

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi

Penelitian dilaksanakan selama dua bulan mulai dari bulan Nopember sampai Desember 2017. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Bambara Groundnut Research Centre* (BGRC) Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Gresik.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur-galur hasil persilangan tetua antara S19-3 dengan NAV-4, S19-3 dengan DIPC dan Uniswa red (URED) dengan DIPC koleksi *Bambara Groundnut Research Center* (BGRC) yang dipanen April 2014. Peralatan yang dibutuhkan meliputi: jangka sorong, peta tanam (*map*), *clip board*, timbangan analitik, marker, plastik klip, kamera dan alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor yang digunakan adalah tiga genotipa yaitu S19-3.21107 X NAV-4.2103, S19-3.22105 X DIPC.35105 dan URED.25105 X DIPC.34105 dengan jumlah ulangan masing-masing 31, seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Jumlah Ulangan pada Perlakuan Genotipa

No.	Genotipa	Ulangan
1.	S19-3.21107 X NAV4.2103	31
2.	S19-3.22105 X DIPC.35105	31
3.	URED.25105 X DIPC.34105	31

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Bahan Penelitian

Bahan penelitian berupa polong kering hasil panen April 2014 di Kebun Golokan Sidayu Gresik, dikumpulkan kemudian dikelompokkan berdasarkan lokasi tanam. Penentuan galur dilakukan berdasarkan peta lokasi tanam.

3.4.2 Karakterisasi

Karakterisasi polong bambara dilakukan untuk mengidentifikasi polong dan biji kacang bambara. Karakterisasi dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

1. Mengelompokkan polong berdasarkan lokasi tanam.
2. Membersihkan atau memisahkan polong yang baik dan sudah rusak.
3. Menghitung jumlah polong.
4. Menimbang bobot kering polong.
5. Memilih polong yang memiliki ukuran rata-rata.
6. Mengidentifikasi bentuk, warna dan tekstur polong.
7. Mengukur diameter polong dengan jangka sorong, kemudian mengambil gambarnya.
8. Mengupas polong.
9. Mengukur ketebalan kulit polong dengan jangka sorong, kemudian mengambil gambarnya.
10. Mengukur diameter biji dengan jangka sorong, kemudian mengambil gambarnya.
11. Mengidentifikasi warna dan bentuk biji, warna hilum, corak disekitar hilum dan ada atau tidaknya janggut pada biji.
12. Menimbang bobot kering biji.
13. Menghitung jumlah biji kering.

Karakterisasi dilakukan pada variabel kuantitatif dan kualitatif, seperti yang dituliskan pada Tabel 3.2 berikut ini.

Tabel 3.2. Lembar Karakterisasi Galur-galur Kacang Bambara

Galur	Lokasi/ Alamat	Jumlah PK	BK Polong	Bentuk PK	Warna PK	Ø PK	Tekstur Polong	Ketebalan Kulit	Bentuk Biji	Warna Testa	Ø Biji	Warna Hilum	Bentuk Hilum	Corak	Janggut	BK Biji	Jumlah Biji
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
Dst.																	
93																	

3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap variabel kuantitatif dan kualitatif, yaitu:

3.5.1 Variabel Kuantitatif

Variabel pengamatan kuantitatif merupakan variabel pengamatan yang terukur dan dinyatakan dengan angka. Variabel pengamatan ini meliputi jumlah polong kering, bobot kering polong, diameter polong, ketebalan kulit, diameter biji, bobot kering biji dan jumlah biji.

Tabel 3.3 Tabel Pengamatan Variabel Kuantitatif

Variabel Kuantitatif	Cara Pengamatan	Satuan	Alat
Jumlah polong kering	Menghitung jumlah polong yang kondisinya baik		Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>
Bobot kering polong	Menimbang polong kering berkondisi baik dengan timbangan analitik	gram	Timbangan analitik, Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>
Diameter polong	Mengukur diameter polong dengan mengambil satu	mikron	Jangka sorong, Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>

	sampel polong yang ukurannya seragam		<i>board</i>
Ketebalan kulit	Mengukur ketebalan kulit polong	mikron	Jangka sorong, Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>
Diameter biji	Mengukur diameter biji dengan mengambil satu sampel biji yang ukurannya seragam	mm	Jangka sorong, Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>
Bobot kering biji	Menimbang biji berkondisi baik dengan timbangan analitik	gram	Timbangan analitik, Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>
Jumlah biji	Menghitung jumlah biji yang kondisinya baik		Bolpoin, Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>

3.5.2 Variabel Kualitatif

Pengamatan kualitatif merupakan pengamatan yang dinyatakan dalam bentuk deskripsi. Pengamatan kualitatif dilakukan berdasarkan panduan *Descriptor of Bambara Groundnut* dari IPGRI, IITA, BAMNET (2000). Variabel kualitatif meliputi bentuk polong, warna polong, tekstur polong, warna testa, bentuk biji, warna hilum, bentuk hilum, corak sekitar hilum dan janggut pada biji.

Tabel 3.4 Tabel Pengamatan Variabel Kualitatif

Variabel Kualitatif	Cara Pengamatan	Kriteria	Alat
Bentuk polong	Mengamati bentuk polong kemudian mencocokkan dengan panduan dari IPGRI, IITA dan BAMNET (2000)	Bentuk1, Bentuk 2, Bentuk 3, Bentuk 5	Bolpoin, Panduan <i>Descriptor of Bambara Groundnut</i> dari IPGRI, IITA, BAMNET (2000), Lembar karakterisasi, <i>Clip board</i>
Warna polong	Mengamati polong kemudian mencocokkan dengan panduan	<i>Black</i> , <i>Brown</i> , <i>Yellowish brown</i>	<i>board</i>

	dari IPGRI, IITA dan BAMNET (2000)	
Tekstur polong	Meraba polong kemudian mencocokkan dengan panduan dari IPGRI, IITA dan BAMNET (2000)	<i>Little groove, Much groove, Much folded, Smooth</i>
Warna testa	Mengamati warna testa pada biji kacang bambara	<i>Black, Brown, Cream, Dark brown, Dark red, Dark purple, Light brown, Light red</i>
Bentuk biji	Mengamati bentuk polong kemudian mencocokkan dengan panduan dari IPGRI, IITA dan BAMNET (2000)	Oval, Bulat
Warna hilum	Mengamati warna hilum biji kacang bambara	Putih, Cream, Coklat
Bentuk hilum	Mengamati bentuk hilum biji kacang bambara	Oval, Oval memanjang
Corak sekitar hilum	Mengamati corak disekitar hilum kemudian mencocokkan dengan panduan dari IPGRI, IITA dan BAMNET (2000)	Corak 1, Corak 2, Corak 3, Corak 4, Corak 7
Janggut pada biji	Meraba biji kacang bambara disekitar hilum	Ada, Tidak ada

3.6 Analisis Data

3.6.1 Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

Analisis sidik ragam dilakukan untuk mengetahui pengaruh nyata perlakuan melalui Uji F 5% dan 1%. Analisis menggunakan *software* Minitab 13, *General Linear Model*. Genotipa perlakuan yang memperlihatkan pengaruh signifikan terhadap variabel kuantitatif kemudian diuji lebih lanjut oleh $BNT_{0.05}$.

$$BNT_{0.05} = t_{0.05} (\text{db galat}) \times \sqrt{\frac{2 (\text{KTG})}{r}}$$

Keterangan:

$t_{0.05}$ = nilai Tabel t dengan db galat (derajat bebas galat)
KTG = Kuadrat Tengah Galat
r = jumlah ulangan

3.6.2 Nilai Koefisien Keragaman Genotip (KKG) dan Koefisien Keragaman Fenotip (KKF)

Perhitungan Koefisien Keragaman Genetik (KKG) dan Koefisien Keragaman Fenotip (KKF) menurut Singh dan Chaudhary (1985) adalah sebagai berikut:

$$KKG = \frac{\sqrt{\delta^2 g}}{\bar{x}} \times 100\% \quad \text{dimana } \delta^2 g = \frac{KTg - KTe}{r}$$

$$KKF = \frac{\sqrt{\delta^2 p}}{\bar{x}} \times 100\% \quad \text{dimana } \delta^2 p = \delta^2 g + \delta^2 e$$

Keterangan:

KKG = Koefisien Keragaman Genetik
KKF = Koefisien Keragaman Fenotip
 $\delta^2 g$ = Ragam Genotip
 $\delta^2 p$ = Ragam Fenotip
 $\delta^2 e$ = Ragam Lingkungan
 \bar{x} = Rata-rata Seluruh Populasi tiap Sifat

Berdasarkan kriteria Miligan *et al.* (1996), koefisien keragaman genetik dibagi dalam tiga kategori yaitu: rendah = < 5%, sedang = 5-14%, tinggi = > 14,5%. Sedangkan nilai KKF dikategorikan sebagai berikut: rendah = 0-10%, sedang = 10-20%, tinggi = > 20% (Knight, 1979).

3.6.3 Heritabilitas

Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk menaksir nilai heritabilitas. Pemilihan metode berdasarkan cara perkembangbiakan tanaman yang diteliti. Heritabilitas berguna untuk mengetahui adanya perbedaan genotipa dari tanaman asal biji hasil persilangan. Pertama kali tanaman asal biji perlu dikembangkan secara vegetatif agar diperoleh bibit yang cukup untuk ditanam pada percobaan Rancangan Acak Lengkap. Tanaman yang berasal dari satu biji merupakan perlakuan dan karena dikembangkan secara vegetatif maka tanaman dari satu biji tersebut mempunyai genotip yang sama. Apabila ada a biji yang dipelajari, maka ada a perlakuan.

Analisis sidik ragam (anova) tiap variabel genotipa kacang bambara dilakukan mengikuti metode yang dikemukakan oleh Singh dan Chaudhary (1979) dan Falconer (1989) sebagai berikut:

Tabel 3.5. Analisis Sidik Ragam (Anova) untuk Pengujian Heritabilitas

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Taksiran Kuadrat Tengah	F _{hitung}
Genotipa	g-1	JK _g	KT _g	$\delta^2_e + r(\delta^2_g)$	KT _g /KT _e
Galat	r(g-1)	JK _e	KT _e	δ^2_e	
Total	rg-1	JK _t			

Keterangan: r = ulangan
 δ^2_e = ragam lingkungan
 δ^2_g = ragam genetik

Dari hasil analisis diatas dapat diketahui bahwa δ^2_e nilainya sama dengan KT_e . Selanjutnya dapat dihitung δ^2_g berdasarkan taksiran bahwa $KT_g = \delta^2_e + r \delta^2_g$. Setelah diperoleh nilai δ^2_g maka dapat dihitung heritabilitas sifat dengan persamaan diatas. Metode ini dapat digunakan juga untuk mengetahui perbedaan genotipa keturunan hasil persilangan antara dua tetua tanaman menyerbuk sendiri. Selain itu, digunakan untuk heritabilitas dari populasi jenis yang biasanya terdiri dari genotipa berbeda.

Nilai heritabilitas arti luas dihitung berdasarkan rumus Zen (2012):

$$\delta^2_e = KT_g \qquad \delta^2_p = \delta^2_g + \delta^2_e$$

$$\delta^2_g = \frac{KT_g - KT_e}{r} \qquad h^2 = \frac{\delta^2_g}{\delta^2_p} 100\%$$

Keterangan:

- KT_g : kuadrat tengah genotip
- KT_e : kuadrat tengah galat
- δ^2_g : ragam genetik
- δ^2_e : ragam lingkungan
- δ^2_p : ragam fenotip

Stanfield (1983) mengelompokkan nilai heritabilitas tinggi ($50% < h^2 < 100%$), sedang ($20% < h^2 < 50%$) dan rendah ($h^2 < 20%$).

3.6.4 Kemajuan Genetik

Nilai kemajuan genetik dan kemajuan genetik harapan dihitung dengan rumus Singh dan Caudhary (1789) *dalam* Suprpto dan Narimah (2007) sebagai berikut:

$$KG = i \cdot \sigma_p \cdot H$$

$$\%KGH = \frac{KG}{\mu}$$

Keterangan:

KG = kemajuan genetik

i = intensitas seleksi 10% (1,79)

σ_p = simpangan baku fenotip

H = heritabilitas dalam arti luas

%KGH= persentase keragaman genetik harapan

μ = nilai rata-rata variabel kuantitatif