

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

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

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 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, SP36 100 kg/ha, KCl 100 kg/ha dan pupuk organik (kompos) 10 g/tanaman dan pupuk kandang 10 ton/ha. Benih yang digunakan yaitu 100 tanaman dari 1 populasi F₂ hasil persilangan Tanggamus x Taichung dan 20 tetua kedelai yang terdiri atas Varietas Tanggamus dan Taichung. Tanggamus dan Taichung merupakan hasil persilangan dengan metode dialel setengah yang dilakukan oleh Maimun Barmawi dengan menggunakan 5 tetua yaitu Tanggamus, Taichung, Orba, B5370, dan Yellow Bean yang kemudian penelitian tersebut dilanjutkan oleh Ria Putri dan Risa Jamil untuk melihat ketahanan terhadap infeksi SMV pada populasi F₁. 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

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis maka rancangan perlakuan yang digunakan yaitu rancangan perlakuan tunggal terstruktur bersarang. Dalam penelitian ini seluruh tanaman yang diuji diamati.

3.4 Analisis Data

Analisis ragam fenotipe (σ_f^2), ragam lingkungan (σ_e^2), dan ragam genetik (σ_g^2) berdasarkan rumus Suharsono dkk. (2006) :

$$\sigma_{f2}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \mu)^2}{N} \qquad \sigma_e^2 = \frac{n_1\sigma_{p1} + n_2\sigma_{p2}}{n_1 + n_2} \qquad \sigma_g^2 = \sigma_p^2 - \sigma_e^2$$

keterangan:

- σ_f^2 = varians fenotipe,
- X_i = nilai pengamatan tanaman ke -i,
- μ = nilai tengah populasi,
- N = jumlah tanaman yang diamati,
- σ_{p1} = simpangan baku tetua 1,
- σ_{p2} = simpangan baku tetua 2,
- $n_1 + n_2$ = jumlah tanaman tetua,
- σ_p^2 = ragam fenotipe, dan
- σ_e^2 = ragam lingkungan

Ragam fenotipe yang diamati pada populasi tetua sama dengan ragam lingkungan karena populasi tetua secara genetik adalah seragam sehingga ragam genotipenya

nol. Ragam lingkungan tetua sama dengan ragam lingkungan populasi keturunan jika tetua dan populasi keturunannya ditanam pada lingkungan yang sama.

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

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, dan N = jumlah tanaman yang diamati

Pendugaan heritabilitas dalam arti luas (H) dengan menggunakan rumus :

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

(Suharsono dkk., 2006)

Keterangan :

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

Kriteria nilai heritabilitas menurut Mendez-Natera *dkk.* (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 $H \leq 0,2$

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pada tiap individu tanaman, tidak menggunakan sampel, karena benih yang digunakan masih mengalami segregasi (Baihaki, 2000). Setiap tanaman memiliki ciri dan karakteristik yang berbeda dari tanaman lainnya. Hal ini juga dapat menjadi alasan pengamatan dilakukan pada tiap individu tanaman untuk melihat keragaman dari masing-masing tanaman.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan larutan bufer fosfat

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. 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. Pembuatan bufer fosfat dapat dilakukan dengan menimbang 1,36 g KH_2PO_4 dan 1,78 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. 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 Perbanyakan Inokulum SMV

Kegiatan pertama yang dilakukan untuk perbanyakan inokulum SMV yaitu pembuatan sap. Sap dibuat dengan cara menggerus daun kedelai yang telah

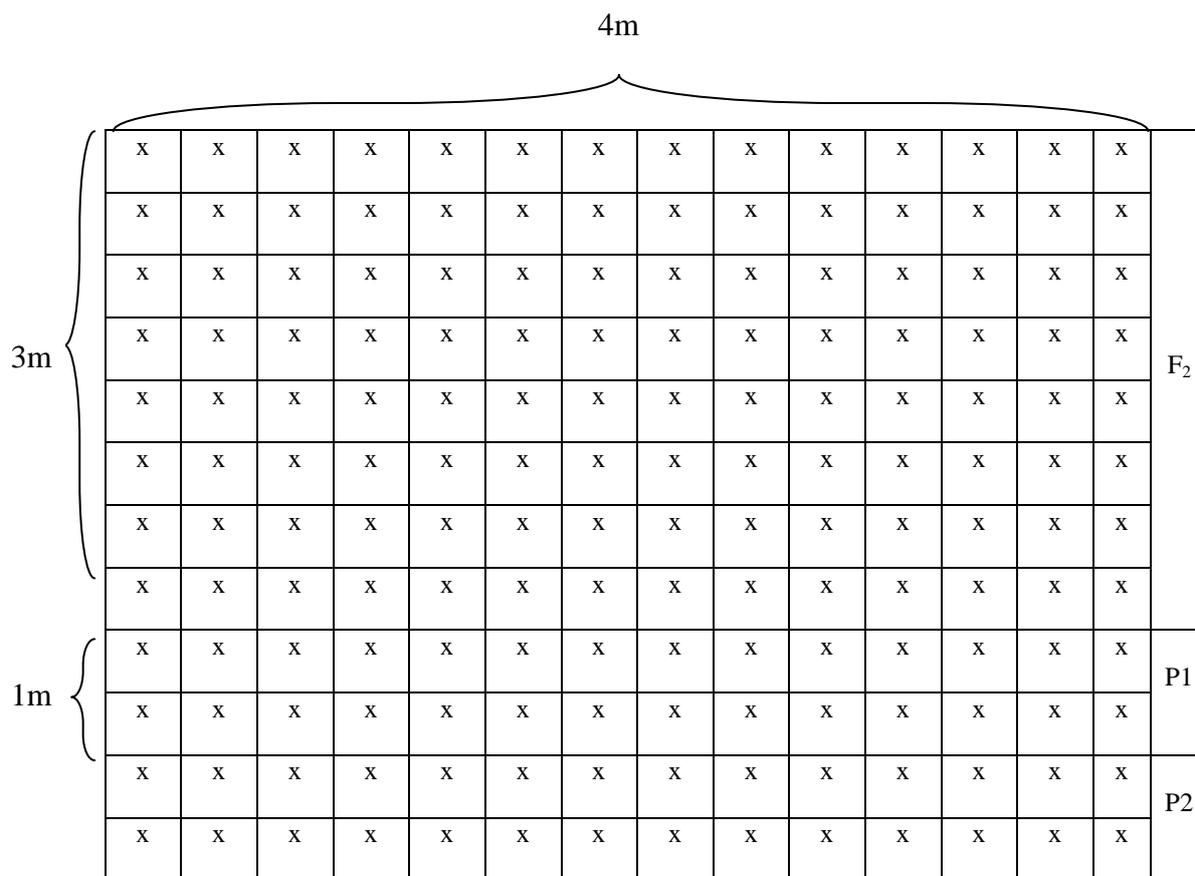
terinfeksi sebanyak 5g dengan menggunakan mortal dan alu yang diencerkan dengan buffer fosfat pH 7 sebanyak 5 ml. Inokulasi secara mekanik dilakukan sesuai dengan prosedur Akin (2006) setelah daun berjumlah lebih dari 4 helai atau berumur > 10 hari. Caranya yaitu dengan mengoleskan sap pada permukaan daun tanaman yang telah ditaburi zeolit. Setelah sap dioleskan, dilakukan pencucian menggunakan aquades dengan cara disemprot menggunakan *hand sprayer*. Benih kedelai yang digunakan untuk perbanyakan SMV yaitu benih varietas Orba karena merupakan benih yang rentan terhadap virus.

3.5.3 *Persiapan Lahan*

Lahan diolah 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 F₂ hasil persilangan Tanggamus x Taichung 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. Untuk benih tetua ditanam dengan ukuran petak 1m x 4m. Tata letak penanaman kedelai F₂ hasil persilangan Tanggamus x Taichung dapat dilihat pada Gambar 1.



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

Keterangan

P1 = Tetua Tanggamus,

P2 = Tetua Taichung, dan

F2 = Persilangan Tanggamus x Taichung

3.5.5 Pemupukan

Pemupukan dilakukan dua kali yaitu pada awal tanam dan pada fase generatif.

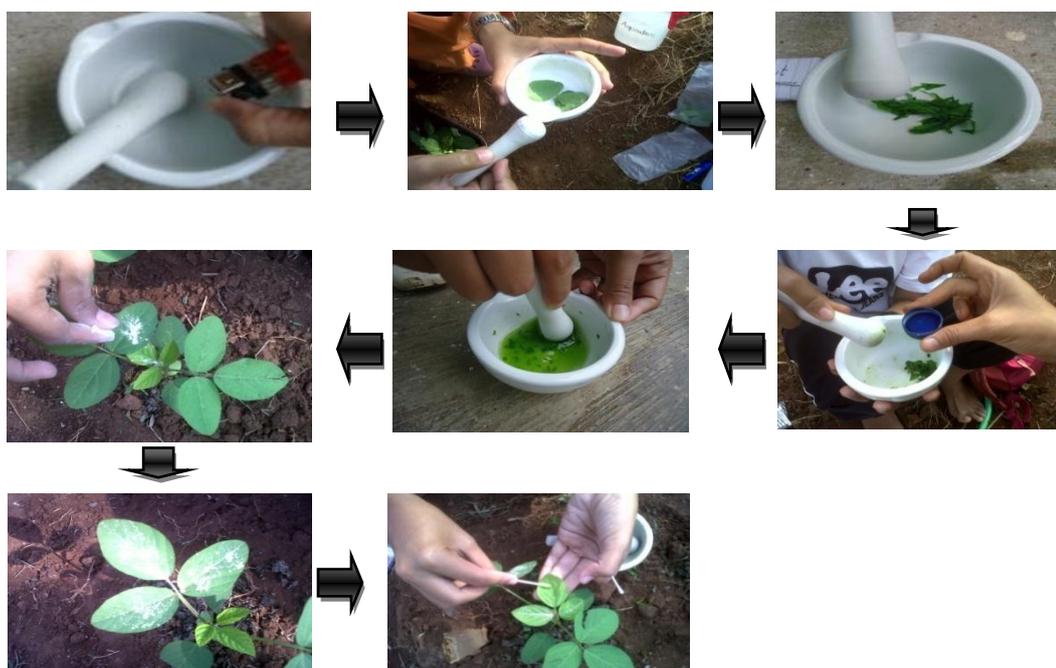
Pupuk yang diaplikasikan yaitu KCl 100 kg/ha, SP-36 100 kg/ha, dan Urea 50

kg/ha. Pupuk diaplikasikan dengan jarak 5 cm dari lubang tanam tanaman

kedelai.

3.5.6 Inokulasi SMV di Lapangan

Tanaman kedelai yang sudah memiliki daun terbuka sempurna (7 – 10 HST) dapat diinokulasi dengan sap SMV yang sebelumnya telah ditaburi zeolit.



Gambar 2. Tahap-tahap inokulasi *SMV* di lapangan. (1) Sterilkan mortar dan alu dengan cara menyemprotkan alkohol 70% lalu dibakar menggunakan korek api. (2-3) Satu lembar (± 5 g) daun tanaman yang terserang *SMV* (tanaman sakit) dipotong kecil- kecil. (4) Tambahkan larutan *buffer fosfat* ± 5 ml. (5) Campuran daun kedelai terinfeksi *SMV* dan larutan *buffer fosfat* dihaluskan dengan menggunakan mortar dan alu (sap). (6-7) Taburkan zeolit diatas daun tanaman sehat yang akan di inokulasi. (8) Dioleskan sap pada permukaan daun tanaman kedelai yang sehat dengan menggunakan *cotton but*.

3.5.7 Pelabelan

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

3.5.8 Perawatan dan Pemeliharaan Tanaman

Perawatan dan pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman, penyiangan gulma, penyulaman tanaman yang mati, dan pengendalian hama dan penyakit.

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

Tanaman kedelai yang siap panen memiliki cirri-ciri yaitu polong berwarna kuning kecoklatan secara merata dan matang. Tanaman kedelai secara utuh dicabut satu persatu kemudian di masukkan ke dalam 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 yaitu:

- a. Periode inkubasi. Periode inkubasi dihitung dari waktu inokulasi sampai dengan timbulnya gejala.
- b. Keparahan penyakit, diamati minggu ke enam setelah tanam dan dilakukan pada 10 daun tanaman uji.

Keparahan penyakit dihitung dengan rumus Campbell dan Madden (1990) yang dikutip Mulia (2008) :

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

Keterangan:

KP: Keparahan penyakit,

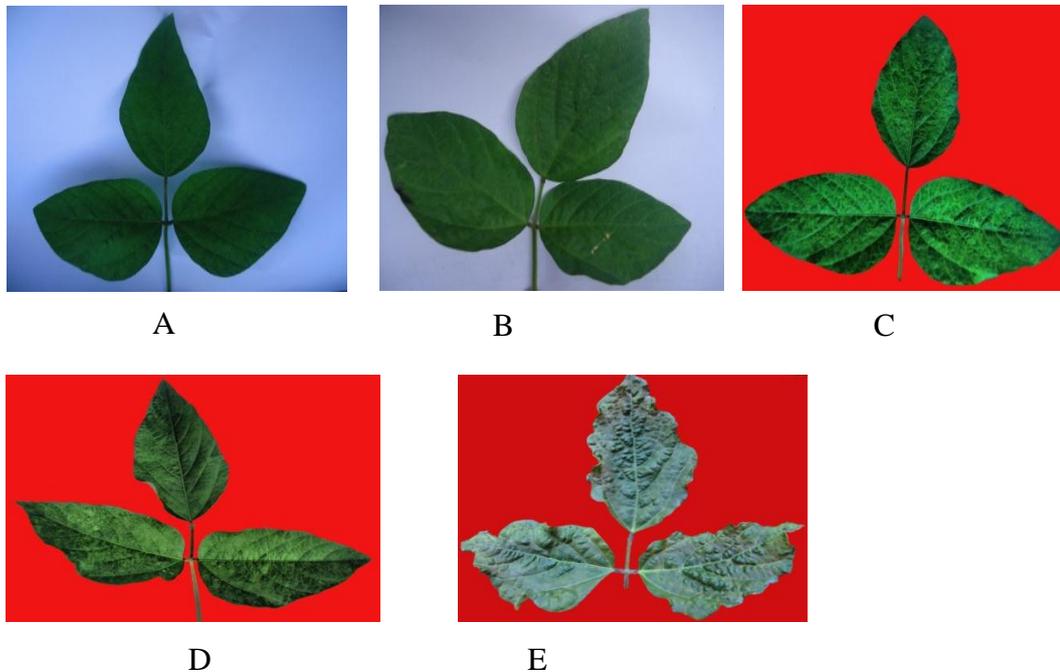
N : Jumlah sampel yang diamati,

Z : Nilai skor tertinggi

n : Jumlah sampel untuk kategori serangan, dan

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 .

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 (%) (Akin, 2014 komunikasi pribadi) :

0 – 10 = Sangat tahan,

11 – 25 = Tahan,

26 – 35 = Agak tahan,

36– 50 = Agak rentan,

51 – 75= Rentan, dan

76-100 = Sangat rentan

Pengamatan yang dilakukan setelah panen meliputi:

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

Pengukuran dilakukan setelah panen;

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

c. Total jumlah polong, dihitung berdasarkan jumlah polong per tanaman;

d. Jumlah polong bernas, dihitung berdasarkan jumlah polong bernas per tanaman;

e. Persentase jumlah polong bernas, $(\text{jumlah polong bernas} : \text{jumlah polong}) \times 100\%$

f. Jumlah polong hampa, dihitung berdasarkan jumlah polong hampa per tanaman;

g. Total jumlah biji, dihitung berdasarkan jumlah total biji per tanaman;

h. Jumlah biji sehat, dihitung berdasarkan jumlah biji sehat per tanaman;

i. Persentase jumlah biji sehat, $(\text{jumlah polong bernas} : \text{jumlah biji sehat}) \times 100\%$

j. Jumlah biji sakit, dihitung berdasarkan jumlah biji sakit pertanaman;

- k. Bobot 10 butir biji sehat, diamati setelah dikeringanginkan sekitar 3 minggu setelah panen (g);
- l. Bobot biji, dengan cara menimbang biji per tanaman;
- m. Bobot biji sehat, dengan cara menimbang biji sehat per tanaman
- n. Persentase bobot biji sehat, $(\text{bobot biji sehat}:\text{bobot biji total}) \times 100\%$
- o. Bobot biji sakit, dengan cara menimbang biji sakit per tanaman, dan
- p. Umur panen, dihitung sejak tanam sampai tanaman siap untuk dipanen.