

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kebun percobaan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung mulai bulan Juni 2014 sampai bulan September 2014. Pengamatan kemudian dilanjutkan di Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu alkohol 70%, zeolit, air, Furadan 3G, fungisida berbahan aktif *mancozeb* 80%, insektisida berbahan aktif *delhtametrin* 25 g/l aquades, buffer fosfat, Urea 50 kg/ha, SP 36 100 kg/ha, KCl 100 kg/ha dan pupuk kandang 10 ton/ha. Benih yang digunakan yaitu 100 butir dari satu populasi F₂ hasil persilangan Tanggamus dan Taichung genotipe nomor 11 yang memiliki tingkat KP sebesar 25% (tahan), dan jumlah biji sehat 274 butir. Benih tetua yang digunakan adalah benih Tanggamus dan Taichung.

Alat yang digunakan yaitu mortal, korek api, alu, *hand sprayer*, mistar, gunting, benang, kamera, cangkul, sabit, koret, golok, *knapsack sprayer*, *polybag*, *cotton bud*, kertas label, botol aqua, gelas ukur, timbangan analitik, cangkul, patok, meteran, sabit, jaring, bambu, selang, kantung, tali rafia, dan alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis maka rancangan perlakuan yang digunakan yaitu rancangan perlakuan tunggal tidak terstruktur, sedangkan rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan percobaan tanpa ulangan. Dalam penelitian ini seluruh tanaman yang diuji diamati.

3.4 Analisis Data

Menurut Suharsono dkk.,(2006), ragam fenotipe (σ_f^2) ditentukan dengan rumus :

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

keterangan:

σ_f^2 = ragam fenotipe

X_i = nilai pengamatan tanaman ke -i

μ = nilai tengah populasi

N = jumlah tanaman yang diamati

Ragam lingkungan (σ_e^2) ditentukan dengan rumus :

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

Keterangan:

σ_{p1} = simpangan baku tetua 1

σ_{p2} = simpangan baku tetua 2

$n_1 + n_2$ = jumlah tanaman tetua

(Suharsono dkk., 2006).

Populasi tetua secara genetik adalah seragam sehingga ragam genotipenya 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 (σ_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 dkk., 2006)

Perhitungan 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:

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

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

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

$$N = \text{jumlah yang diamati}$$

Menurut Suharsono dkk., 2006, pendugaan heritabilitas dalam arti luas (HL)

dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan :

H	= heritabilitas arti luas
σ_g^2	= ragam genotipe
σ_f^2	= ragam fenotipe

Penduga nilai heritabilitas menurut Mc. Whirter, 1979 dikutip Aryana (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 $H \leq 0,2$

Analisis korelasi berdasarkan Walpole (1992) dihitung menggunakan rumus :

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - (\sum_{i=1}^n x_i)(\sum_{i=1}^n y_i)}{\sqrt{[n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2] [n \sum_{i=1}^n y_i^2 - (\sum_{i=1}^n y_i)^2]}}$$

Keterangan:

r = nilai korelasi antara peubah x dan y

n = jumlah pengamatan

x_i = nilai variabel x pada tanaman ke- i

y_i = nilai variabel y pada tanaman ke- i

Untuk melihat ada atau tidaknya korelasi, dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$t_{hit} = \frac{r_{xy} \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r_{xy}^2}}$$

$t_{hit} > t$ tabel terdapat korelasi, pada $t 0,05$ (Walpole, 1992)

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Pembuatan larutan bufer fosfat

Bahan pembuatan larutan bufer fosfat terdiri atas KH_2PO_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 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 KH_2PO_4 dan 1,78 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Pembuatan larutan A dilakukan dengan menimbang 1,36 g KH_2PO_4 dan melarutkannya ke dalam satu liter akuades. Pembuatan larutan B dilakukan dengan menimbang 1,78 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kemudian dilarutkan ke dalam satu liter akuades. 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. *Perbanyak Inokulum Soybean Mosaik Virus (SMV)*

Benih kedelai yang digunakan untuk perbanyak SMV yaitu benih yang berasal dari benih sakit generasi F_2 Tanggamus x Taichung milik Wanda. Kegiatan pertama perbanyak inokulum SMV ialah pembuatan ekstrak daun (sap). Ekstrak dibuat dengan cara menggerus daun kedelai yang telah terinfeksi sebanyak 5g dengan menggunakan mortal dan alu. Kemudian Ekstrak dari daun tersebut diencerkan dengan buffer fosfat pH 7 sebanyak 50 ml. Inokulasi secara mekanik (*mechanical inoculation*) dilakukan sesuai dengan prosedur Akin (2006) setelah daun berjumlah lebih dari 4 helai atau berumur 10 hari. Langkah selanjutnya yaitu menaburkan zeolit ke bagian permukaan daun. Zeolit ini berfungsi sebagai agen abrasi agar permukaan daun mengalami luka mikro (*sublethal wounding or abrasi*) sehingga virus dapat masuk. Kemudian sap (ekstrak daun) dioleskan pada permukaan daun tanaman dengan menggunakan

cotton bud. Ekstrak daun dioleskan, dilakukan pencucian menggunakan aquades dengan cara disemprot menggunakan *hand sprayer*.

3.5.3. *Persiapan Lahan*

Pengolahan lahan dilakukan dengan menggunakan cangkul sedalam 20-25 cm.

Tujuan pengolahan lahan yaitu untuk memperbaiki sifat fisik tanah dan untuk membersihkan gulma. Kemudian tanah tersebut dicampur dengan pupuk kandang secara merata untuk meningkatkan kesuburan tanah.

3.5.4. *Penanaman*

Penelitian ini dilakukan dengan menanam 100 benih F_3 hasil persilangan

Tanggamus x Taichung pada petak percobaan berukuran 3m x 4m. Benih tersebut ditanam pada petak percobaan 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 yang dipilih secara acak, sedangkan tetua ditanam pada baris terluar. Tata letak penanaman kedelai F_3 hasil persilangan Tanggamus x Taichung dapat dilihat pada Gambar 1.

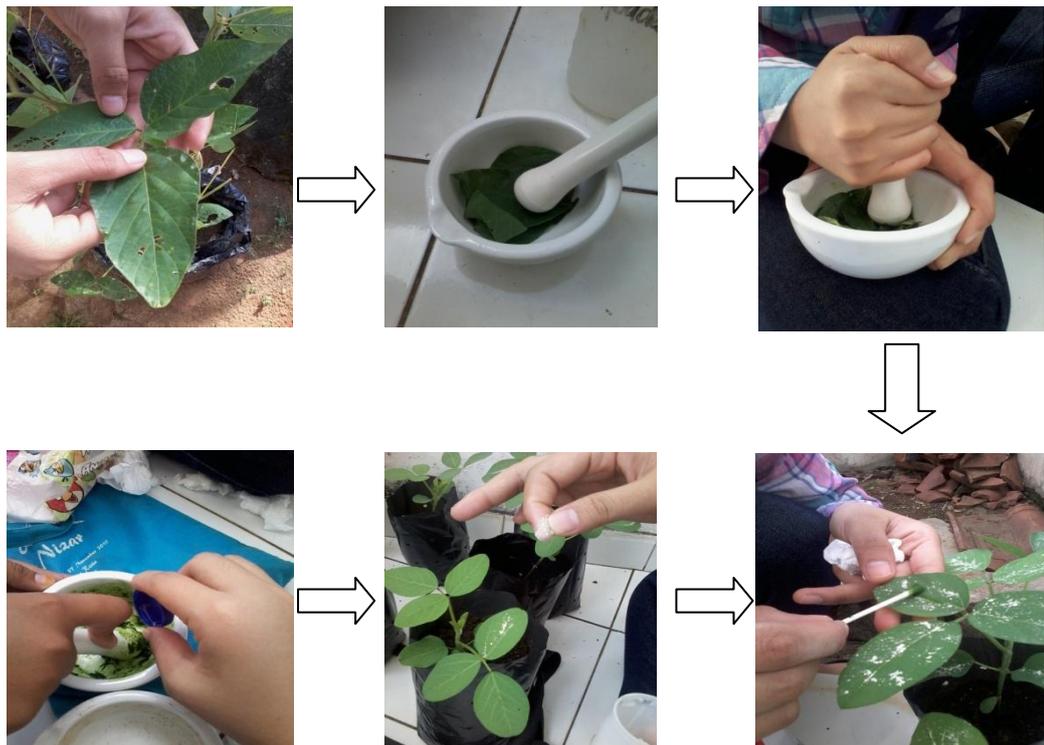
3.5.5. Pemupukan

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. Tahapan perbanyakan inokulum *Soybean mosaic virus* di lapangan.

Keterangan: Tanda panah menunjukkan arah tahapan inokulasi.

3.5.7 Pelabelan

Setiap tanaman yang telah diinokulasi masing-masing diberi label dengan keterangan waktu penanaman, tanggal inokulasi, dan nomor genotipe untuk mempermudah dalam pengamatan. Penomoran dilakukan sesuai dengan jumlah benih yang ditanam. Tanaman kedelai ditanam sebanyak 100 tanaman, sehingga terdapat nomor genotipe dari 11-1 sampai 11-100. Penulisan nomor memuat semua nomor harapan dari generasi F_2 dan F_3 secara berurutan. Penulisan nomor 11-1 menjelaskan bahwa nomor 11= generasi F_2 dan 1=generasi F_3 .

3.5.8 Perawatan dan pemeliharaan tanaman

Perawatan dan pemeliharaan tanaman meliputi penyulaman tanaman yang mati, penyiangan gulma, penyiraman, pengendalian hama dan penyakit, perbaikan label dan paranet yang rusak. Penyiangan gulma dilakukan secara mekanis yaitu menggunakan koret. Penyemprotan dengan insektisida dan fungisida dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Insektisida yang digunakan yaitu *Decis* dan fungisida yang digunakan yaitu *Dithane*. Penyiraman dilakukan setiap hari 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 serta adanya degradasi klorofil pada daun tanaman yang menyebabkan daun tanaman kedelai menguning. Pemanenan dilakukan dengan memanen tanaman kedelai secara utuh dengan mencabut satu

persatu tanaman, kemudian memasukkan pada kantong panen yang telah diberi label.

3.5.10 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini terdiri dari pengamatan sebelum panen dan pengamatan setelah panen. Pengamatan sebelum panen meliputi:

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 Campbell dan Madden yang dikutip Mulia (2008):

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

Keterangan:

KP: Keparahan penyakit

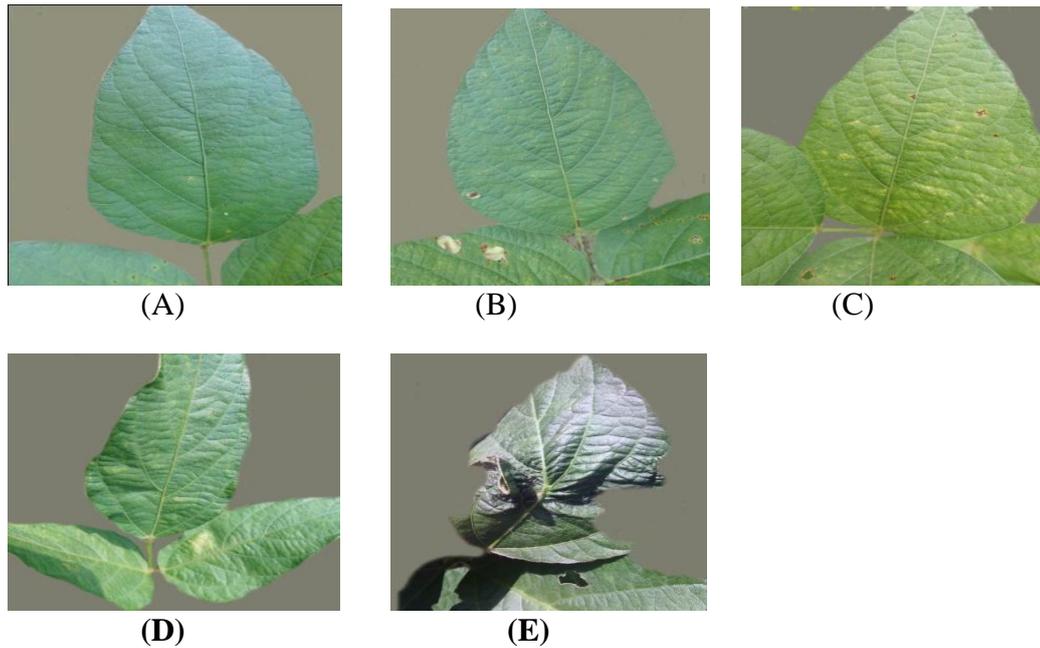
N : Jumlah sampel yang diamati

Z : Nilai skor tertinggi

n : Jumlah sampel untuk gejala penyakit

V : Nilai skor untuk kategori gejala penyakit

Gejala serangan setiap jenis virus yang muncul menurut Akin (2005) yang dikutip Mulia (2008) memiliki rincian sebagai berikut:



Gambar 4. Skor gejala penyakit

Keterangan: 0= Tidak bergejala (A); 1= Klorosis dan tulang daun memucat (B); 2= Mosaik dengan klorosis pada tulang daun dan permukaan daun (C); 3= Mosaik berat, klorosis dan terjadi pembengkokan pada permukaan daun, daun melengkung ke bawah atau ke atas; dan 4 = Malformasi daun (E).

Kategori ketahanan:

Keparahan penyakit (%):

0 – 10 = sangat tahan

11 – 25 = tahan

26 – 35 = agak tahan

36 – 50 = agak rentan

51 – 75 = rentan

76 – 100 = sangat rentan (Akin, 2013 dikutip Putri, 2013).

Peubah-peubah yang diamati setelah panen yaitu

3. Tinggi tanaman, diukur dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman.

Pengukuran dilakukan setelah panen;

4. Cabang produktif, dihitung berdasarkan jumlah cabang yang dapat menghasilkan polong;

5. Jumlah total polong, dihitung berdasarkan jumlah polong yang muncul pada setiap tanaman;
6. Jumlah polong bernas, dihitung berdasarkan jumlah polong bernas per tanaman;
7. Jumlah polong hampa, dihitung berdasarkan jumlah polong hampa per tanaman;
8. Jumlah total biji, dihitung berdasarkan jumlah total biji per tanaman;
9. Persentase biji sehat, dihitung berdasarkan jumlah biji dari total biji keseluruhan, kemudian di persentasekan ($\text{jumlah biji sehat} : \text{total biji} \times 100\%$);
10. Persentase biji sakit, dihitung berdasarkan selisih jumlah biji sakit dengan biji sehat dari total biji keseluruhan, kemudian dipersentasekan ($\text{jumlah biji sakit} : \text{total biji} \times 100\%$);
11. Bobot 100 butir benih per tanaman, diamati setelah dikeringanginkan sekitar 3 minggu setelah panen (g);
12. Produksi benih per tanaman, dengan cara menimbang biji setiap tanaman; dan Umur panen, dihitung sejak tanam sampai tanaman siap untuk dipanen.