

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan Oktober 2012 sampai dengan bulan Februari 2013. Penanaman dilakukan di Laboratorium Lapang Terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Pengamatan kemudian dilanjutkan di Laboratorium Benih dan Pemuliaan Tanaman Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah benih kedelai yang terdiri atas benih tetua Wilis, B3570, dan benih F_3 persilangan antara kultivar Wilis dan B3570. Pada penelitian ini, telah ditanam 380 benih kedelai yang terdiri atas benih populasi F_3 Wilis x B3570 sebanyak 300 benih, tetua wilis sebanyak 40 benih, dan tetua B3570 sebanyak 40 benih. Benih-benih kedelai yang digunakan merupakan benih kedelai hasil pemuliaan Dr. Ir. Maimun Barmawi, M.S.

Bahan lain yang digunakan adalah Furadan 3G berbahan aktif *karbofuran*, fungisida berbahan aktif *Mancozeb* 80%, insektisida berbahan aktif *delhtametrin* $25g^{-1}$. Pupuk Urea 50 kg ha^{-1} , SP36 100 kg ha^{-1} , KCl 100 kg ha^{-1} , dan pupuk kompos.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sabit, cangkul, koret, meteran, gunting, tali rafia, patok, tugal, gembor, selang air, bambu, kantung panen, plastik, golok, paranet, mistar, *knapsack sprayer*, dan alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menanam benih kedelai pada petak percobaan dengan ukuran 9 m x 4 m. Pada petak tersebut terdapat 15 baris tanaman, setiap baris terdapat 20 lubang tanam. Tata letak penanaman kedelai F_3 hasil persilangan kultivar Wilis x B3570 dan tetuanya dapat dilihat pada (Gambar 1).

Penelitian dilakukan dengan rancangan tanpa ulangan karena benih yang digunakan adalah benih F_3 yang masih bersegregasi dan masih memiliki persentase heterozigot (25%) dan homozigot (75%) secara genetik (Baihaki, 2000). Pada penelitian ini yang ditanam merupakan benih F_3 hasil persilangan antara Wilis x B3570 yang berasal dari nomor harapan yang tertinggi yaitu berasal dari 1 tanaman dengan nomor genotipe 142. Genotipe nomor 142 ini memiliki bobot biji per tanaman yang paling tinggi yaitu sebesar 75,52 gram dan memiliki jumlah polong paling banyak yaitu sebanyak 322 polong.

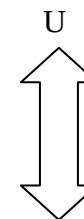
Untuk menjawab pertanyaan dalam rumusan masalah dan menguji hipotesis, maka disusun metode penelitian dengan rancangan tanpa ulangan dengan analisis segregasi karakter agronomi, uji signifikansi untuk berbagai nisbah teoritis, dan uji kemenjuluran grafik sebaran normal.

3.3.1 *Analisis segregasi karakter agronomi tanaman kedelai*

Karakter agronomi setiap tanaman dari populasi F_3 dikelompokkan ke dalam fenotipe/kelas tertentu dan jumlahnya dihitung. Uji yang digunakan dalam analisis segregasi kesesuaian distribusi normal karakter agronomi tanaman kedelai dari populasi F_3 yaitu uji khi-kuadrat (χ^2).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	14	16	17	18	19	20
40	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21
41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
80	79	78	77	76	75	74	73	72	71	70	69	68	67	66	65	64	63	62	61
81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
120	119	118	117	116	115	114	113	112	111	110	109	108	107	106	105	104	103	102	101
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
160	159	158	157	156	155	154	153	152	151	150	149	148	147	146	145	144	143	142	141
161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
200	199	198	197	196	195	194	193	192	191	190	189	188	187	186	185	184	183	182	181
201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220
240	239	238	237	236	235	234	233	232	231	230	229	228	227	226	225	224	223	222	221
241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260
280	279	278	277	276	275	274	273	272	271	270	269	268	267	266	265	264	263	262	261
281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300

Gambar 1. Tata letak penanaman benih famili F_3 kedelai persilangan kultivar Wilis x B3570



Uji khi-kuadrat digunakan untuk menguji kesesuaian antara nilai pengamatan dan nilai harapan (Gomez dan Gomez, 1984) yang dinyatakan 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).

Pembagian kelas yang terdapat nilai frekuensinya nol maka harus merubah jumlah kelasnya dengan memperkecil atau mengurangi jumlah kelas. 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

p = banyaknya kelas

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

- a. 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

- b. 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

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

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

4. Rumus χ^2 -hitung sebagai berikut:

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

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

$$X_{hitung}^2 > X_{tabel}^2 \quad \text{dan hipotesis diterima apabila} \quad X_{hitung}^2 < X_{tabel}^2.$$

Hipotesis pertama (H_0) menduga bahwa uji kesesuaian distribusi normal karakter agronomi tanaman kedelai generasi F_3 hasil persilangan Wilis x B3570 berdistribusi normal sesuai dengan nisbah mendel atau modifikasinya.

3.3.2 Uji signifikansi untuk berbagai nisbah teoretis generasi F_3

Kesesuaian pola segregasi dari masing-masing karakter dengan tipe segregasi yang diharapkan diuji dengan χ^2 untuk *goodness of fit*.

a. Dua kelas

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^c \frac{(O_j - E_j)^2}{E_j}$$

b. Lebih dari dua kelas

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^c \frac{(O_j - E_j)^2}{E_j}$$

Keterangan:

O_j = nilai pengamatan dalam kelas ke-j

E_j = nilai harapan dalam kelas ke-j

j = 1, 2, 3, ... c

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

Misalkan gen pengendali bersifat sederhana, maka populasi F_3 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_3 menunjukkan dua puncak, kemungkinan nisbah yang terjadi adalah 3:1 (satu gen dominan penuh), 9:7 (dua gen epistatis resesif duplikat), 13:3 (dua gen epistasis dominan resesif), atau 15:1 (dua gen dominan duplikat).
2. Jika grafik penyebaran populasi F_3 menunjukkan tiga puncak, kemungkinan nisbah yang terjadi adalah 1:2:1 (satu gen dominan tidak sempurna), 9:3:4 (dua gen epistasis resesif), 9:6:1 (dua gen duplikat dengan efek kumulatif) dan 12:3:1 (dua gen epistasis dominan).
3. Jika grafik penyebaran populasi F_3 menunjukkan lebih dari tiga puncak, kemungkinan nisbah yang terjadi adalah 9:3:3:1 (dua gen dominan penuh) atau 6:3:3:4 (satu pasang gen dominan sempurna dan satu 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. Jika grafik penyebaran populasi F_3 menunjukkan satu puncak dan distribusinya menyebar normal, karena itu karakter ditelaah dikendalikan oleh banyak gen. Uji normalitas menggunakan uji Khi-kuadrat (Gomez dan Gomez, 1984).

Hipotesis pertama (H_0) menduga bahwa uji kesesuaian distribusi normal karakter agronomi tanaman kedelai generasi F_3 hasil persilangan Wilis x B3570

berdistribusi normal; dengan demikian H_0 diterima bila $X^2_{hitung} < X^2_{tabel}$.

Sebaliknya, H_0 ditolak jika $X^2_{hitung} > X^2_{tabel}$.

3.3.3. Uji kemenjuluran grafik sebaran normal

Sebaran frekuensi karakter yang berdistribusi normal dilakukan uji kemenjuluran untuk mengetahui bahwa sebaran frekuensi tersebut benar berdistribusi normal.

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

3.3.1 Persiapan Tanam Kedelai

Pengolahan tanah dilakukan dengan mencangkul tanah sedalam ± 20 -30 cm sampai tanah menjadi remah/gembur kemudian diratakan. Percobaan menggunakan tata letak tanpa ulangan. Lahan penelitian/petak percobaan dibuat dengan ukuran 9 m x 4 m. Pada petak percobaan tersebut terdapat 15 baris tanaman dengan 20 lubang tanam pada setiap barisnya.

Penanaman benih kedelai dilakukan dengan cara ditugal dengan kedalaman 3–5 cm dan setiap lubang tanam berisi 1 butir benih. Penanaman dilakukan dengan jarak tanam 60 cm x 20 cm. Pada lubang tanam dimasukkan Furadan 3G berbahan aktif karbofuran dengan dosis 1 g tanaman⁻¹ agar benih yang ditanam tidak rusak oleh serangga atau hewan lain. Pada penelitian ini, telah ditanam 380 benih kedelai yang terdiri atas benih populasi F₃ Wilis x B3570 sebanyak 300 benih, tetua wilis sebanyak 40 benih, dan tetua B3570 sebanyak 40 benih. Jumlah benih populasi F₃ didapatkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\begin{aligned}
 n &= -2,3 \log F (T^{-1/2}) \\
 &= -2,3 \log (0,01) (64^{-1/2}) \\
 &= 4,6 (63,5) \\
 &= 292 \rightarrow 300 \text{ benih}
 \end{aligned}$$

(Baihaki, 2000)

3.4.2 *Pemeliharaan Tanaman*

Kegiatan pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman, penyiangan gulma, pemupukan, pengendalian hama penyakit, memperbaiki patok dan paranet yang rusak dan mengganti label yang rusak. Penyiraman dilakukan setiap hari secara rutin jika tidak turun hujan, sedangkan penyiangan gulma dilakukan setiap 1 minggu secara mekanis dengan menggunakan koret. Kegiatan pemupukan menggunakan pupuk organik, Urea, KCl dan SP36. Pemupukan dengan Urea dilakukan 2 kali yaitu 2 minggu setelah tanam serta menuju pembungaan dan menuju pengisian polong. Pupuk KCl dan SP36 diberikan 1 kali yaitu 2 minggu setelah tanam. Pemupukan dengan pupuk organik dilakukan saat tanam dengan cara dimasukkan ke lubang tanam ± 10 g lubang tanam⁻¹.

Pengendalian hama dan penyakit tanaman dilakukan dengan menggunakan fungisida berbahan aktif *Mancozeb* 80%, insektisida berbahan aktif *Delhtametrin*. Penyemprotan insektisida dan fungisida dilakukan setiap minggu untuk melindungi tanaman dari serangan hama dan penyakit yang dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pemasangan patok dilakukan setelah benih ditanam dan pemasangan label pada tiap tanaman dilakukan setelah benih kedelai tumbuh menjadi tanaman normal.

3.4.3 Pemanenan

Panen dilakukan dengan mencabut tanaman dan dikumpulkan berdasarkan populasinya kemudian tanaman dijemur lalu dipisahkan dari polongnya. Setelah itu, kedelai dimasukkan ke dalam kantung/amplop yang berbeda untuk setiap tanaman dan menuliskan label pada katung panen yang berisi nomor tanaman, dan tanggal panen.

3.4.4 Peubah yang diamati

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

1. tinggi tanaman (cm)
tinggi tanaman diukur setelah tanaman di cabut (dipanen).
2. umur tanaman berbunga pertama kali (hari)
umur tanaman berbunga dihitung berdasarkan jumlah hari sejak tanam sampai tanaman berbunga untuk yang pertama kali.

3. umur panen (hari)

umur panen dihitung berdasarkan jumlah hari sejak tanam sampai tanaman siap panen.

4. jumlah cabang produktif (buah)

jumlah cabang produktif dihitung berdasarkan banyaknya cabang tanaman yang dapat menghasilkan polong.

5. jumlah polong per tanaman (buah)

jumlah polong per tanaman dihitung berdasarkan jumlah polong yang muncul pada setiap tanaman.

6. bobot 100 biji (gram)

dihitung berdasarkan rata-rata bobot 100 biji kering yang konstan dan diambil secara acak.

7. bobot biji per tanaman (gram)

dihitung berdasarkan bobot biji per tanaman yang dilakukan setelah panen.