

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Universitas Lampung pada bulan September 2013 sampai dengan Januari 2014. Perbanyakan virus dilakukan di Kampung Baru, Bandar Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, zeolit, air, Furadan 3 G, fungisida berbahan aktif *mancozeb* 80%, insektisida berbahan aktif *delhtametrin* 25 g/l, aquades, buffer fosfat, Urea 50 kg/ha, SP36 100 kg/ha, KCl 100 kg/ha, dan pupuk kandang 10 ton/ha. Benih yang digunakan yaitu 100 butir dari populasi F₂ genotipe nomor lima hasil persilangan Tanggamus x B₃₅₇₀, dan masing-masing 20 tanaman untuk tetua kedelai yang terdiri dari varietas Tanggamus dan galur B₃₅₇₀. Alat yang digunakan pada 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.

Tanggamus x B₃₅₇₀ merupakan hasil persilangan dengan metode dialel setengah yang dilakukan oleh Maimun Barmawi dengan menggunakan lima tetua yaitu Tanggamus, Taichung, Orba, B₅₃₇₀, dan Yellow Bean yang kemudian penelitian tersebut dilanjutkan oleh Putri (2013) dan Jamil (2013) untuk mengetahui tingkat ketahanan populasi F₁ terhadap infeksi *soybean mosaik virus*.

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis maka rancangan perlakuan yang digunakan yaitu rancangan perlakuan terstruktur bersarang dan rancangan percobaan tanpa ulangan.

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 = varians 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^2_g) dapat dihitung dengan rumus :

$$\sigma^2_g = \sigma^2_f - \sigma^2_e$$

Keterangan :

σ^2_p = ragam fenotipe

σ^2_e = ragam lingkungan

(Suharsono dkk., 2006)

Menurut Anderson dan Bancroft (1952) yang dikutip Wahdah (1996) keragaman fenotipe dikatakan luas apabila keragaman fenotipenya lebih besar dua kali dari standar deviasinya, sedangkan keragaman fenotipe dikatakan sempit apabila lebih kecil dua kali standar deviasinya.

Berdasarkan kriteria keragaman tersebut, digunakan rumus penghitungan

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

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

Keterangan:

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

X_i = nilai pengamatan ke -i

μ = nilai tengah populasi

N = jumlah yang diamati

Analisis korelasi dihitung menggunakan rumus :

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

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 menentukan ada atau tidaknya korelasi, dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$t = \frac{r_{XY} \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r_{XY}^2)}}$$

apabila $t_{hit} > t_{tabel}$ terdapat korelasi, pada $\alpha = 0,05$

Nilai tengah populasi

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Keterangan:

- NT = nilai tengah
- X_i = pengamatan tanaman ke i
- n = jumlah pengamatan

Pengamatan dilakukan pada tiap individu tanaman, karena benih yang digunakan merupakan benih F_2 yang masih mengalami segregasi (Baihaki, 2000).

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat

Pembuatan larutan buffer fosfat dilakukan dengan menyiapkan 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 2 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 buffer 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 dilarutkan 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 buffer fosfat diperoleh dengan cara mencampur 510 ml larutan A dan 490 ml larutan B, kemudian dimasukkan ke dalam botol dan ditutup rapat.

3.5.2 Perbanyakan Inokulum SMV

Perbanyakan inokulum menggunakan benih kedelai varietas Orba karena merupakan benih yang agak 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 5 g dengan menggunakan mortal dan alu yang diencerkan dengan buffer fosfat pH 7 sebanyak 5 ml. . Selama penggerusan daun, berbagai metabolit dan debris dari sel daun akan terlepas secara bersamaan dengan virus. Beberapa senyawa tersebut dapat merusak virion atau dapat menghambat keinfektifan virus. Oleh

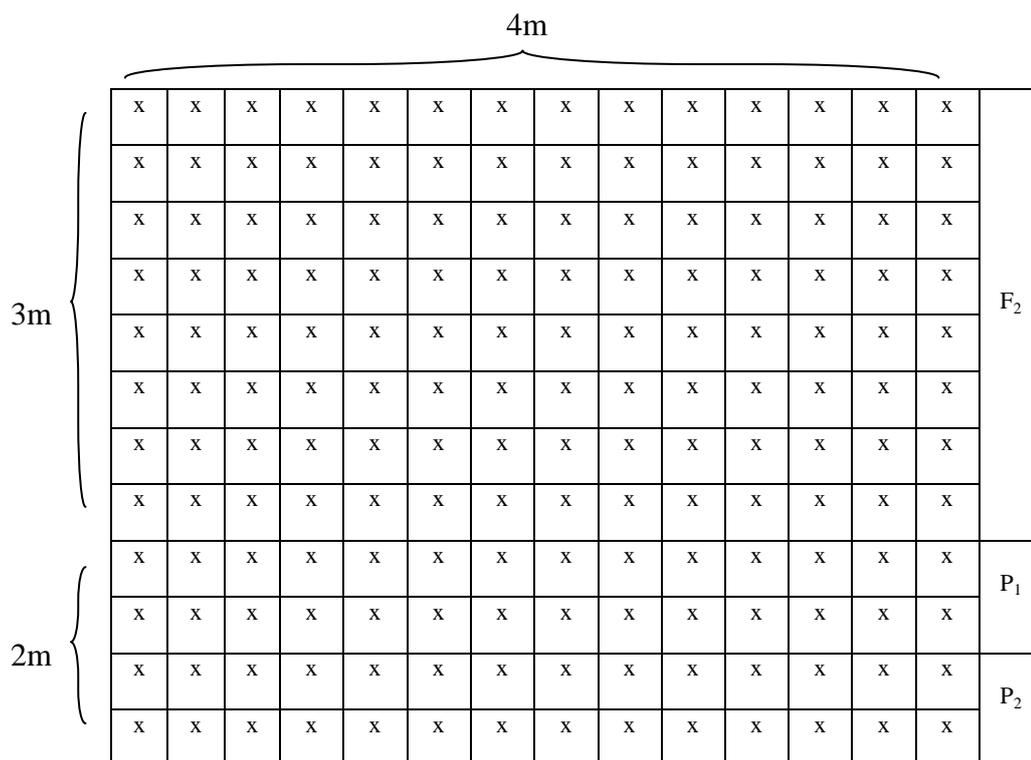
sebab itu penggunaan larutan buffer fosfat ini bertujuan untuk menjaga kestabilan virus dan keinfektifan virus tersebut. Inokulasi secara mekanik dilakukan sesuai dengan prosedur Akin (2006) yaitu setelah daun berjumlah lebih dari 4 helai atau berumur \square 10 hari. Selanjutnya, daun tanaman kedelaiditaburi zeolit agar terjadi luka mikro (*sublethal wounding or abrasi*). Langkah berikutnya sab dioleskan pada permukaan daun dan dilakukan pencucian dengan aquades yang disemprotkan menggunakan *hand sprayer*.

3.5.3 *Persiapan Lahan*

Persiapan lahan dilakukan dengan menggunakan cangkul 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_2 hasil persilangan Tanggamus x B₃₅₇₀ pada petak percobaan berukuran 3m x 4m. Tanaman tersebut ditanam dengan jarak tanam 20cm x 50cm. Jarak antarbaris 50 cm dan jarak tanaman dalam baris 20 cm. Pada setiap baris ditanam 15 benih yang sama dan tetua terdapat pada baris terluar.



Gambar 1. Tata letak penanaman benih kedelai hasil persilangan Tanggamus x B₃₅₇₀ dan kedua tetuanya

Keterangan : P₁ (tetua Tanggamus), P₂ (tetua galur B₃₅₇₀), dan F₂ (populasi F₂ persilangan Tanggamus x B₃₅₇₀).

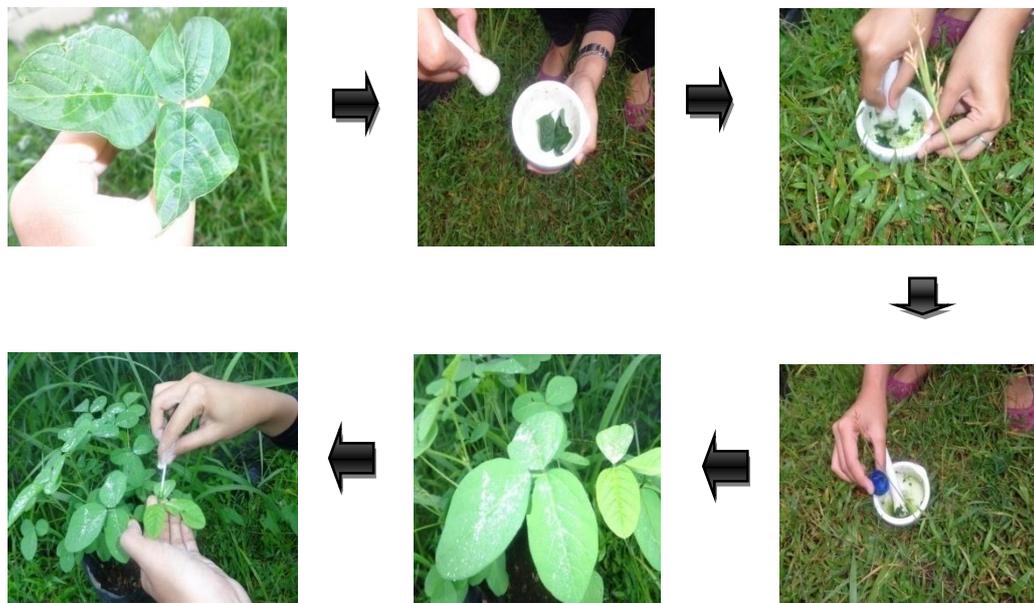
3.5.5 Pemupukan

Pemupukan Urea dilakukan dua kali yaitu pada awal tanam dan pada fase generatif sedangkan KCl dan SP-36 dilakukan pada awal tanam ketika tanaman berumur dua minggu setelah tanam. 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 yang mengandung SMV.

Pada daun sebelumnya telah ditaburi zeolit. Setelah daun dinokulasi, daun tersebut dicuci kembali dengan aquades secukupnya menggunakan *hand sprayer*.



Gambar 2. Tahap-tahap inokulasi *soybean mosaik virus* di lapangan.

3.5.7 Pelabelan

Masing-masing tanaman 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* dan fungisida yang digunakan yaitu *Dithane*. 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 yang dilakukan pada penelitian ini terdiri atas pengamatan sebelum panen dan pengamatan setelah panen. Pengamatan sebelum panen meliputi:

- a. Periode inkubasi, dihitung dari waktu inokulasi sampai dengan timbulnya gejala (Mulia, 2008).
- b. Keparahan penyakit, diamati minggu ke enam setelah tanam dan dilakukan pengamatan pada daun trifoliat sebanyak 10 daun pada batang utama. Hal ini dilakukan karena pada umur enam minggu setelah tanam, jumlah daun trifoliat yang ada pada batang utama 9--12 daun. Diharapkan 10 daun yang diamati telah mewakili seluruh daun trifoliat yang terinfeksi SMV dan pengamatan dilakukan pada setiap individu tanaman Mulia (2008).

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

Keterangan:

KP : Keparahan penyakit

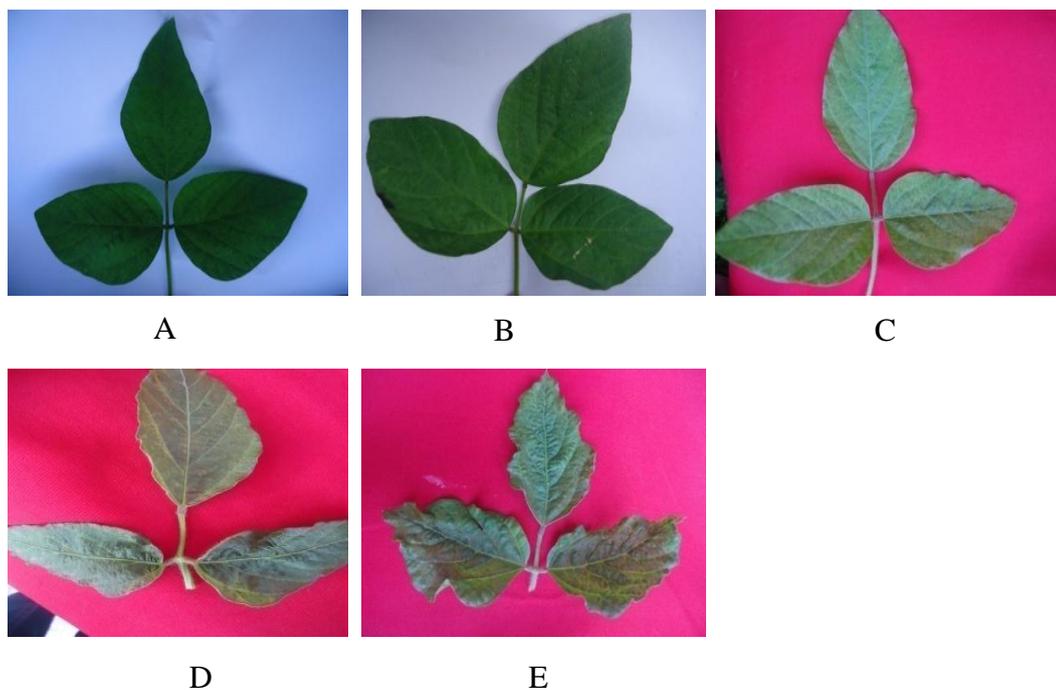
N : Jumlah sampel yang diamati

Z : Nilai skor tertinggi

n : Jumlah sampel untuk kategori serangan

v : Nilai skor untuk kategori serangan

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



Gambar 3. Skor gejala penyakit

Keterangan :

Tidak bergejala = 0 (A), klorosis dan tulang daun memucat = 1 (B), mosaik dengan klorosis pada tulang daun dan permukaan daun = 2 (C), mosaik berat, klorosis dan terjadi pembengkokan pada permukaan daun, daun melengkung ke bawah atau ke atas = 3 (D), dan malformasi daun = 4 (E).

Kategori ketahanan keparahan penyakit (%):

1 – 10	= Sangat tahan
11 – 25	= Tahan
26 – 35	= Agak tahan
36 – 50	= Agak rentan
51 – 75	= Rentan
76 – 100	= Sangat rentan (Akin, 2013 komunikasi pribadi).

Pengamatan yang dilakukan setelah panen meliputi:

- a. Tinggi tanaman, diukur dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman. Pengukuran dilakukan setelah panen.
- b. Jumlah cabang produktif, dihitung berdasarkan jumlah cabang yang dapat menghasilkan polong.
- c. Total jumlah polong, dihitung berdasarkan jumlah polong yang muncul pada setiap tanaman.
- d. Jumlah polong bernas, dihitung berdasarkan jumlah polong bernas per tanaman.
- e. Jumlah polong hampa, dihitung berdasarkan jumlah polong hampa per tanaman.
- f. Total jumlah biji, dihitung berdasarkan jumlah total biji per tanaman.
- g. Persentase biji sehat, $(\text{jumlah biji sehat}/\text{total biji}) \times 100\%$.
- h. Persentase biji sakit, $(\text{jumlah biji sakit}/\text{total biji}) \times 100\%$.
- i. Bobot 10 butir biji per tanaman, diamati setelah dikeringanginkan sekitar 3 minggu setelah panen (g) sampai bobot konstan.
- j. Bobot biji per tanaman, dengan cara menimbang biji setiap tanaman.
- k. Umur berbunga, dihitung sejak tanam sampai tanaman muncul bunga pertama.
- l. Umur panen, dihitung sejak tanam sampai tanaman siap untuk dipanen.