

3. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi), Badan Litbang Pertanian Kendalpayak, Malang, yang terletak pada ketinggian ± 440 meter dari permukaan laut dengan suhu harian rata-rata 23-25°C, dan kelembaban udara berkisar 73%. Penelitian dimulai pada bulan Maret sampai Agustus 2015.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam percobaan ini adalah :

1. Alat-alat yang digunakan untuk budidaya tanaman ubijalar, antara lain : cangkul, garu, sabit, cetok, dan knapsack sprayer.
2. Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan larutan, antara lain : Timbangan analitik, gelas ukur, *beaker glass*, *erlenmeyer*, pipet, dan sendok pengaduk
3. Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan preparat dan pengamatan fertilitas polen, antara lain : kaca preparat, cover glass, pipet, jarum, mikroskop monokuler.
4. Alat-alat yang digunakan untuk kegiatan persilangan, antara lain : Pinset, benang, buku, pensil, dan kotak plastik

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah :

1. Bahan yang digunakan untuk persilangan, antara lain : bunga tanaman ubijalar klon MSU 07023-86, MSU 10051-02, Papua Solossa, RIS 10068-02, UJ 02, UJ 16, UJ 19 sebagai tetua betina (potensi hasil tinggi) dan klon CIP 440287, W-86, Bogor Maja sebagai tetua jantan (betakaroten tinggi).
2. Bahan yang digunakan untuk pembuatan larutan, antara lain : Yodium, Kalium Iodida, Aquades
3. Bahan yang digunakan untuk pengamatan fertilitas polen, antara lain : polen tanaman ubijalar klon CIP 440287, W-86, Bogor Maja dan menggunakan larutan Yodium Kalium Iodida (YKI).
4. Bahan-bahan yang digunakan untuk perawatan tanaman, antara lain : Pupuk kompos, Urea (N 46%), SP36 (P₂O₅ 36%), KCl (K₂O 60%), dan Gandasil B (N 6%,

Fosfat (P_2O_5) 20%, Kalium (K_2O) 30%, Magnesium ($MgSO_4$) 3%), Pestisida yang memiliki bahan aktif Piradaben 135 g/l dan metomil 25%.

5. Bahan-bahan penunjang penelitian ini adalah : kantong plastik, kertas coklat, label.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahapan, yaitu sebagai berikut.

1. Pengamatan Fertilitas Polen

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan Yodium Kalium Iodida (YKI) untuk mengetahui kesuburan polen. Fertilitas polen dapat dihitung dengan mengamati preparat dibawah mikroskop, kemudian dihitung polen yang fertil. Polen yang fertil terlihat berwarna hitam gelap, sedangkan yang steril terlihat transparan. Perlakuan diulang sebanyak 2 kali untuk tiap klon dan kemudian dihitung persentase fertilitasnya.

2. Persilangan

Persilangan dilakukan dengan menyilangkan antar klon dengan menggunakan rancangan dialel tidak lengkap. Terdapat 21 kombinasi persilangan dengan 20 tanaman per klon. Setiap set persilangan disilangkan sebanyak 50-365 bunga. Persilangan antar klon dijelaskan pada Tabel 1, sebagai berikut :

Tabel 1. Kombinasi persilangan

$\frac{\text{♀}}{\text{♂}}$	CIP 440287	W-86	Bogor Maja
MSU 07023-86	MSU 07023-86 x CIP 440287	MSU 07023-86 x W-86	MSU 07023-86 x Bogor Maja
MSU 10051-02	MSU 10051-02 x CIP 440287	MSU 10051-02 x W-86	MSU 10051-02 x Bogor Maja
Papua Solossa	Papua Solossa x CIP 440287	Papua Solossa x W-86	Papua Solossa x Bogor Maja
RIS 10068-02	RIS 10068-02 x CIP 440287	RIS 10068-02 x W-86	RIS 10068-02 x Bogor Maja
UJ 02	UJ 02 x CIP 440287	UJ 02 x W-86	UJ 02 x Bogor Maja
UJ 16	UJ 16 x CIP 440287	UJ 16 x W-86	UJ 16 x Bogor Maja
UJ 19	UJ 19 x CIP 440287	UJ 19 x W-86	UJ 19 x Bogor Maja

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan yang dilaksanakan dalam penelitian ini meliputi

1. Pengolahan Tanah

Sebelum penanaman terlebih dahulu tanah dibajak dengan kedalaman lapisan olah tanah sedalam 20 sampai 30 cm. Plot dibuat ukuran 5 m dengan 7-9 guludan. Setiap guludan terdapat 20 lubang tanam. Jarak antar plot 100 cm dan jarak antar tanaman 25 cm. Tinggi guludan 40 cm dan lebar 80 cm serta jarak antar dua titik tengah guludan adalah 100 cm.

2. Persiapan Bahan Tanam

Bahan tanam yang digunakan berupa stek. Bahan stek yang digunakan berasal dari stek pucuk yang masih segar dengan panjang ± 25 cm. Sebelum tanam, stek direndam terlebih dahulu dalam bahan aktif metomil 25% selama ± 15 menit dengan dosis 2 gram/L. Tujuannya untuk mencegah serangan penyakit kudis (scab).

3. Penanaman

Penanaman dilakukan sepanjang guludan dengan jarak antar stek 25 cm sehingga jarak tanamnya adalah 100 cm x 25 cm. Penanaman dilakukan secara tegak dengan bagian ujung stek diatas dan bagian pangkal ditanam dibawah. Sepertiga bagian bibit terbenam dan duapertiga bagian tersembul diatas permukaan guludan.

4. Pemupukan

Dosis pupuk yang digunakan 100 kg Urea + 100 kg SP36 + 100 kg KCl per hektar. Setiap guludan menggunakan dosis pupuk sebagai berikut : 20 g Urea + 20 g SP36 + 20 g KCl + 2,5 kg Kompos. Pemupukan dilakukan 2 kali, pertama pada saat tanam dengan dosis sepertiga dosis anjuran ditambah dengan pupuk kompos dengan dosis 7,5 ton/ha. Sisanya diberikan pada saat tanaman berumur 8 minggu setelah tanam (mst). Pupuk diberikan dengan cara digaritkan sepanjang barisan tanaman dengan jarak 7-10 cm dari barisan tanaman. Pupuk gansil B digunakan untuk merangsang pembungaan, diaplikasikan menjelang pembungaan setiap 2 minggu sekali dengan dosis 10 gr/10 liter air.

5. Pemeliharaan Tanaman

a. Pengairan

Pengairan diberikan dengan tujuan agar tanaman dapat berproduksi dengan baik dengan memberikan sarana yang diperlukan bagi pertumbuhan tanaman. Pengairan diberikan pada 1 hari sebelum tanam serta 3 dan 6 minggu setelah tanam (mst). Pengairan dilakukan dengan cara dileb (digenangkan).

b. Penyiangan dan pembalikan batang

Penyiangan terhadap gulma dilakukan dua kali yaitu pada umur 4 mst dan 8 mst. Penyiangan dilakukan untuk membersihkan tanaman-tanaman pengganggu sehingga tanaman ubijalar dapat tumbuh dengan baik. Pembalikan batang dilakukan bersamaan dengan penyiangan. Pembalikan batang bertujuan untuk membatasi menjalarnya batang ke segala arah dan mencegah terbentuknya ubi pada setiap ruas. Pembalikan batang dilakukan dengan membalik sulur tanaman ubijalar yang merambat keluar guludan supaya berkumpul diatas guludan.

6. Persilangan

Persilangan ubijalar dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu :

a. Persiapan alat

Langkah pertama melakukan persilangan adalah persiapan alat, yang meliputi pinset, buku dan pensil untuk mencatat jumlah persilangan yang dilakukan, benang warna sebagai label tetua jantan yang digunakan, dan kotak plastik untuk menyimpan bunga tetua jantan yang sudah di isolasi.

b. Persiapan bahan

Kuncup bunga yang akan mekar keesokan harinya terlebih dahulu di ikat menggunakan benang, pengikatan dilakukan sekitar pukul 13.00-16.00. Sebelum dilakukan persilangan, pukul 06.00 bunga jantan yang digunakan sebagai tetua diambil dan dimasukkan ke dalam kotak plastik sesuai dengan nomor klon. Setiap warna benang menunjukkan nomor klon.

c. Penyerbukan

Bunga tetua betina diberi label menggunakan benang sesuai dengan jantan yang akan menyerbuki. Bunga tetua jantan dan betina dibuka ikatannya selanjutnya serbuk sari dari bunga tetua jantan diambil menggunakan pinset dan diletakkan diatas permukaan kepala putik. Selanjutnya mahkota bunga diikat kembali menggunakan benang. Persilangan dilakukan pada pukul 06.00-10.00, ciri bunga yang masak adalah benang sari antesis dan putik reseptif. Emaskulasi tidak perlu dilakukan karena adanya sifat inkompatibilitas sendiri yang tinggi pada ubijalar (hampir 100%).

d. Pemanenan dan Pengeringan

Hasil persilangan dapat dipanen dan dikeringkan setelah tiga minggu sampai empat minggu setelah persilangan. Ciri buah yang siap dipanen antara lain: buah kering hingga tangkainya dan warna coklat tua sampai hitam. Pemanenan buah dilakukan menggunakan gunting dengan memotong tangkai buah, lalu memasukkan buah ke dalam kantong kertas dengan menuliskan nomor klon tetua betinanya. Setiap benang yang berwarna sama dalam satu guludan dimasukkan ke dalam kantong yang sama. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari langsung, dengan meletakkannya di dalam bak plastik selama tiga sampai empat hari.

e. Prosesing hasil panen

Setelah dilakukan pemanenan dan pengeringan selanjutnya menghitung jumlah buah jadi setiap kombinasi persilangan, buah yang telah dihitung dimasukkan ke dalam kantong untuk dijemur kembali. Kemudian buah dipecah dan dihitung jumlah biji pada setiap buah. Benih yang telah terhitung selanjutnya dimasukkan ke dalam kantong kertas coklat untuk prosesing selanjutnya.

f. Penyimpanan

Setelah biji terhitung dan dimasukkan ke dalam amplop coklat, langkah selanjutnya adalah penyimpanan benih. Benih hasil persilangan di simpan di *seed storage* dengan suhu 10-14°C. Kadar air benih ubijalar adalah 6-8%.

7. Pengamatan Fertilitas Polen

a. Pembuatan Larutan Yodium Kalium Iodida (YKI)

- 0,3 g Kalium Iodida (KI) dilarutkan dalam 50 cc aquades
- Menambahkan 0,2 gram Yodium kedalam larutan Kalium Iodida
- Larutan diendapkan satu hari sebelum digunakan

b. Pengamatan

- Polen diambil saat fase heading. Menurut Rumanti *et al.* (2007) pengambilan polen yang baik untuk pengamatan fertilitas ialah saat fase heading, fase ini ialah fase dimana bunga baru muncul. Heading ialah dari munculnya bunga hingga akan melakukan persilangan. Pengamatan polen dilakukan saat polen sudah masak yaitu pukul 08.00.
- Pengamatan diawali dengan pengumpulan polen masak dengan ciri berwarna putih-kuning pucat dalam cawan petri. Tiap tetua diambil empat sampel bunga, tiap sampel tetua diamati dua kali.
- Polen yang telah diletakkan diatas kaca preparat ditetesi larutan Yodium kalium Iodida (YKI). Polen ditekan dengan pinset dan ditutup dengan cover glass. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop.
- Warna biru atau gelap menunjukkan polen yang fertil sebagai bentuk reaksi antara pati dengan larutan Yodium Kalium Iodida (YKI) sedangkan warna transparan menunjukkan polen yang steril (Wardiyati dan Kuswanto, 1995).

3.5 Pengamatan Percobaan

Sebagai data utama dalam penelitian ini dilakukan pengamatan sebagai berikut :

1. Persentase Fertilitas Polen

Fertilitas polen yang diamati adalah jumlah polen yang fertil dengan ciri polen berwarna hitam gelap. Rumus perhitungan persentase polen fertil adalah :

$$\% \text{ Fertilitas polen} = \frac{\text{Banyaknya polen fertil}}{\text{Banyaknya polen yang dihitung}} \times 100\%$$

2. Persentase Keberhasilan Persilangan

Keberhasilan persilangan yang diamati meliputi banyaknya buah atau kapsul yang terbentuk untuk setiap kombinasi persilangan.

Rumus persentase keberhasilan persilangan adalah :

$$\% \text{ Keberhasilan} = \frac{\text{Banyaknya buah yang dapat dipanen}}{\text{Banyaknya bunga yang disilangkan}} \times 100\%$$

3.6 Analisa Data

Analisa hasil pengamatan meliputi persentase fertilitas polen dan persentase keberhasilan persilangan dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui tingkat fertilitas polen dan tingkat inkompatibilitasnya.

1. Klasifikasi Tingkat Fertilitas

Berdasarkan data persentase polen fertil, menurut Achiriah (2007) tingkat fertilitas diklasifikasikan berdasarkan kriteria sebagai berikut :

- Fertil (61 - 100%)
- Fertil sebagian (31 - 60%)
- Steril sebagian (11 - 30%)
- Steril (0 - 10%)

2. Klasifikasi Tingkat Inkompatibilitas

Analisa tingkat inkompatibilitas pada klon ubijalar dapat diketahui berdasarkan persentase keberhasilan persilangan yang diamati meliputi banyaknya buah jadi. Klasifikasi tingkat inkompatibilitas berdasarkan Wang (1964) yaitu :

- Kompatibel (>20%)
- Inkompatibel sebagian (10 - 20%)
- Inkompatibel (<10%)