

3. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di lahan yang terletak di Kelurahan Tunggulwulung, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang dengan ketinggian \pm 450 mdpl dan suhu rata-rata harian 23°C - 29°C . Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Januari sampai dengan bulan Mei 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari PT. Dupont Indonesia (Pioneer). Alat yang digunakan adalah alat tanam, mikroskop, cover glass, kaca preparat, pipet, pinset, hand counter, kamera dan alat tulis. Sedangkan bahan yang digunakan adalah 50 genotip calon GMJ, 7 GMJ pembanding, larutan Iodium Kalium Iodida (IKI), pupuk Urea (300 kg/ha), pupuk SP_{36} (100 kg/ha), pupuk KCL 100 kg/ha, kantong panen dan label.

3.3 Metode Penelitian

Pada penelitian ini rancangan yang digunakan adalah *Augmented Design* dengan 50 genotip calon GMJ tanpa ulangan dan 7 GMJ sebagai pembanding yang diulang sebanyak tiga kali. Jarak tanam yang digunakan adalah 20 x 20 cm yang terdiri dari 30 tanaman dalam satu genotip dan jarak tanam antar genotip adalah 40 cm. Calon galur mandul jantan ditanam berdampingan dengan galur pelestarnya (maintainer) yang bertujuan untuk mendapatkan benih GMJ sehingga dapat ditanam dan dilakukan pengujian pada musim tanam berikutnya. Adapun benih calon GMJ dan GMJ pembanding adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Benih calon galur mandul jantan (GMJ)

Calon GMJ			
1. CGMJ14P11	16. CGMJ14P26	31. CGMJ14P41	46. CGMJ14P56
2. CGMJ14P12	17. CGMJ14P27	32. CGMJ14P42	47. CGMJ14P57
3. CGMJ14P13	18. CGMJ14P28	33. CGMJ14P43	48. CGMJ14P58
4. CGMJ14P14	19. CGMJ14P29	34. CGMJ14P44	49. CGMJ14P59
5. CGMJ14P15	20. CGMJ14P30	35. CGMJ14P45	50. CGMJ14P60
6. CGMJ14P16	21. CGMJ14P31	36. CGMJ14P46	
7. CGMJ14P17	22. CGMJ14P32	37. CGMJ14P47	
8. CGMJ14P18	23. CGMJ14P33	38. CGMJ14P48	
9. CGMJ14P19	24. CGMJ14P34	39. CGMJ14P49	
10. CGMJ14P20	25. CGMJ14P35	40. CGMJ14P50	
11. CGMJ14P21	26. CGMJ14P36	41. CGMJ14P51	
12. CGMJ14P22	27. CGMJ14P37	42. CGMJ14P52	
13. CGMJ14P23	28. CGMJ14P38	43. CGMJ14P53	
14. CGMJ14P24	29. CGMJ14P39	44. CGMJ14P54	
15. CGMJ14P25	30. CGMJ14P40	45. CGMJ14P55	

Tabel 3. Benih galur mandul jantan pembanding

GMJ Pembanding
1. NA
2. NB
3. NC
4. ND
5. NE
6. NF
7. NG

3.4 Pelaksanaan Penelitian

1. Kegiatan Pra Tanam

Kegiatan pra tanam yang dilakukan adalah menyiapkan bahan tanam serta merupakan proses awal. Penyiapan bahan tanam (benih) yang dilakukan pertama kali ialah kegiatan pengaturan benih (seed setting). Pengaturan benih adalah kegiatan pengurutan benih berdasarkan nomor dan kode benih yang kemudian dikemas dengan menggunakan plastik. Kegiatan pengaturan benih tersebut bertujuan untuk mempermudah dalam penanaman karena benih telah diurutkan berdasarkan nomor dan kode dari panen musim tanam sebelumnya. Sebelum benih ditanam, dilakukan

perendaman pada benih-benih yang sebelumnya telah dikemas menggunakan plastik dan telah dilubangi. Perendaman benih selama 1 x 24 jam dan ditiriskan \pm 2 x 24 jam. Perendaman benih ini bertujuan untuk memecah masa dormansi benih agar benih dapat tumbuh dengan cepat pada saat proses penyemaian.

2. Pengolahan Lahan

Pengolahan lahan dilakukan dengan membajak tanah sebanyak dua kali. Pembajakan pertama dilakukan untuk membalik tanah dan pembajakan yang kedua dilakukan 5 hari sebelum benih disemai. Lahan yang telah digenangi, sebelum dilakukan penyemaian dan penanaman maka air dalam lahan harus dialirkan keluar agar benih tidak tergenang dan lahan siap untuk penyemaian dan penanaman.

3. Pindah Tanam

Pindah tanam dilakukan pada tanaman berumur \pm 21 hari setelah semai (HSS). Bibit ditanam sesuai dengan pengacakan perlakuan yang telah dilakukan. Jarak tanam tiap perlakuan yang digunakan adalah 20 x 20. Jarak tanam antar perlakuan ialah 40 cm. Calon galur CMS ditanam berdampingan dengan galur pelestariannya (maintener). Jumlah bibit perlubang tanam ialah satu bibit dengan kedalaman tanam \pm 2-3 cm. Apabila bibit ditanam dengan kedalaman kurang dari 2 cm bibit tersebut akan mudah rebah.

4. Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman yang dilakukan sama dengan pemeliharaan tanaman padi pada umumnya. Kegiatan pemeliharaan yang dilakukan meliputi penyulaman, pemupukan, pengairan, penyiangan dan pengendalian hama penyakit tanaman. Penyulaman segera dilakukan apabila terdapat tanaman dengan pertumbuhan yang kurang baik atau mati. Penyulaman dilakukan maksimal satu minggu setelah pindah tanam agar pertumbuhan tetap seragam. Penyulaman dilakukan dengan cara mengganti tanaman dengan bibit sisa semai sebelumnya. Pengairan dilakukan mulai

tanaman berumur 5 hari setelah tanam (HST). Penyiangan dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada tanaman berumur 25 hst dan 50 hst.

Pupuk yang digunakan ialah pupuk Urea 20,7 kg/ha, SP36 100 kg/ha dan KCl 100 kg/ha. Sepertiga dosis Urea dan seluruh dosis SP36, KCl diberikan sebagai pupuk dasar pada saat tanam. Sedangkan sisanya diberikan masing-masing sepertiga saat 3 minggu setelah tanam (MST) dan sepertiga saat 6 MST. Pengendalian gulma menggunakan herbisida Ally Plus 77WP dengan bahan aktif metil metsulfuron 0,7%, etil klorimuron 0,7%, 2,4D garam natrium 75% dan herbisida DMA6 825SL dengan bahan aktif 2,4-D Dimetil Amina 826 g/l (setara dengan asam 2,4-D 686 g/l). Pengendalian hama yaitu menggunakan insektisida Decis 2,5 EC dengan bahan aktif Deltamethrin 25 g/l. Insektisida tersebut digunakan pada saat terdapat serangan hama belalang pemakan daun padi karena insektisida ini bekerja pada serangga dengan cara kontak dan pencernaan. Untuk pengendalian penyakit yaitu hawar daun bakteri tidak dilakukan karena serangan dapat ditoleransi.

5. Panen

Panen dilakukan pada tanaman berumur \pm 90 hst. Panen dilakukan secara manual dengan menggunakan tangan dan pada masing-masing perlakuan diberi label agar hasil biji yang akan diamati tidak tercampur.

3.5 Variabel Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan adalah pengamatan karakter kuantitatif dengan 4 tanaman sampel dan karakter kualitatif dengan 1 tanaman sampel pada tanaman padi calon galur mandul jantan. Pengamatan kuantitatif yaitu jumlah anakan produktif, Jumlah gabah isi per malai, bobot 1000 butir (gram), umur berbunga (hst), tinggi tanaman (cm), jumlah malai/tanaman, panjang malai (cm). Pengamatan kualitatif yaitu persentasi sterilitas (%). Pengamatan pada penelitian ini dilakukan berdasarkan Tabel 4.

Tabel 4. Karakter Agronomi Tanaman Padi Hibrida yang Diamati

No	Karakter Agronomi	Keterangan
1.	Jumlah anakan produktif/tanaman	Jumlah anakan produktif dihitung dari seluruh anakan yang menghasilkan malai tiap tanaman.
2.	Jumlah gabah isi/ malai	Jumlah ini dihitung dari seluruh gabah bernas yang terdapat dalam tiap malai.
3.	Bobot 1000 butir (gram)	Pengamatan dilakukan dengan cara menimbang 1000 butir gabah bernas.
4.	Umur berbunga (hst)	Umur berbunga tanaman dihitung sejak tanam hingga 50% tanaman sudah berbunga.
5.	Tinggi tanaman (cm)	Tanaman diukur dari permukaan tanah sampai ujung daun tertinggi.
6.	Jumlah malai/tanaman	Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah malai pada tiap tanaman.
7.	Panjang malai (cm)	Panjang malai diukur dari leher sampai ujung malai.
8.	Persentase sterilitas tepung sari (%)	Sterilitas diketahui dengan mengamati tepungsari menggunakan mikroskop.

3.6 Metode Analisis Sterilitas Tepung Sari

Pengamatan kesuburan tepungsari dilakukan secara visual dan mikroskopik. Secara visual, tepung sari dinyatakan mandul apabila berwarna pucat sampai putih dengan benang sari kurus dan dinyatakan subur apabila benangsari berwarna kuning dan gemuk. Pengamatan mikroskopik hanya dilakukan pada tanaman yang teridentifikasi steril secara visual dengan pemberian larutan IKI 1% pada tepung sari dan kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Calon GMJ dinyatakan mandul apabila tepung sari setelah diberi larutan IKI 1% tidak memberikan reaksi pewarnaan (kuning jernih), sedangkan calon GMJ yang subur

(fertile) akan memberikan reaksi pewarnaan (warna hitam). Pengamatan sterilitas tepungsari dilakukan pada 1 tanaman sampel calon GMJ. Tiap tanaman diambil dua malai dan dalam satu malai diambil 4 spikelet. Penentuan persentase sterilitas tepung sari pada calon mandul galur jantan yaitu dengan cara menghitung banyaknya tepung sari yang mandul dan subur dibawah mikroskop dengan bantuan alat hand counter.

Tingkat sterilitas tepung sari dianalisis dalam bentuk data kualitatif. Penentuan persentase kemandulan tepung sari dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Rumanti, Satoto dan Yuniati., 2007) :

Kemandulan (%)	Keterangan	Indikator Pengamatan
100	CS	Seluruh tepung sari berwarna kuning jernih
91-99	S	Tepung sari yang berwarna kuning jernih antara 91-99%
71-90	PS	Tepung sari yang berwarna kuning jernih antara 71-90%
31-70	PF	Tepung sari yang berwarna kuning jernih antara 31-70%
21-30	F	Tepung sari yang berwarna kuning jernih antara 21-30%
0-20	FF	Tepung sari yang berwarna kuning jernih antara 0-20%

Keterangan : CS = Completely Sterile (mandul sempurna), S = Sterile (mandul), PS = Partially Sterile (mandul sebagian), PF = Partially Fertile (subur sebagian), F = Fertile (subur), FF = Fully Fertile (subur sempurna).

3.7 Analisis Data

Keragaman antar genotip di uji dengan analisis ragam dengan tingkat kepercayaan 5%. Analisis statistika yang digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada rancangan *Augmented Design* adalah sebagai berikut :

Tabel 5. Tabel dua arah untuk perbandingan dan blok (Virmani *et al.*, 1997)

Perbandingan (c)	Blok (r)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	x_1	x_2	x_3	C_1	M_1
B	x_4	x_5	x_6	C_2	M_2
C	x_7	x_8	x_9	C_3	M_3
D	x_{10}	x_{11}	x_{12}	C_4	M_4
E	x_{13}	x_{14}	x_{15}	C_5	M_5
F	x_{16}	x_{17}	x_{18}	C_6	M_6
G	x_{19}	x_{20}	x_{21}	C_7	M_7
Total	B_1	B_2	B_3	G	
Rata-rata blok	Y_1	Y_2	Y_3		X
Adjustment	a_1	a_2	a_3		

Keterangan :

- C_{1-7} = Total hasil masing-masing perbandingan pada semua blok
- B_{1-3} = Total hasil masing-masing blok
- G = Total hasil semua perbandingan pada keseluruhan blok
- M_{1-7} = c/r = Rata-rata masing-masing perbandingan pada semua blok
- Y_{1-3} = r/c = Rata-rata masing-masing blok
- X = G/rc = Rata-rata varietas pada semua blok
- a_{1-3} = $yr-x$ = Nilai penyesuaian pada masing-masing blok

Tabel 6. Tabel pengamatan dan penyesuaian (Virmani *et al.*, 1997)

Calon GMJ	Blok	Pengamatan	Penyesuaian
1	5	Y_{1j}	\hat{Y}_{1j}
2	3	Y_{2j}	\hat{Y}_{2j}
3	2	Y_{3j}	\hat{Y}_{3j}
4	2	Y_{4j}	\hat{Y}_{4j}
5	2	Y_{5j}	\hat{Y}_{5j}
...			
...			
50	5	Y_{50j}	\hat{Y}_{50j}

$$\hat{Y}_{ij} = Y_{ij} - a_j$$

Keterangan :

\hat{Y}_{ij} = Hasil pengamatan yang disesuaikan (adjusted)

Y_{ij} = Hasil pengamatan genotip ke-i pada blok ke-j

a_j = Nilai penyesuaian pada blok ke-j

Tabel 7. Anova untuk pembandingan (Septeningsih, 2013)

Sumber Keragaman	d.f	SS	MSS	Fhitung
Antar genotip (e)	e-1	eSS	eMS	eMS/EMS
Antar calon GMJ (v)	v-1	vSS	vMS	vMS/EMS
Antar pembandingan (c)	c-1	cSS	cMS	cMS/EMS
v x c	1	vcSS	vcMS	vcMS/EMS
Eror	c (r-1)	ESS	EMS	
Total	N-1	TSS		

Dimana :

- GCF (Faktor Koreksi) = GT^2/N
- $TSS = \sum_{i=1}^c \sum_{j=1}^b c_{ij}^2 + \sum_l^r v_l^2 - GCF$
- $eSS = \frac{\sum_l^c TC_l^2}{3} + \sum_l^v v_l^2 - GCF$
- $cCF = Tc^2/bc$
- $cSS = \frac{\sum_l^c TC_l^2}{3} - cCF$
- $vCF = Tv^2/v$
- $vSS = \sum_l^v v_l^2 - vCF$
- $vcSS = eSS - cSS - vSS$
- $ESS = TSS - eSS$
- $EMS = ESS / c (b-1)$

Hasil dari perhitungan di atas, dapat dilanjutkan dengan uji *Least Significant Increase* (LSI) dengan rumus (Anonymous, 2012) :

$$T \text{ hitung} = \frac{|A-B|}{\sqrt{SE \text{ beda 2 nilai rata-rata}}}$$

Dimana :

A = Nilai rata-rata perlakuan A

B = Nilai rata-rata perlakuan B

nilai T hitung tiap calon galur mandul jantan pada masing-masing karakter yang diamati kemudian dibandingkan dengan nilai t tabel untuk mengetahui genotip yang lebi baik dari pembandingnya.

Variasi Genetik untuk semua sifat yang diamati, dihitung dari koefisien keragaman genetik (KKG) sebagai berikut :

$$\text{Ragam genetik } (\sigma^2g) = \frac{KT_{\text{genotip}} - KT_{\text{galat}}}{\text{Ulangan } (r)}$$

$$\text{Ragam fenotip } (\sigma^2p) = \sigma^2g + \sigma^2e$$

$$\text{Ragam lingkungan } (\sigma^2e) = KTe$$

$$\text{Koefisien Keragaman Genetik (KKG)} = \sqrt{\frac{\sigma^2g}{\text{rata-rata}}} \times 100\%$$

Berdasarkan kriteria Lestari, Angelita dan Yudhistira (2007), koefisien keragaman genetik dibagi dalam empat kategori yaitu :

- Rendah ($0 < \text{KKG} \leq 25\%$)
- Agak rendah ($25\% < x \leq 50\%$)
- Cukup tinggi ($50\% < x \leq 75\%$)
- Tinggi ($75\% < x \leq 100\%$)

Pendugaan nilai heritabilitas (h^2) untuk karakter yang diamati, diduga dengan menggunakan rumus menurut Martono (2004) sebagai berikut :

$$h^2 = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_p} \times 100\%$$

dimana :

σ^2_g = ragam genetik

σ^2_p = ragam fenotip

Kriteria dugaan heritabilitas menurut Martono (2009) yaitu :

- Tinggi ($h^2 > 0,5$)
- Sedang ($0,20 \leq h^2 \leq 0,50$)
- Rendah ($0 < h^2 < 0,20$)

