP-36 100 kg/ha, dan Urea 50 kg/ha. Pupuk diaplikasikan dengan jarak 5 cm dari lubang tanam tanaman kedelai.

### 3.5.6 Inokulasi *soybean mosaic virus* di Lapangan

Tanaman kedelai yang sudah memiliki daun terbuka sempurna (7 – 10 HST) dapat diinokulasi dengan sap SMV yang sebelumnya telah ditaburi zeolit. Setelah daun diinokulasi, daun tersebut dicuci kembali dengan aquades secukupnya menggunakan *hand sprayer*.



Gambar 3. Tahap-tahap inokulasi *soybean mosaic virus* di lapangan.



### 3.5.7 Pelabelan

Setiap tanaman uji masing-masing diberi label seperti tanggal inokulasi untuk mempermudah dalam pengamatan.

### 3.5.8 Perawatan dan Pemeliharaan Tanaman

Perawatan dan pemeliharaan tanaman meliputi penyulaman tanaman yang mati, penyiangan gulma, penyiraman, pengendalian hama dan penyakit, memperbaiki label yang rusak, dan paranet yang rusak/bergeser. Penyiangan gulma dilakukan secara mekanis yaitu menggunakan koret. Penyemprotan dengan insektisida dan fungisida dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Insektisida yang digunakan yaitu *Decis* dengan dosis 25 g/l, sedangkan fungisida yang digunakan yaitu *Dithane* dengan dosis 80% . Penyiraman dilakukan pada sore hari dengan menggunakan gembor dan selang.

### 3.5.9 Pemanenan

Ciri-ciri umum tanaman kedelai yang siap panen yaitu polong berwarna kuning kecoklatan secara merata dan matang Pemanenan dilakukan dengan memanen tanaman kedelai secara utuh dengan mencabut satu per satu tanaman, kemudian dimasukkan ke dalam kantong panen yang telah diberi label.

### 3.5.10 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada setiap tanaman kedelai. Peubah yang diamati pada penelitian ini yaitu

1. Periode inkubasi, dihitung dari waktu inokulasi sampai dengan timbulnya gejala (Mulia, 2008).

2. Keparahan penyakit, diamati minggu ke enam setelah tanam dan dilakukan terhadap 10 daun tanaman uji, serta dihitung menurut Mulia (2008) dalam Aprianti (2014):

$$KP = \frac{\sum(nzv)}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan:

KP : Keparahan penyakit

N : Jumlah sampel yang diamati

Z : Nilai skor tertinggi

n : Jumlah sampel untuk kategori serangan

V : Nilai skor untuk kategori serangan

Kategori ketahanan terhadap *soybean mosaic virus*:

Keparahan penyakit (%):

1 – 10 = Sangat tahan

11 – 25 = Tahan

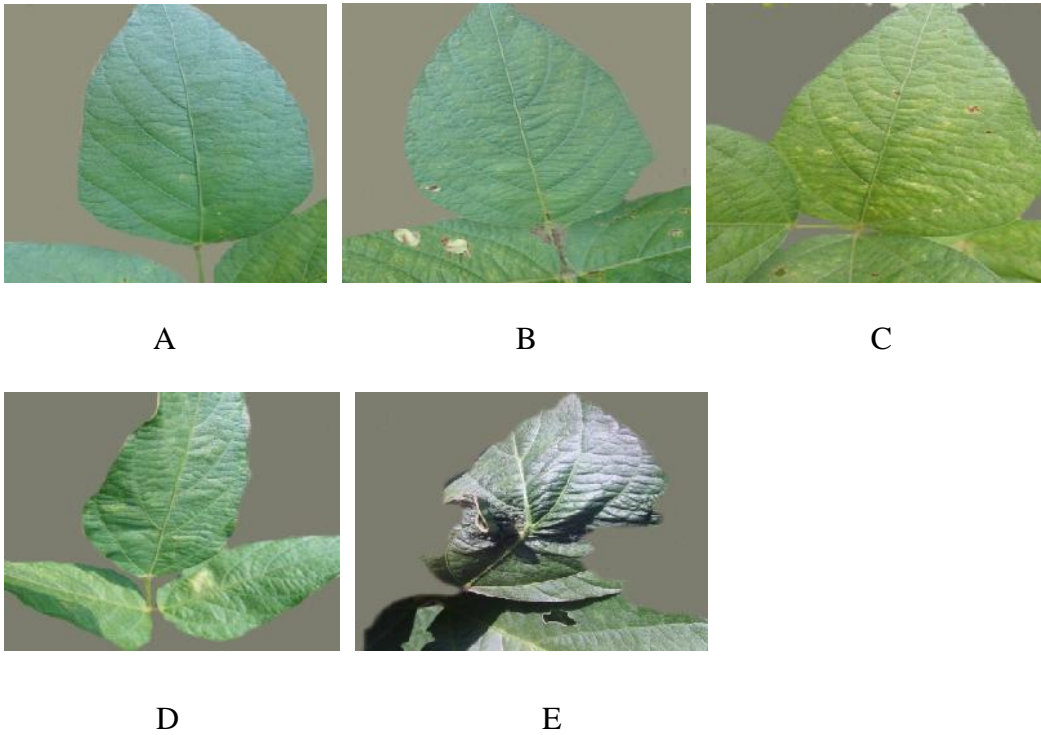
26 – 35 = Agak tahan

36 – 50 = Agak rentan

51 – 75 = Rentan

76 – 100 = Sangat rentan (Aprianti, 2014).

Menurut Akin (2006), gejala serangan setiap jenis virus yang muncul memiliki rincian sebagai berikut:



Gambar 4. Skor gejala penyakit.

Keterangan:

- 0 = Tidak bergejala
- 1 = Klorosis dan tulang daun memucat
- 2 = Mosaik dengan klorosis pada tulang daun dan permukaan daun
- 3 = Mosaik berat, klorosis dan terjadi pembengkokan pada permukaan daun, daun melengkung ke bawah atau ke atas.
- 4 = Malformasi daun

Peubah-peubah yang diamati setelah panen yaitu:

1. Umur berbunga, dihitung berdasarkan jumlah hari sejak tanam sampai dengan tanaman berbunga untuk yang pertama kali
2. Umur panen, dihitung sejak tanam sampai tanaman siap untuk dipanen.
3. Tinggi tanaman, diukur dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman. Pengukuran dilakukan setelah panen.
4. Cabang produktif, dihitung berdasarkan jumlah cabang yang menghasilkan polong.
5. Total jumlah polong, dihitung berdasarkan jumlah polong yang muncul pada setiap tanaman.
6. Persentase polong bernas,  $(\text{jumlah polong bernas} : \text{total polong}) \times 100\%$ .
7. Total jumlah benih, dihitung berdasarkan total jumlah benih per tanaman.
8. Persentase benih sehat,  $(\text{jumlah benih sehat} : \text{total benih}) \times 100\%$ .
9. Bobot 100 butir benih per tanaman, diamati setelah dikeringanginkan sekitar 3 minggu setelah panen (g).
10. Produksi benih per tanaman, dengan cara menimbang benih setiap tanaman.