

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai merupakan bahan makanan penting karena dapat dikonsumsi secara langsung maupun digunakan sebagai bahan baku agroindustri, namun untuk memenuhi tingginya kebutuhan kedelai masih tergantung impor karena produksi nasional masih sangat rendah (Hartini, 2008).

Tingginya impor terhadap kedelai ini merupakan salah satu bukti bahwa kebutuhan gizi (protein) terhadap kedelai semakin meningkat. Kebutuhan atas protein ini akan semakin meningkat seiring peningkatan jumlah penduduk dan pendapatan, sedang dipihak lain penyediaan sumber protein di Indonesia masih belum mencukupi dan kedelai merupakan salah satu bahan makanan yang mempunyai potensi sebagai sumber utama protein (Purnamasari, 2006). Kedelai juga merupakan bahan baku industri yang penting terutama industri makanan ternak (Puslitbang Tanaman Pangan, 2005). Selain kandungan protein yang tinggi, kedelai juga mengandung karbohidrat dan minyak yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Karbohidrat sangat penting untuk tubuh manusia, karena merupakan senyawa pembentuk energi tubuh. Asam lemak dalam minyak kedelai sebagian besar terdiri dari asam lemak esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh. Hampir 90% dari produksi minyak kedelai digunakan di bidang pangan dan dalam bentuk telah dihidrogenasi, karena minyak kedelai mengandung lebih kurang 85 persen asam lemak tidak jenuh (Firmanjaya, 2008).

Beberapa faktor yang menyebabkan meningkatnya kebutuhan kedelai adalah konsumsi yang terus meningkat mengikuti pertambahan jumlah penduduk, meningkatnya pendapatan per kapita, meningkatnya kesadaran masyarakat akan kecukupan gizi, dan berkembangnya berbagai industri yang menggunakan bahan baku kedelai. Impor kedelai merupakan jalan pintas untuk memasok kekurangan dalam negeri, karena dalam beberapa hal harganya lebih rendah dan kualitasnya lebih baik. Sesuai kesepakatan dengan IMF, sejak tahun 1998-2003 pemerintah membebaskan bea masuk kedelai (BM nol persen) dan pada tahun 2004 tarif tersebut ditingkatkan menjadi 10% (Deptan, 2005). Tarif ini masih tergolong rendah sehingga relatif merugikan petani, karena harga komoditi cenderung

melemah, namun di sisi lain diharapkan juga bisa memacu petani untuk mengusahakan pertanaman kedelai secara efisien dan menerapkan teknologi tepat guna.

Sejak tahun 2000, impor kedelai meningkat secara drastis seiring dengan signifikansinya penurunan produksi pada tahun tersebut. Impor selama periode 2000-2003 meningkat dengan laju 14.03% per tahun, disamping itu volume impor yang meningkat ini disebabkan pula oleh rendahnya tingkat efisiensi di dalam negeri, sementara subsidi ekspor di negara eksportir tetap tinggi (Puslitbang Tanaman Pangan, 2005).

Untuk memenuhi kebutuhan tersebut perlu dilakukan upaya peningkatan produksi. Peningkatan produksi dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, antara lain melalui usaha pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan merakit kultivar baru, dan keragaman merupakan modal dasar untuk merakit kultivar baru. Salah satu upaya peningkatan keragaman yaitu dengan induksi mutasi. Mutasi dapat disebabkan oleh beberapa agen mutagenik seperti radiasi, non radiasi maupun kimia. Sumber iradiasi yang sering digunakan adalah sinar X, sinar gamma, ultra-violet, sinar beta dari radioisotop dan sinar neutron dari reaktor atom (Purnamasari, 2006). Kegiatan mutasi yang dilakukan diharapkan menghasilkan kedelai yang unggul serta mampu berproduksi maksimal.

Kedelai hasil mutasi tersebut perlu dilakukan seleksi untuk mendapatkan varietas kedelai yang diinginkan yakni protein, karbohidrat dan minyaknya juga tinggi serta mampu berproduksi maksimal. Seleksi merupakan bagian penting dari program pemuliaan tanaman untuk memperbesar peluang mendapatkan genotipe yang unggul. Hal ini juga berlaku untuk pemuliaan tanaman kedelai. Pengujian perlu dilakukan sebanyak mungkin pada galur-galur kedelai terpilih, sehingga didapatkan galur-galur kedelai yang berdaya hasil tinggi (Pinaría *et al.*, 1995). Keberhasilan upaya tersebut sangat ditunjang oleh kemampuan pemulia untuk memisahkan genotipe-genotipe yang memiliki sifat-sifat unggul dalam tahapan seleksi (Zen, 1995). Lebih lanjut dikatakan oleh Zen (1995) bahwa seleksi berdasarkan data analisis kuantitatif yang berpedoman pada nilai keragaman

genotipik, keragaman fenotipik, heritabilitas, korelasi genotipik dan korelasi fenotipik.

Agar kegiatan seleksi yang didasarkan pada wujud luar atau fenotipe dari tanaman dapat berlangsung, maka perlu diperhatikan korelasi genotipik dan fenotipik antar karakter tanaman, lingkungan yang sesuai untuk seleksi karakter yang diinginkan, keragaman genetik maupun cara seleksinya apakah secara langsung atau tidak. Dengan demikian korelasi antar karakter mutan kedelai perlu diketahui sebagai bahan seleksi kedelai selanjutnya.

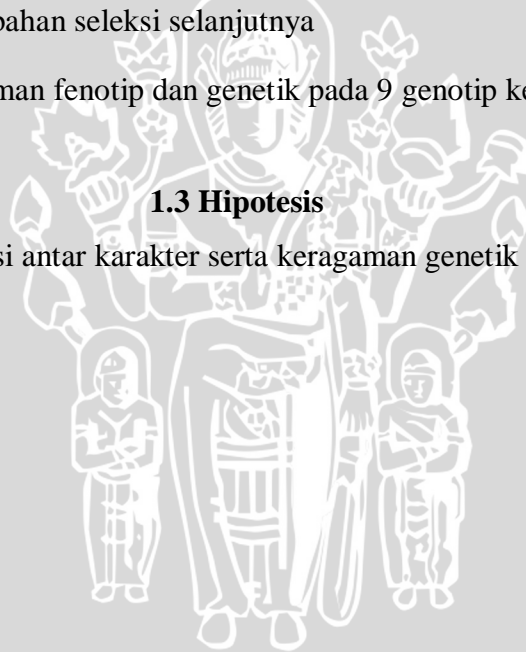
1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian adalah :

1. Mengetahui korelasi antar karakter pada 9 genotip kedelai sehingga dapat digunakan sebagai bahan seleksi selanjutnya
2. Mengetahui keragaman fenotip dan genetik pada 9 genotip kedelai

1.3 Hipotesis

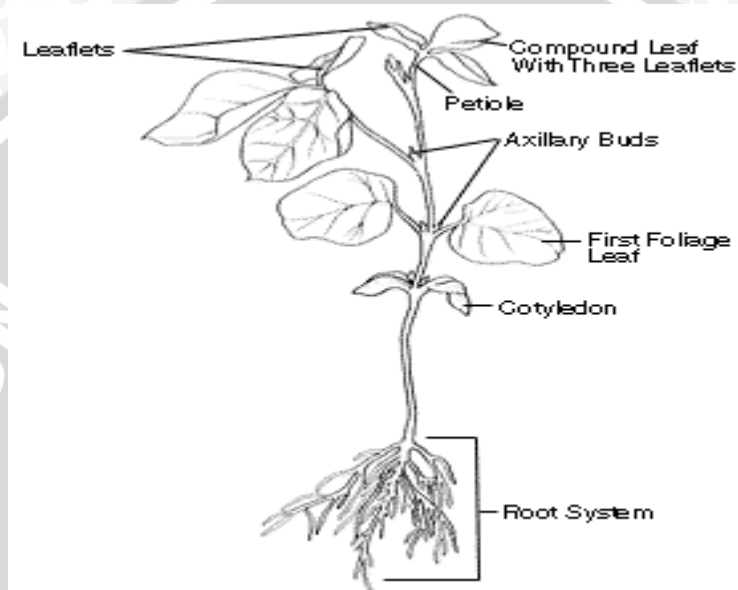
Terdapat korelasi antar karakter serta keragaman genetik dan fenotip pada 9 galur mutan kedelai.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)

Pada awalnya, kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *Soja max*. Namun pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah, yaitu *Glycine max* (L.) Merrill.



Gambar 1. Morfologi tanaman kedelai

Tanaman kedelai umumnya tumbuh tegak, berbentuk semak, dan merupakan tanaman semusim. Morfologi tanaman kedelai didukung oleh komponen utamanya, yaitu akar, daun, batang, polong, dan biji (Anonymous, 2010). Kedelai berakar tunggang. Pada tanah gembur akar kedelai dapat sampai kedalaman 150 cm, tetapi sebagian besar akar berada pada kedalaman 30-60 cm (Purseglove, 1968). Pada akarnya terdapat bintil-bintil akar, berupa koloni dari bakteri *Rhizobium japonicum*. Bakteri *Rhizobium* dapat mengikat nitrogen dari udara yang kemudian dapat digunakan untuk pertumbuhan kedelai (Suprpto, 2001).

Pertumbuhan batang kedelai dibedakan menjadi dua tipe, yaitu tipe determinate dan indeterminate. Perbedaan sistem pertumbuhan batang ini didasarkan atas keberadaan bunga pada pucuk batang. Pertumbuhan batang tipe determinate ditunjukkan dengan batang yang tidak tumbuh lagi pada saat tanaman

mulai berbunga. Sementara pertumbuhan batang tipe indeterminate dicirikan bila pucuk batang tanaman masih bisa tumbuh daun, walaupun tanaman sudah mulai berbunga. Disamping itu, ada varietas hasil persilangan yang mempunyai tipe batang mirip keduanya sehingga dikategorikan sebagai semi-determinate atau semi indeterminate (Irwan, 2006).

Tanaman kedelai mempunyai dua bentuk daun yang dominan, yaitu stadia kotiledon yang tumbuh saat tanaman masih berbentuk kecambah dengan dua helai daun tunggal dan daun bertangkai tiga (*trifoliolate leaves*) yang tumbuh selepas masa pertumbuhan, tetapi kadang daun dapat bertangkai empat atau lima (*4 foliolate* atau *5 foliolate*). Umumnya, bentuk daun kedelai ada dua, yaitu bulat (*oval*) dan lancip (*lanceolate*) (Hinson dan Hartwig, 1977; Irwan, 2006). Daun kedelai memiliki petiole yang panjang, sempit, dan berbentuk silinder. Pada umumnya daun berwarna hijau pucat (Purseglove, 1968).

Bunga kedelai tumbuh berkelompok pada ruas-ruas batang, berukuran kecil, berwarna putih dan ungu. Bunganya mekar dari bagian bawah batang ke bagian atas tanaman. Bunga kedelai termasuk bunga sempurna, artinya dalam setiap bunga terdapat alat kelamin jantan dan betina (Suprpto, 2001). Bunga kedelai memiliki kelopak berbentuk pipa, lima bagian mahkota, sepuluh benang sari, dan satu ovarium dengan dua sampai lima ovul (Hinson dan Hartwig, 1977).

Polong kedelai mempunyai bulu, berwarna kuning kecokelatan atau abu-abu. Polong yang sudah masak berwarna lebih tua, warna hijau berubah menjadi kehitaman, keputihan atau kecokelatan (Suprpto, 2001). Di dalam polong terdapat biji yang berjumlah 2-3 biji. Setiap biji kedelai mempunyai ukuran bervariasi, mulai dari kecil (sekitar 7-9 g/100 biji), sedang (10-13 g/100 biji), dan besar (>13 g/100 biji). Bentuk biji bervariasi, tergantung pada varietas tanaman, yaitu bulat, agak gepeng, dan bulat telur. Namun demikian, sebagian besar biji berbentuk bulat telur. Biji kedelai terbagi menjadi dua bagian utama, yaitu kulit biji dan janin (*embrio*). Pada kulit biji terdapat bagian yang disebut pusar (*hilum*) yang berwarna coklat, hitam, atau putih. Pada ujung hilum terdapat mikrofil, berupa lubang kecil yang terbentuk pada saat proses pembentukan biji. Warna kulit biji bervariasi, mulai dari kuning, hijau, coklat, hitam, atau kombinasi campuran dari warna-warna tersebut. Biji kedelai tidak mengalami masa dormansi

sehingga setelah proses pembijian selesai, biji kedelai dapat langsung ditanam. Namun demikian, biji tersebut harus mempunyai kadar air berkisar 12-13% .

2.2 Korelasi Genotip dan Fenotip

Korelasi dapat diartikan sebagai keeratan hubungan antara 2 variabel yang saling bebas dan merupakan salah satu bagian dari komponen seleksi. Beberapa parameter genetik yang dapat digunakan sebagai pertimbangan agar seleksi efektif dan efisien adalah keragaman genetik, heritabilitas, korelasi dan pengaruh dari karakter-karakter yang erat hubungannya dengan hasil (Borojevic, 1990).

Adanya keragaman genetik, yang berarti terdapat perbedaan nilai antar individu genotip dalam populasi merupakan syarat keberhasilan seleksi terhadap karakter yang diinginkan. Fehr (1987) menyebutkan bahwa heritabilitas adalah salah satu alat ukur dalam sistem seleksi yang efisien yang dapat menggambarkan efektivitas seleksi genotipe berdasarkan penampilan fenotipenya. Sedangkan korelasi antar karakter fenotipe diperlukan dalam seleksi tanaman, untuk mengetahui karakter yang dapat dijadikan petunjuk seleksi terhadap produktivitas yang tinggi (Suharsono dan Wirnas, 2006).

Korelasi dua atau lebih antar sifat positif yang dimiliki akan memudahkan seleksi karena akan diikuti oleh peningkatan sifat yang satu diikuti dengan yang lainnya, sehingga dapat ditentukan satu sifat atau indek seleksi (Eckebil *et al.*, 1977). Sebaliknya bila korelasi negatif, maka sulit untuk memperoleh sifat yang diharapkan. Bila tidak ada korelasi di antara sifat yang diharapkan, maka seleksi menjadi tidak efektif (Poespodarsono, 1999).

Menurut Soemartono, Nasrullah dan Hartiko (1992), suatu karakter dapat digunakan sebagai kriteria seleksi apabila memenuhi persyaratan, (1) terdapat hubungan yang nyata antara karakter tersebut dengan karakter yang dituju; dan (2) karakter tersebut memiliki heritabilitas yang cukup tinggi sehingga dapat diwariskan kepada keturunannya. Hubungan yang nyata antar karakter agronomi dan karakter komponen hasil tanaman kedelai dapat diketahui dengan menggunakan analisis korelasi. Menurut Solimun (2001) besarnya keeratan hubungan antar karakter tersebut dapat diketahui dengan menghitung koefisien korelasi yang besarnya berkisar antara -1 sampai dengan $+1$, atau dapat ditulis -1

$\leq r \leq +1$. Sedangkan menurut Musa (1978) pengetahuan mengenai korelasi antara sifat-sifat agronomi suatu tanaman dengan daya hasil memainkan peranan penting untuk seleksi simultan pada beberapa sifat. Kemudian lebih lanjut dikatakan oleh Somaatmadja (1983) bahwa koefisien korelasi genotipik berguna untuk mengetahui apakah dua sifat dapat atau tidak dapat diperbaiki bersama-sama.

2.3 Karakter Kualitatif dan Kuantitatif

Penampakan suatu tanaman ditentukan oleh interaksi genotip dengan lingkungan. Genotip adalah susunan atau pola gen yang dikandung organisme tertentu. Oleh karena itu, untuk meningkatkan kemampuan tanaman amat tergantung bagaimana memanipulasi gen agar menjadi genotip yang diharapkan baik sebagai individu tanaman maupun anggota populasi.

Pengetahuan tentang genetika perlu dipahami untuk membuat program satu atau beberapa sifat tanaman. Sifat tanaman dapat dibedakan atas sifat kualitatif dan kuantitatif. Sifat kualitatif adalah sifat secara kualitatif berbeda sehingga mudah dikelompokkan dan biasanya dinyatakan dalam kategori. Sifat kualitatif juga dapat dibedakan secara tegas atau deskrit, karena dikendalikan gen sederhana. Untuk penampilan sifat ini, faktor lingkungan kurang berpengaruh. Contoh sifat kualitatif diantaranya bentuk, warna dan ketahanan vertikal. Sifat ini menjadi obyek penelitian Mendel dan tercipta hukumnya yang terkenal itu. Genetika Mendel menyangkut segregasi, rekombinasi, linkage, interaksi non allel dan sebagainya yang menyebabkan berhasil tidaknya hibridisasi sebagai salah satu metode dalam program pemuliaan (Poespodarsono, 1999).

Banyak sifat penting seperti produksi, kadar protein dan kualitas dikendalikan oleh banyak gen yang masing-masing mempunyai pengaruh kecil pada sifat itu. Sifat yang demikian disebut sebagai sifat kuantitatif yaitu sifat yang tidak dapat dibedakan secara tegas karena dikendalikan oleh banyak gen sehingga kalau dibuat distribusinya akan menunjukkan distribusi yang kontinyu. Dengan adanya pengaruh lingkungan, akan menambah pengaburan perbedaan genetika tersebut. Teori Mendel tidak bisa diterapkan untuk mempelajari proses pewarisan sifat ini, tetapi digunakan teori lain yakni genetika kuantitatif.

Untuk sifat kuantitatif pekerjaan seleksi akan lebih efisien bila didasarkan atas variasi genetik. Akan tetapi untuk menyeleksi sifat kuantitatif tidak mendasarkan pada ragam genetik, tetapi pada ragam fenotip individu-individu dalam populasi. Sifat kuantitatif yang dipelajari dinyatakan dalam besaran kuantitatif bagi masing-masing individu tanaman yang selanjutnya digunakan pendekatan analisis sejumlah sifat itu.

2.4 Koefisien Keragaman Genetik

Sebelum menetapkan metode seleksi yang akan digunakan dan kapan seleksi akan dimulai perlu diketahui berapa besar variabilitas genetik, karena variabilitas genetik sangat mempengaruhi keberhasilan suatu proses seleksi dalam pemuliaan tanaman (Pinaria *et al.*, 1995). Suatu karakter tergolong mempunyai variabilitas genetik yang luas jika varians genetik lebih besar dari dua kali simpangan baku varians genetik dan tergolong sempit jika varians genetik lebih kecil atau sama dengan dua kali simpangan baku varians genetiknya (Wahyuni *et al.*, 2000).

Keadaan variabilitas genetik yang luas memberikan peluang seleksi terhadap suatu karakter berlangsung efektif (Ruchjaningsih *et al.*, 2000). Menurut Zen *et al.*, (1995) nilai koefisien keragaman genetik membantu pengukuran diversitas genetik pada suatu sifat dan melengkapi cara dalam membandingkan keragaman genetik didalam sifat-sifat kuantitatif (Januarini, 2007).

2.5 Heritabilitas

Menurut Allard (1960) kemajuan seleksi yang dilakukan dapat dilihat dari nilai heritabilitasnya. Heritabilitas menyatakan perbandingan atau proporsi varian genetik terhadap varian total (varian fenotipe) yang biasa dinyatakan dalam persen (%) (Kuckuck *et al.*, 1991). Menurut Poehlman dan Sleeper (1995), heritabilitas adalah parameter genetik yang digunakan untuk menduga variabilitas penampilan suatu genotipe dalam populasi yang disebabkan oleh peranan faktor genetik.

Nilai heritabilitas terbagi menjadi dua macam, yaitu heritabilitas arti luas (broad sense heritability) yang merupakan perbandingan antara varian genetik total terhadap varian fenotip, dan heritabilitas arti sempit (narrow sense

heritability) yang merupakan perbandingan antara varian aditif dan varian fenotipe (Makmur, 1992). Stanfield (1983) membagi nilai heritabilitas arti luas ke dalam tiga kelompok, yaitu rendah ($h^2 \leq 0.2$), sedang ($0.2 \leq h^2 \leq 0.5$), dan tinggi ($h^2 > 0.5$).

Heritabilitas dalam arti sempit nilainya akan lebih kecil dibandingkan dengan nilai heritabilitas arti luas, karena heritabilitas arti sempit melihat proporsi varian aditif yang merupakan bagian dari varian genetik total terhadap varian fenotipe dan varian aditif merupakan sifat yang benar-benar diwariskan pada keturunannya sehingga nilai heritabilitas arti sempit akan lebih spesifik dibandingkan dengan nilai heritabilitas arti luas (Mangoendidjojo, 2003).

Nilai heritabilitas dapat diduga dengan menggunakan metode antara lain dengan metode analisis komponen ragam. Analisis komponen ragam digunakan untuk menduga nilai heritabilitas arti luas. Metode lain yang dapat digunakan untuk menduga nilai heritabilitas adalah metode parent-offspring. Metode ini digunakan untuk menduga nilai heritabilitas arti sempit pada karakter kualitatif.

Pendugaan nilai heritabilitas dapat juga dilakukan dengan meregresikan nilai rata-rata turunannya terhadap tetuanya. Nilai heritabilitas dinyatakan dalam bilangan pecahan atau persentase yang berkisar antara 0 hingga 1. Nilai heritabilitas = 0 artinya keragaman fenotipe hanya disebabkan oleh keragaman lingkungan, sedangkan nilai heritabilitas 1 artinya keragaman fenotipe hanya ditentukan oleh keragaman genetik. Semakin mendekati nilai satu nilai heritabilitasnya semakin tinggi, sebaliknya semakin mendekati nilai nol nilai heritabilitasnya semakin rendah (Poespodarsono, 1999).

Heritabilitas digunakan sebagai langkah awal pada pekerjaan seleksi terhadap populasi bersegregasi. Populasi dengan heritabilitas tinggi memungkinkan dilakukannya seleksi, sebaliknya populasi dengan heritabilitas rendah masih harus dilihat tingkat rendahnya. Bila terlalu rendah, hampir mendekati nol, tidak akan banyak berarti pekerjaan seleksi tersebut. Sifat kualitatif umumnya memiliki nilai heritabilitas tinggi karena sifat kualitatif dikendalikan oleh gen sederhana dan penampakan sifatnya tidak terlalu dipengaruhi oleh lingkungan. Sifat kuantitatif memiliki nilai heritabilitas rendah karena dikendalikan oleh gen yang kompleks dan dipengaruhi oleh lingkungan

(Poespodarsono, 1999). Heritabilitas suatu karakter yang tinggi menandakan bahwa ekspresi genetik karakter tersebut relatif kurang dipengaruhi lingkungan, sedangkan nilai heritabilitas yang rendah menandakan keragaman fenotip dipengaruhi lingkungan (Rachmadi *et al.*, 1996).

2.6 Kandungan Gizi Tanaman Kedelai

(Protein kedelai) Soy protein telah muncul sebagai salah satu sumber makanan alternatif kaya protein untuk konsumsi manusia. Semua ahli kesehatan berharap dengan hadirnya protein kedelai ini akan dapat membantu perbaikan gizi. Kandungan gizi kacang kedelai yaitu mineral 3261 mg, mineral kalium 1835 mg, magnesium 225 mg, protein 2,8 g, lemak 1,5 g, karbohidrat 3,6 g, serat 0,1 g, vitamin A 110 mcg, vitamin B 407 mcg, kalori 331 g, hidrat arang 34,8 g, fosfor 585 g, dan sebagian besar didalam kandungan ini memiliki nilai gizi yang sangat diperlukan oleh tubuh (Junaidi, 2003).

Biji kedelai adalah biji-bijian yang tertinggi kandungan proteinnya yaitu sekitar 42%. Sewaktu panen biji kedelai masih cukup tinggi kandungan kadar airnya. Oleh karena itu perlu diturunkan lagi kadar airnya menjadi sekitar 15% agar dapat lama disimpan. Bila digunakan sebagai pakan perlu digiling terlebih dahulu agar mudah dicampur. Bagi ternak non ruminansia (babi muda dan unggas) perlu adanya pemansan 115⁰C selama 10 menit sehingga tidak mengganggu proses pencernaan (Nursiam, 2009).

Adapun minyak kedelai mempunyai kadar asam lemak jenuh sekitar 15% sehingga sangat baik sebagai pengganti lemak dan minyak yang memiliki kadar asam lemak jenuh yang tinggi seperti mentega dan lemak babi. Hal ini berarti minyak kedelai sama seperti minyak nabati lainnya yang bebas kolestrol (Firmanjaya, 2008). Kadar minyak kedelai relatif lebih rendah dibandingkan dengan jenis kacang-kacangan lainnya, tetapi lebih tinggi daripada kadar minyak serelia. Kadar protein kedelai yang tinggi menyebabkan kedelai lebih banyak digunakan sebagai sumber protein daripada sebagai sumber minyak. Asam lemak dalam minyak kedelai sebagian besar terdiri dari asam lemak esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh (Firmanjaya, 2010).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2010 sampai dengan Maret 2011 di lahan tegalan Jl. Perum Joyogrand, Kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, kota Malang dengan ketinggian 562 m dpl dan suhu rata-rata harian 36°C.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah keturunan M5 yaitu 7 galur kedelai hasil mutasi (mutan Anjasmoro dan Kaba) dimana sebelumnya diperlakukan dengan perendaman kolkhisin serta dua varietas pembanding yaitu Anjasmoro dan Kaba. Bahan lain yang digunakan adalah pupuk berupa SP 36 – 100 kg/ha, KCl 75 kg – 100 kg/ha, dan Urea 50 kg/ha. Sedangkan alat-alat yang digunakan adalah bajak, garu, tugal, sabit, cangkul, meteran, timbangan, rafia, label, kamera dan alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak kelompok dengan 9 genotip kedelai yaitu :

1. G1 yaitu 7NB#ANJ(1000)(1/10)S
2. G2 yaitu 10NB#KB(500)(2/20)S
3. G3 yaitu 20NB#ANJ(100)(1/9)S
4. G4 yaitu 16NB#ANJ(500)(2/16)S
5. G5 yaitu 17NB#ANJ(1000)(1/5)S
6. G6 yaitu 26NB#ANJ(500)(1/11)S
7. G7 yaitu 33NB#ANJ(500)(2/3)S
8. G8 yaitu kultivar pembanding Kaba
9. G9 yaitu kultivar pembanding Anjasmoro

Masing-masing galur memiliki jumlah sample 20 tanaman serta menggunakan ulangan sebanyak tiga kali tiap galur yang ditanam. Selanjutnya hasil biji sample akan dianalisis kandungan protein, karbohidrat dan minyaknya.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Budidaya Tanaman

Penelitian dimulai dari persiapan dan pengolahan lahan dengan menggunakan cangkul. Petak yang digunakan yaitu berukuran 3x5 m² dengan jarak tanam 40 cm x 20 cm. Jumlah tanaman contoh yang diamati dari masing-masing galur adalah dua puluh tanaman.

Penanaman benih dilakukan sebanyak 1 benih per lubang. Pemupukan dilakukan saat tanaman berumur 2 minggu setelah tanam (MST). Penyulaman dilakukan bersamaan dengan pemupukan terhadap benih-benih yang tidak tumbuh. Pengendalian gulma dan hama penyakit dilakukan sesuai kondisi pertanaman di lapangan. Panen dilakukan jika 70% daun telah menguning dan rontok serta polong keras dan berubah warna menjadi kecoklatan.

3.4.2 Metode Pengujian Protein, Karbohidrat dan Minyak pada Kedelai

3.4.2.1 Penentuan Kadar Air (Sudarmaji *et al.*, 1997)

1. Menimbang contoh yang telah berupa serbuk atau bahan yang telah dihaluskan sebanyak 1-2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
2. Kemudian keringkan dalam oven pada suhu 100-105° C selama 3-5 jam tergantung bahannya. Kemudian dinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Panaskan lagi dalam oven 30 menit, dinginkan dalam eksikator dan ditimbang; perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg).
3. Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{Berat awal (Berat botol timbang + Berat sample)} - \text{Berat akhir}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.4.2.2 Kadar Abu Metode Pengeringan (Sudarmaji *et al.*, 1997)

1. Menimbang dengan seksama bahan sebanyak 2 g dalam krus porselin yang kering dan telah diketahui beratnya.
2. Kemudian memijarkan dengan muffle sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan (5 jam dengan suhu 600° C). Memasukkan krus dan abu ke dalam desikator dan timbang berat abu setelah dingin.
3. Perhitungan

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{Berat akhir} - \text{Berat krus porselin kosong}}{\text{Berat sample}} \times 100 \%$$

3.4.2.3 Analisa Lemak Metode Soxhlet (Sudarmaji *et al.*, 1997)

1. Sampel ditimbang dengan teliti lalu dimasukkan dalam thimble yang dibuat dari kertas saring
2. Diatas sampel dalam thimble ditutup dengan kapas bebas lemak
3. Labu godok dipasang berikut kondensornya
4. Pelarut dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi sebanyak 1,5-2 kali isi tabung ekstraksi
5. Dilakukan pemanasan dengan menggunakan penangas air
6. Lipida akan terekstrak dan terkumpul ke dalam labu godok
7. Pada akhir ekstraksi yaitu kira-kira 4-6 jam, labu rebus diambil dan ekstrak dituang kedalam botol timbang atau cawan porselin yang telah diketahui beratnya, kemudian pelarut diuapkan di atas penangas air sampai pekat.
8. Selanjutnya dikeringkan dalam oven sampai diperoleh berat konstan pada suhu 100⁰ C
9. Berat residu dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak atau minyak

3.4.2.4 Penentuan Kadar Protein Metode Kjehdald (Sudarmaji *et al.*, 1997)

1. Menimbang bahan 1 g kemudian menambahkan 7,5 g K₂S₂O₄ dan 0,35 g
2. Panaskan dalam lemari asam sampai jernih
3. Tambahkan 100 ml aquades dalam labu kjeldahl yang diinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, juga tambahkan 15 ml larutan K₂S 4% (dalam air) dan akhirnya tambahkan perlahan-lahan larutan NaOH 50% sebanyak 50 ml yang sudah didinginkan dalam almari es. Pasanglah labu kjeldahl dengan segera pada alat destilat
4. Panaskan labu kjeldahl perlahan-lahan sampai dua lapisan cairan tercampur, kemudian panaskan dengan cepat sampai mendidih
5. Distilat ini ditampung dalam Erlenmeyer yang telah di isi dengan 50 ml larutan standart HCL (0,1N) dan 5 tetes indikator metil merah. Lakukan distilat sampai distilat yang tertampung sebanyak 75 ml

6. Titrasi distilat yang diperoleh dengan standart NaOH (0,1N) sampai warna kuning
7. Buat juga larutan blanko dengan mengganti bahan dengan aquades, lakukan distruksi, distilasi, dan titrasi seperti pada contoh
8. Perhitungan %N:
$$\frac{(\text{ml HCL sampel} - \text{ml HCL blanko}) \times 100\% \times 14,008}{\text{gr contoh} \times 1000}$$

% Protein: %N x Faktor

3.4.2.5 Penentuan Karbohidrat Total (Widjanarko, 1996)

Kadar karbohidrat = $100\% - (\text{kadar protein} + \text{lemak} + \text{kadar air} + \text{kadar abu})$

3.5 Variabel Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terdiri dari pengamatan untuk karakter kualitatif dan karakter kuantitatif. Jumlah contoh tanaman yang diamati sebanyak 20 tanaman tiap galur.

Karakter kualitatif terdiri dari :

1. Warna hipokotil (hijau, ungu), diamati ketika tanaman berumur 12 hst
2. Warna bunga (putih, ungu), diamati ketika mulai berbunga (± 40 hst)
3. Intensitas bulu pada tanaman (banyak, sedikit, tidak ada), diamati ketika memasuki generatif
4. Tipe tumbuh batang (determinate, semi-determinate/semi-indeterminate dan indeterminate), diamati pada umur 60 hst
5. Tipe percabangan (tegak, tegak-agak tegak, agak tegak, agak tegak–horizontal, horizontal), diamati pada umur 60 hst
6. Bentuk daun (lanset, segitiga, oval meruncing dan oval membulat), ukuran daun (kecil, sedang dan besar), dan intensitas warna hijau daun (hijau muda, hijau dan hijau tua) diamati pada umur 60 hst
7. Warna daun (hijau muda, hijau dan hijau tua), diamati pada umur 60 hst
8. Warna polong (cokelat muda, cokelat dan cokelat tua), diamati pada saat panen
9. Bentuk biji (bulat, bulat pipih, lonjong, lonjong pipih), diamati pada saat panen

10. Warna biji (kuning muda, kuning, kuning tua, kuning hijau, hijau kuning, coklat muda, coklat coklat, tua hitam), diamati pada saat panen

Karakter kuantitatif terdiri dari :

1. Umur berbunga (hari), dihitung mulai dari saat tanam sampai saat tanaman mulai berbunga
2. Umur masak panen (hari), dihitung mulai saat tanam sampai dengan saat tanaman dipanen
3. Periode pengisian biji (hari), dihitung mulai dari saat awal berbunga hingga masak fisiologis
4. Tinggi tanaman (cm), diukur mulai pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman ketika berumur 75 hst
5. Jumlah cabang produktif per tanaman, dihitung seluruh cabang yang menghasilkan polong ketika telah mulai muncul polong (± 45 hst)
6. Jumlah daun per tanaman, dihitung seluruh daun yang terdapat dalam satu tanaman ketika berumur 60 hst
7. Luas daun per tanaman (cm^2), yaitu dengan mengukur seluruh luas daun dalam satu tanaman ketika berumur 60 hst. Estimasi luas daun total tanaman kedelai dengan menggunakan rumus $A = 6,532 + 2,045(\sum L_1 W_1)$ (Wiersma and Bailey, 1974)
8. Kerapatan stomata, diamati ketika berumur 45 hst dan dilakukan dengan menggunakan mikroskop objektif dengan perbesaran 400X
9. Jumlah polong per tanaman, pengamatan dilakukan saat panen dengan menghitung jumlah polong pada tanaman
10. Jumlah biji per tanaman, pengamatan dilakukan saat panen dengan menghitung jumlah biji pada tiap tanaman
11. Bobot biji per tanaman (g), pengamatan dilakukan saat panen dengan menimbang semua biji bernas per tanaman pada keadaan kering matahari
12. Bobot 100 biji (g), pengamatan dilakukan saat panen dengan menimbang bobot 100 biji kering matahari saat panen
13. Hasil biji (ton/ha), pengamatan dilakukan saat panen dengan menghitung berdasarkan bobot total biji kering pada ukuran 2.25 m^2 , dan dikonversi menggunakan rumus :

$$\text{Hasil biji kering (ton.ha}^{-1}\text{)} = \frac{\left(\frac{10000\text{m}^2 \times \text{bobot biji pada } 2.25\text{m}^2 \text{ (g)}}{2.25\text{m}^2} \right)}{1000000\text{g}}$$

3.6 Analisis Data

Analisis peragam untuk mengetahui nilai kuadrat tengah serta taksiran kuadrat tengah. Untuk menghitung besarnya koefisien korelasi genotipe (rg) dan fenotipe (rf) antar karakter digunakan analisis kovarians dari komponen peragam (tabel 1).

Tabel 1. Pendugaan komponen peragam

SK	Db	Jumlah Hasil Kuadrat	Kuadrat Tengah	Taksiran Kuadrat Tengah
Ulangan	r-1	$\frac{Y_i.X_i}{r}$ $\frac{(Y_i)(X_i)}{rg}$	HKT _r	Cov e.xy + g Cov r.xy
Genotype	g-1	$\frac{Y.X}{r}$ $\frac{(Y_i)(X_i)}{rg}$	HKT _g	Cov e.xy + r Cov g.xy
Galat	(r-1)(g-1)	Total-HKg-HKr	HKT _e	Cov e.xy
Galat Total	(rg-1)			

Korelasi genotipik dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$r_{g(xixj)} = \frac{kov_g(x_i x_j)}{\sqrt{(\sigma_{g(xi)}^2 \sigma_{g(xj)}^2)}}$$

dalam hal ini :

$kov_g(xixj)$ = peragam genotipik antara sifat i dan j

$\sigma_{g(xi)}^2$ = ragam genetik sifat i

$\sigma_{g(xj)}^2$ = ragam genetik sifat j

Koefisien korelasi fenotipik dengan rumus :

$$r_{f(xixj)} = \frac{kov_f(x_i x_j)}{\sqrt{(\sigma_{f(xi)}^2 \sigma_{f(xj)}^2)}}$$

dalam hal ini :

$kov_f(xixj)$ = peragam fenotipik antara sifat i dan j

$\sigma_{f(xi)}^2$ = ragam fenotip sifat i

$$\sigma_{f(x_j)}^2 = \text{ragam fenotip sifat } j$$

Untuk menguji signifikansi nilai korelasi antar karakter digunakan uji-t menurut rumus Singh dan Chaudhary (1979), sebagai berikut :

$$t = r [(n-2) : (1-r^2)]^{1/2}$$

yang selanjutnya dibandingkan dengan tabel distribusi student t, dengan derajat bebas = (n-2).

Pendugaan parameter genetik meliputi pendugaan komponen ragam dan pendugaan nilai heritabilitas dalam arti luas (h_{bs}^2) untuk menentukan karakter yang dapat dijadikan kriteria seleksi.

Pendugaan komponen ragam diperoleh dengan cara sebagai berikut:

Tabel 2. Pendugaan komponen ragam

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Kuadrat Tengah (KT)	E (KT)
Ulangan	r-1	M3	$\sigma^2 + g \sigma_u^2$
Genotip	g-1	M2	$\sigma^2 + r \sigma_g^2$
Galat	(r-1)(g-1)	M1	σ^2
Total	{(g.r)-1}		

Keterangan :

r = ulangan

g = genotip

G = galat

- Ragam lingkungan besarnya diduga dari KT galat (σ^2)
- Ragam genetik (σ_g^2) diduga dari : $(M2 - M1) / r$
- Ragam fenotipik (σ_p^2) = $(\sigma^2) / r + \sigma_g^2$
- Pendugaan nilai heritabilitas diperoleh dengan cara : $h^2 = \sigma_g^2 / \sigma_p^2 \times 100\%$

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variable pengamatan maka dilakukan uji F sebagai berikut :

$$F \text{ hitung} = M2/M1$$

dan selanjutnya dibandingkan dengan F tabel.

Untuk mengetahui perbedaan hasil pengamatan tiap karakter termasuk nyata atau tidak dilakukan analisis BNT sebagai berikut :

$$BNT = t_{tabel} = \sqrt{\frac{2M1}{r}}$$