

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kebun percobaan Fakultas Pertanian dan Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada bulan Oktober 2011 sampai bulan Februari 2012. Pengamatan kemudian dilanjutkan di Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gembor, selang air, cangkul, tugal, koret, meteran, tali rafia, benang, kertas label, gunting, bambu, jaring, plastik, golok, kantung panen, *knapsack sprayer*, mistar, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari benih kedelai varietas Wilis (P₁), varietas B3570 (P₂), F₂ (benih kedelai hasil persilangan sendiri F₁ antara Wilis x B3570), Furadan 3G, insektisida berbahan aktif Deltametrin dengan merk dagang Decis 2,5 EC, fungisida berbahan aktif Mankozep 80%, pupuk Urea 50 kg/ha, SP36 100 kg/ha, dan KCL 100 kg/ha. Benih-benih yang digunakan adalah benih galur-galur kedelai hasil pemuliaan Dr. Ir. Maimun Barmawi, M.S.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan tanpa ulangan. Pengulangan tidak dilakukan karena benih yang digunakan adalah benih F_2 yang masih bersegregasi dan masih memiliki persentase heterozigot ($1/2 \times 100\% = 50\%$) (Mahendra 2010), dan benih belum homozigot secara genetik (Baihaki, 2000).

3.3.1 Analisis segregasi karakter agronomi tanaman kedelai

Karakter agronomi masing-masing tanaman dari populasi F_2 dikelompokkan ke dalam fenotipe/kelas tertentu, dan jumlahnya dihitung. Adapun rumus uji yang digunakan dalam analisis segregasi kesesuaian distribusi normal karakter agronomi tanaman kedelai dari populasi F_2 adalah uji Khi-kuadrat.

Uji khi-kuadrat digunakan untuk menguji kesesuaian antara nilai pengamatan dan nilai harapan (Gomez dan Gomez, 1995) sebagai berikut:

1. Banyaknya data pengamatan (n) dinyatakan ke dalam tabel frekuensi.

Kemudian ditentukan wilayah data sebagai perbedaan antara pengamatan terbesar dan terkecil, dan wilayah tersebut dibagi ke dalam kelas (p). Untuk setiap kelas, ditentukan nilai kelas (titik tengah wilayah kelas) dengan membuat rata-rata dari nilai batas terendah dan tertinggi

2. Dari tabel frekuensi yang telah dibuat, dihitung rata-rata (\bar{X}) dan ragam (s^2) sebagai berikut:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^p (f_i)(X_i)}{\sum_{i=1}^p f_i}$$

$$s^2 = \frac{1}{\sum_{i=1}^p f_i - 1} \left\{ \sum_{i=1}^p (f_i)(X_i^2) - \frac{\left[\sum_{i=1}^p (f_i)(X_i) \right]^2}{\sum_{i=1}^p f_i} \right\}$$

Keterangan: X_i = nilai kelas ke- i ; f_i = frekuensi kelas ke- i ; dan p = banyaknya kelas

3. Frekuensi harapan dari setiap kelas dihitung berdasarkan hipotesis sebaran peluangnya.

- Untuk setiap kelas, dihitung nilai Z baku, satu untuk batas terendah (Z_l) dan lainnya batas tertinggi (Z_h)

$$Z_l = \frac{L_l - \bar{X}}{s} \quad \text{dan} \quad Z_h = \frac{L_h - \bar{X}}{s}$$

Keterangan: L_l = batas kelas terendah; L_h = batas kelas tertinggi

- Peluang setiap selang kelas ditentukan berdasarkan hipotesis sebaran peluang sebagai berikut:

$$P = P(Z_l < X < Z_h)$$

$P = P(Z_l < X < Z_h)$ menunjukkan peluang bahwa X berada di antara Z_l dan Z_h

- Frekuensi harapan untuk kelas ke- i (F_i) dihitung sebagai hasil kali peluang kelas ke- i (P_i) yang ditentukan pada langkah sebelumnya dan banyaknya pengamatan (n):

$$F_i = (n)(P_i)$$

4. Rumus χ^2 -hitung sebagai berikut:

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^p (f_i - F_i)^2}{F_i}$$

Keterangan: f_i = frekuensi pengamatan ; F_i = frekuensi harapan bagi kelas ke- i

5. Nilai hitung χ^2 dibandingkan dengan nilai tabel χ^2 dengan derajat kebebasan ($p-3$), dan hipotesis sebaran peluang ditolak apabila nilai hitung χ^2 melebihi nilai tabel χ^2 pada taraf nyata 0,01.

Hipotesis pertama (H_0) menduga bahwa uji kesesuaian distribusi normal karakter agronomi tanaman kedelai generasi F_2 hasil persilangan Wilis x B3570 berdistribusi normal; dengan demikian H_0 diterima bila $X^2_{hitung} < X^2_{tabel}$.
Sebaliknya, H_0 ditolak jika $X^2_{hitung} > X^2_{tabel}$

3.3.2 Uji signifikansi untuk berbagai nisbah teoretis generasi F_2

Kesesuaian segregasi karakter agronomi populasi F_2 Wilis x B3570 dengan tipe segregasi yang diharapkan diuji dengan χ^2 untuk *goodness of fit* (kesesuaian).

1) Dua kelas

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^c \frac{(O_i - E_i - 0,5)^2}{E_i}$$

2) Lebih dari dua kelas

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^c \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Keterangan:

O_j = jumlah pengamatan dalam kelas/kelompok ke-i

E_j = jumlah pengamatan yang diharapkan dalam kelas/kelompok ke-i

$j = 1, 2, 3, \dots c$

Estimasi jumlah gen yang mengendalikan karakter yang memiliki nisbah kesesuaian antara nilai pengamatan dan harapan, dianggap sebagai jumlah gen yang mengendalikan karakter yang diamati.

Andaikan gen pengendali bersifat sederhana maka populasi F_2 akan dicocokkan terhadap beberapa nisbah, tergantung dari bentuk grafik yang diperoleh (Snyder dan David, 1957; dikutip oleh Barmawi, 1998), sebagai berikut:

1. Jika grafik penyebaran populasi F_2 menunjukkan dua puncak, maka kemungkinan nisbah yang terjadi adalah 3:1 (1 gen dominan penuh), 9:7 (2 gen epistasis resesif duplikat), 13:3 (2 gen epistasis dominan resesif), 15:1 (2 gen epistasis dominan duplikat).
2. Jika grafik penyebaran populasi F_2 menunjukkan tiga puncak, maka kemungkinan nisbah yang terjadi adalah 1:2:1 (1 gen dominan tidak sempurna), 9:3:4 (2 gen epistasis resesif), 9:6:1 (2 gen dengan efek kumulatif), 12:3:1 (2 gen epistasis dominan).
3. Jika grafik penyebaran populasi F_2 menunjukkan lebih dari tiga puncak, maka kemungkinan nisbah fenotipe yang terjadi adalah 9:3:3:1 (2 gen dominan penuh), atau 6:3:3:4 (1 pasang gen dominan sempurna dan 1 pasang gen dominan sebagian); apabila salah satu pasang gen homozigos resesif, pasangan

gen yang satu akan epistasis terhadap gen lainnya, sedangkan bila kedua gen homozigos resesif, pasangan gen yang kedua epistasis terhadap pasangan gen yang pertama.

4. Grafik yang unimodal (menyebar normal) menunjukkan pewarisan poligenik

Hipotesis pertama (H_0) menduga bahwa pola segregasi karakter agronomi tanaman kedelai generasi F_2 hasil persilangan Wilis x B3570 sesuai dengan nisbah Mendel atau modifikasi nisbah Mendel; dengan demikian H_0 diterima bila $X^2_{hitung} < X^2_{tabel}$. Sebaliknya, H_0 ditolak jika $X^2_{hitung} > X^2_{tabel}$

3.3.3 Uji kemenjuluran grafik sebaran normal

Sebaran frekuensi karakter yang berdistribusi normal diuji kemenjulurannya untuk mengetahui bahwa sebaran frekuensi karakter tersebut berdistribusi normal dengan kurva setangkup. Sebaran frekuensi karakter dikatakan normal apabila nilai SK terletak antara -3 dan +3 (Walpole, 1997). Rumus hitung SK sebagai berikut:

$$SK = \frac{3(\bar{x} - \tilde{x})}{s}$$

Keterangan: SK= simpangan kemenjuluran; \bar{x} = nilai tengah; \tilde{x} = median; s = simpangan baku.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penentuan jumlah populasi

Menurut Baihaki (yang dikutip Barmawi, 1998) ada beberapa alasan dalam penentuan besarnya populasi F₂ minimum agar diperoleh minimal satu genotipe yang diinginkan dari populasi yang ditelaah dan menjamin segregasi yang diharapkan. Beberapa alasan tersebut apabila:

- a) Karakter yang diamati mahal dan pengamatannya membutuhkan waktu lama.
- b) Dugaan kontrol genetik dari karakter tersebut sederhana dan jumlah gen yang mengendalikannya dua gen.

Rumus yang digunakan untuk penentuan jumlah populasi F₂ minimum adalah rumus Burnham yang dikutip oleh Barmawi (1998) sebagai berikut:

$$n = \frac{\text{Log } F}{\text{Log } q}$$

Keterangan :

n : jumlah tanaman yang dibutuhkan

F : $\alpha = 0,01$

q : peluang kegagalan memperoleh genotipe yang diinginkan (genotipe yang tidak diharapkan)

Adapun jumlah populasi F₂ minimum tanaman kedelai adalah

$$F = 0.01 ; q = 15/16$$

$$n = \log F / \log q = \log 0,01 / \log 15/16 = -2 / -0,0280$$

$$n = 71,4286 \text{ tanaman} \sim 80 \text{ tanaman.}$$

3.4.2 Persiapan tanam

Menurut Mahendra (2010), pengolahan tanah dilakukan dengan cara mencangkul lahan sedalam 30—50 cm sampai tanah remah, kemudian diratakan. Percobaan menggunakan tata letak tanpa ulangan. Benih kedelai ditanam pada petak percobaan berukuran 5 m x 5 m. Pada petak tersebut terdapat 6 baris tanaman, setiap baris terdapat 20 lubang tanam. Penanaman benih dilakukan secara tugal sedalam 3—5 cm dengan jarak tanam 60 cm x 20 cm. Setiap lubang berisi dua benih. Setelah benih ditanam diaplikasikan juga Furadan \pm 10—15 butir per tanaman untuk mencegah serangga yang akan merusak benih.

3.4.3 Pemeliharaan

Menurut Muchsi (2006), penyiraman rutin dilakukan setiap hari jika tidak ada hujan. Pupuk yang digunakan adalah Urea 50kg/ha, SP36 100 kg/ha, dan KCl 100 kg /ha. Pemberian pupuk dilakukan dengan cara membuat lubang \pm 10 cm. Untuk mencegah serangan hama dan patogen maka dilakukan penyemprotan dengan insektisida berbahan aktif Deltametrin dengan merk dagang Decis 2,5 EC, dan fungisida berbahan aktif Mankozep 80% setiap satu minggu sekali, atau disesuaikan dengan kondisi di lapangan.

Pemasangan patok dilakukan setelah benih ditanam dan pemasangan label tiap tanaman yang berisikan nama benih kedelai hasil persilangan sendiri F₁ antara Wilis x B3570 (F₂) dan tanggal penanaman dilakukan setelah benih kedelai

tumbuh menjadi tanaman normal. Pengendalian gulma dilakukan setiap satu minggu secara mekanis.

3.4.4 Pemanenan

Panen kedelai ditentukan berdasarkan umur tanaman dan kenampakan dari luar. Ciri-ciri umum tanaman kedelai sudah siap panen yaitu polong secara merata telah berwarna kuning kecokelatan, batang-batangnya sudah kering dan sebagian daun-daunnya sudah kering dan rontok. Pemanenan dilakukan dengan mencabut tanaman dan dikumpulkan berdasarkan populasinya. Setelah itu tanaman dijemur lalu dipisah polongnya. Kemudian polong kedelai dimasukkan ke dalam amplop yang terbuat dari kertas koran. Satu amplop untuk satu tanaman.

3.4.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada setiap tanaman. Peubah-peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah:

1. Tinggi tanaman (cm)

Diukur setelah panen, ketika pertumbuhan vegetatif sudah maksimal.

Pengukuran tinggi tanaman dimulai dari leher akar hingga titik tumbuh tanaman.

2. Umur tanaman berbunga pertama kali (hari)

Dihitung berdasarkan jumlah hari sejak tanam sampai tanaman mulai berbunga untuk yang pertama kali.

3. Umur panen (hari)

Dihitung berdasarkan jumlah hari sejak tanam sampai tanaman (polong) siap dipanen. Polong siap dipanen jika polong sudah kering berwarna coklat.

4. Jumlah cabang produktif per tanaman (buah)

Dihitung berdasarkan banyaknya cabang tanaman yang dapat menghasilkan polong.

5. Jumlah polong per tanaman (buah)

Dihitung berdasarkan jumlah seluruh polong yang dihasilkan pada setiap tanaman.

6. Bobot biji per tanaman (gram)

Ditimbang berdasarkan bobot biji per tanaman pada kadar air 12% yang dilakukan setelah pemanenan.

7. Bobot 100 biji (gram)

Diukur berdasarkan rata-rata bobot 100 butir pada kadar air 12% yang diambil secara acak.