

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Dusun Junwatu, Desa Junrejo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu. Dusun Junwatu terletak pada ketinggian ± 650 m dpl dengan suhu udara minimum 18-24°C dan suhu udara maksimum 28-32°C, serta kelembaban udara 75-98%. Penelitian dimulai pada bulan April 2013 dan berakhir pada bulan Juli 2013.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ialah cangkul, mulsa plastik hitam perak, alat pelubang mulsa, meteran, tugal, turus atau lanjaran yang terbuat dari bambu dengan ukuran panjang 175 cm dan lebar 4 cm, sprayer, label, alat tulis, kantung plastik, penggaris, jangka sorong, timbangan analitik, dan kamera.

3.2.2 Bahan

Tabel 2. Jumlah Tanaman dalam Populasi Tetua dan F₂

No.	Populasi	Jumlah Tanaman per Populasi
1	Cherokee Sun	200
2	Purple Queen	181
3	Gogo Kuning	43
4	Mantili	200
5	Gilik Ijo	200
6	F ₂ Cherokee Sun \times Gogo Kuning	200
7	F ₂ Cherokee Sun \times Mantili	200
8	F ₂ Cherokee Sun \times Gilik Ijo	200
9	F ₂ Purple Queen \times Gogo Kuning	200
10	F ₂ Purple Queen \times Mantili	200
11	F ₂ Purple Queen \times Gilik Ijo	188

Bahan yang digunakan adalah enam populasi F₂ buncis hasil persilangan varietas introduksi dengan varietas lokal serta lima populasi tetuanya. Varietas introduksi yang digunakan sebagai tetua adalah Cherokee Sun yang berpolong kuning dan Purple Queen yang berpolong ungu, sedangkan varietas lokal yang

digunakan sebagai tetua adalah Gogo Kuning, Mantili, dan Gilik Ijo. Tetua dan F₂ yang digunakan serta jumlah tanaman dalam populasinya dapat dilihat pada Tabel 2. Selain itu, dalam penelitian ini juga digunakan insektisida/ nematisida dengan bahan aktif *karbofuran* 3%, sekam bakar, pupuk NPK 16-16-16, dan insektisida dengan bahan aktif *Beta siflutrin*.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode *single plant*, yaitu dengan menanam semua generasi F₂ hasil kombinasi persilangan beserta tetuanya dalam satu populasi di lingkungan pertanaman yang sama tanpa ulangan. Denah penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi persiapan lahan, pemasangan mulsa, penanaman, pemeliharaan, panen, dan pengamatan. Lahan yang akan digunakan diolah terlebih dahulu. Pengolahan lahan dilakukan dua tahap, yaitu pengolahan lahan pertama dengan dengan cara membalik, menggemburkan tanah pada lapisan olah, dan membersihkan sisa-sisa tanaman sebelumnya dengan kedalaman olah tanah 30 cm, serta pengolahan lahan kedua yaitu pembuatan bedengan. Panjang bedengan adalah 7,5 m, lebar bedengan adalah 4 m, jarak antar bedengan adalah 0,5 m, dan ketinggian bedengan adalah 0,2 m. Setiap bedengan dibagi menjadi 4 guludan dengan lebar 1 m dan jarak antar guludan adalah 0,1 m (Lampiran 2).

Pemasangan mulsa plastik hitam perak (MPHP) dilakukan setelah bedengan siap pada saat matahari terik agar mulsa tidak kendur. Setelah mulsa dipasang, kemudian dibuat lubang tanam dengan menggunakan alat pelubang mulsa. Jarak tiap lubang tanam dalam guludan adalah 0,3 m, sedangkan jarak tiap lubang tanam antar guludan adalah 0,5 m.

Penanaman dilakukan secara langsung atau *direct planting* dengan ketentuan 1 benih per lubang tanam. Sebelum benih ditanam, tanah dilubangi dengan menggunakan tugal sedalam kurang lebih 5 cm. Setelah ditanam, lubang

tanam diberi nematisida sistemik dengan bahan aktif *karbofuran* 3% dan ditutup dengan menggunakan sekam bakar.

Kegiatan pemeliharaan dilakukan selama penelitian berlangsung. Kegiatan tersebut diantaranya ialah:

1. Pemasangan lanjaran

Bagi buncis tipe merambat, diperlukan lanjaran agar tetap tumbuh tegak. Pemasangan lanjaran dilakukan secara bertahap sejak 14 hst hingga 21 hst. Lanjaran yang digunakan adalah lanjaran berbentuk tegak yang terbuat dari bambu sepanjang 175 cm yang dipotong menjadi 4 bagian.

2. Pengairan

Pengairan dilakukan setiap hari dengan cara digenangi selama 30 menit. Pengairan dilakukan pada pagi atau sore hari.

3. Pemupukan

Pemupukan dilakukan sebanyak empat kali dengan interval 7 hari, yaitu pada 7 hst, 14 hst, 21 hst, dan 28 hst dengan menggunakan pupuk NPK 16-16-16 dengan dosis 5 g / tanaman.

4. Pengendalian OPT

Pengendalian gulma dilakukan secara manual dengan cara penyiangan, sedangkan pengendalian hama dan penyakit hanya dilakukan pada saat 14 hst menggunakan insektisida kimia dengan bahan aktif *Beta siflutrin*.

Panen dilakukan pada saat polong telah menunjukkan ciri-ciri sebagai berikut: (1) warna polong masih agak muram dan suram, (2) permukaan kulit polong agak kasar, (3) biji dalam polong belum menonjol, dan (4) polong belum berserat serta bila dipatahkan akan menimbulkan bunyi meletup. Pelaksanaan panen dilakukan secara bertahap setiap 2 hari sekali. Hal ini dimaksudkan agar diperoleh polong yang seragam dalam tingkat kemasakannya. Pemetikan dihentikan setelah panen ke-4. Setelah panen ke-4, polong dibiarkan mengering dan dipanen untuk diambil benihnya.

3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada semua individu tanaman buncis pada masing-masing populasi. Pengamatan meliputi karakter kualitatif serta karakter kuantitatif. Pengamatan pada karakter kualitatif dilakukan berdasarkan Panduan Pengujian Individual (PPI) dan IBPGR (*International Board for Plant Genetic Resources*). Data kualitatif kemudian dikonversi menjadi data kuantitatif dengan cara skoring.

1. Tipe pertumbuhan

Menurut tipe pertumbuhannya, tanaman buncis dikelompokkan menjadi tipe tegak, tipe tegak melilit, dan tipe merambat.

Skor 1 = tipe tegak

Skor 2 = tipe tegak melilit

Skor 3 = tipe merambat

Pengamatan tipe pertumbuhan dilakukan pada waktu tanaman berbunga penuh pada masing-masing individu tanaman.

2. Warna daun

Warna daun buncis dapat dikelompokkan menjadi hijau muda, hijau, dan hijau tua.

Skor 1 = hijau muda

Skor 2 = hijau

Skor 3 = hijau tua

Pengamatan warna daun dilakukan pada waktu tanaman berbunga penuh pada masing-masing individu tanaman.

3. Warna batang

Warna batang dikelompokkan menjadi hijau, hijau keunguan, dan ungu.

Skor 1 = hijau

Skor 2 = hijau keunguan

Skor 3 = ungu

Pengamatan warna batang dilakukan pada waktu tanaman berbunga penuh pada masing-masing individu tanaman.

4. Warna standard bunga

Warna standard bunga dapat dikelompokkan menjadi putih, merah muda, dan ungu.

Skor 1 = putih

Skor 2 = merah muda

Skor 3 = ungu

Pengamatan warna standard bunga dilakukan pada waktu tanaman berbunga penuh pada masing-masing individu tanaman.

5. Warna polong

Warna polong buncis dapat dikelompokkan menjadi kuning muda, kuning, kuning kehijauan, kuning kecoklatan, hijau muda, hijau, hijau tua, hijau keunguan, ungu kehijauan, ungu muda, ungu, dan ungu tua. Skoring warna polong buncis dapat dilihat pada Tabel 3. Pengamatan warna polong dilakukan pada saat panen pertama terhadap polong segar dari masing-masing individu tanaman.

Tabel 3. Skoring Warna Polong Buncis

Skor	1	1,4	1,8	2,2	2,6	3
Sifat	Hijau Tua Hijau	Hijau Keunguan Hijau muda	Ungu Kehijauan Kuning Kecoklatan	Ungu Muda Kuning Kehijauan	Ungu Kuning	Ungu Tua Kuning Muda

6. Umur awal berbunga (hst)

Pengamatan awal bunga dilakukan pada saat tanaman mulai berbunga. Pengamatan dilakukan pada masing-masing individu tanaman.

7. Umur awal panen (hst)

Pengamatan awal panen dilakukan pada saat polong tanaman mulai siap untuk dipanen. Pengamatan dilakukan pada masing-masing individu tanaman.

8. Jumlah polong per tanaman

Setiap tanaman dipanen semua polongnya dan dihitung jumlah polong pada masing-masing tanaman. Pengamatan dilakukan pada saat panen pertama hingga panen terakhir.

9. Panjang Polong (cm)

Pada masing-masing tanaman, dipilih secara acak 10 polong segar. 10 polong segar tersebut dihitung panjangnya dengan menggunakan penggaris. Panjang 10 polong pada masing-masing tanaman dirata-rata. Pengamatan dilakukan pada saat panen pertama.

10. Diameter Polong (mm)

Pada masing-masing tanaman, dipilih secara acak 10 polong segar (sama dengan no. 9). 10 polong segar tersebut dihitung diameternya dengan menggunakan jangka sorong. Diameter 10 polong pada masing-masing tanaman dirata-rata. Pengamatan dilakukan pada saat panen pertama.

11. Berat polong (g)

Pada masing-masing tanaman, dipilih secara acak 10 polong segar (sama dengan no. 9). 10 polong segar tersebut dihitung beratnya dengan menggunakan timbangan analitik. Berat 10 polong pada masing-masing tanaman dirata-rata. Pengamatan dilakukan pada saat panen pertama.

12. Berat polong per tanaman (g)

Rata-rata berat polong segar dikalikan dengan jumlah polong dalam satu tanaman. Pengamatan dilakukan sejak panen pertama hingga panen terakhir.

3.6 Analisa Data

Pendugaan nilai heritabilitas dilakukan dengan menggunakan perhitungan dengan ragam keturunan. Untuk menduga nilai ragam genetik, perlu diketahui ragam fenotip dan ragam lingkungan. Populasi tetua secara genetik adalah homogen, sehingga keragaman yang muncul pada tetua hanya disebabkan oleh lingkungan. Dengan demikian, ragam lingkungan dapat diduga dari populasi tetua. Sedangkan populasi F_2 telah mengalami segregasi bebas, sehingga secara genetik beragam. Sehingga ragam fenotip dapat diduga dari populasi F_2 .

Nilai ragam dapat diperoleh dengan rumus $\sigma^2 = \frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1}$, dimana n merupakan banyaknya anggota populasi, $\sum x^2$ adalah jumlah kuadrat data, dan $(\sum x)^2$ adalah jumlah data dikuadratkan. Untuk mengetahui kriteria keragaman

genetik dari suatu karakter, perlu dihitung simpangan baku. Nilai simpangan baku (σ) = $\sqrt{\sigma^2}$. Suatu karakter tergolong memiliki kriteria keragaman yang luas jika nilai ragam genetik lebih besar dari dua kali simpangan baku ragam genetik, dan tergolong sempit jika ragam genetik lebih kecil atau sama dengan dua kali simpangan baku ragam genetiknya (Pinaria *et al.*, 1995 dalam Boer, 2011). Karakter dengan nilai ragam genetik 0 digolongkan dalam kriteria keragaman genetik seragam. Karakter dengan nilai ragam genetik negatif dianggap menjadi 0 dan digolongkan dalam kriteria keragaman genetik sangat sempit.

Heritabilitas arti luas (h^2) merupakan perbandingan antara ragam genetik total dengan ragam fenotip, yang dapat diduga dengan rumus $h^2 = \frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_P}$, di mana:

$$\sigma^2_G = \sigma^2_P - \sigma^2_E,$$

$$\sigma^2_P = \sigma^2_F_2, \text{ dan}$$

$$\sigma^2_E = \frac{\sigma^2_{P_1} + \sigma^2_{P_2}}{2}.$$

Kriteria dugaan heritabilitas (h^2) menurut McWhirter (1979 dalam Martono 2004), yaitu tinggi jika $x > 0,50$, sedang jika $0,20 \leq x \leq 0,50$, dan rendah jika $0 < x < 0,20$.

