

III. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di kebun tanaman buah naga Sabila *Farm* Desa Pakembinangun Kecamatan Pakem kabupaten Sleman, Yogyakarta yang telah berproduksi dan berumur 5 tahun dan di Laboratorium Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai Nopember 2010.

Alat dan Bahan

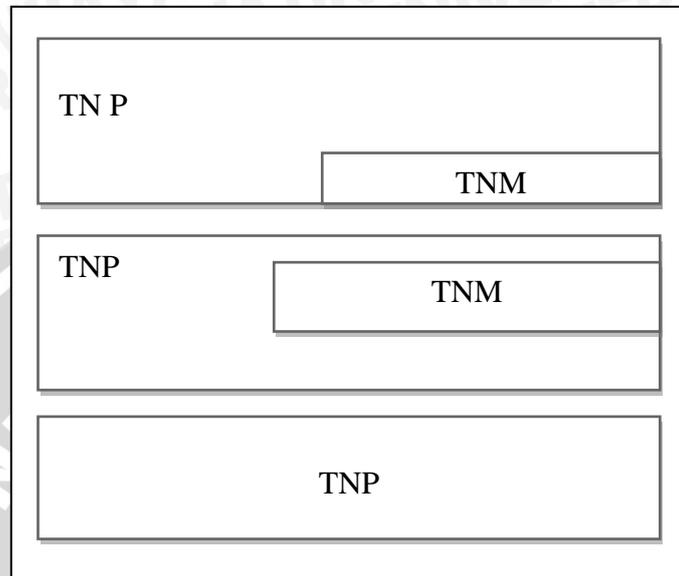
Alat-alat yang digunakan untuk pengambilan sampel dilapang yaitu kantong plastik (p=15 cm, l=10 cm), pisau, kuas, fial film, tali, tiang bambu (p= 2 m), gelas plastik berwarna kuning, gelas plastik (v= 240 ml, d permukaan atas= 7cm), nampan plastik (d= 30 cm) dan lampu (220 watt) sedangkan alat yang digunakan pada penelitian di laboratorium yaitu autoclave, oven, cawan Petri (d= 9 cm), jarum Ose, pinset, pipet, Bunsen, mikroskop monokuler, tabung erlenmeyer (v= 250 ml), gelas ukur, gelas obyek, botol spray, timbangan, panci, kompor listrik, botol media, pisau, kamera digital *Sony cyber-shot* lensa *Carlzeiss* ukuran 7,2 Mega Pixels.

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA), khloroform, alkohol 70 %, detergen, vaselin, aquades steril, spiritus, tissue, alumunium foil, kapas dan plastik wrapping, hama yang ditemukan, contoh tanaman naga yang terserang (varietas buah naga merah dan buah naga putih), buku identifikasi serangga oleh Borror (1996), buku identifikasi bakteri oleh Williams dan Walkins (1974) dan buku identifikasi penyakit oleh Barnet (1960).

Lahan Tanaman buah naga

Pengamatan hama dan penyakit dilakukan pada tanaman buah naga putih dan tanaman buah naga merah. Luas total lahan kedua jenis tanaman buah naga adalah 1,7 ha. Luas lahan tanaman buah naga putih 16.730 m² dan luas tanaman buah naga merah 270 m². Pada lahan ini terdapat 1856 tanaman buah naga putih

dan 43 tanaman buah naga merah dengan jarak tanam 2,5m x 2,5m. Tanaman buah naga merah terletak di bagian tengah lahan (Gambar 1).



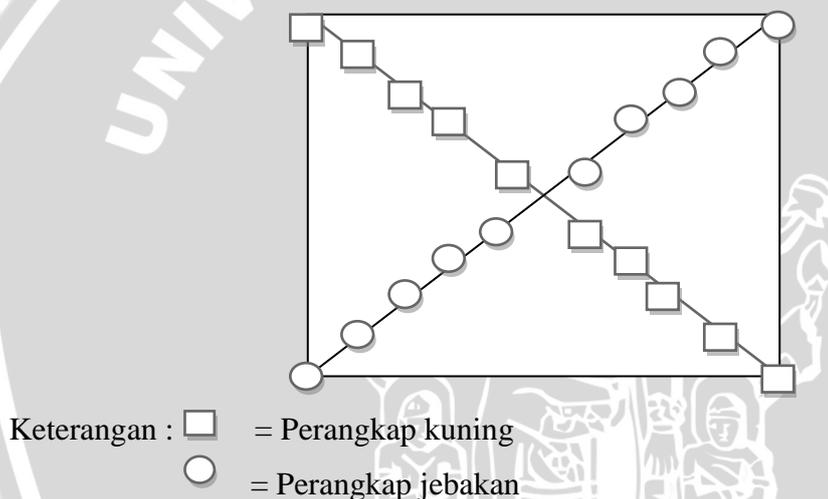
Keterangan : TNP = Tanaman Buah Naga Putih
TNM = Tanaman Buah Naga Merah

Gambar 1. Letak tanaman buah naga putih dan tanaman buah naga merah

Studi Populasi Hama

Studi populasi hama dilakukan pada tanaman buah naga putih dan tanaman buah naga merah. Pemerangkapan hama yang bersayap digunakan perangkap kuning yang berupa gelas plastik yang dicat berwarna kuning dan pada bagian luar diolesi vaselin. Gelas plastik dipasang dengan menggunakan tiang bambu yang dipasang berjarak 50 cm dari tanaman. Perangkap kuning dipasang sebanyak 10 buah dan masing-masing perangkap dipasang secara diagonal (Gambar 2). Hama yang menempel pada dinding luar gelas diambil dengan menggunakan kuas dan dimasukkan ke dalam fial film yang berisi alkohol. Hama yang tidak bersayap diambil dari batang atau cabang dengan menggunakan kuas dan dimasukkan ke dalam fial film atau kantong plastik. Pengambilan contoh hama dilakukan seminggu sekali selama 8 minggu.

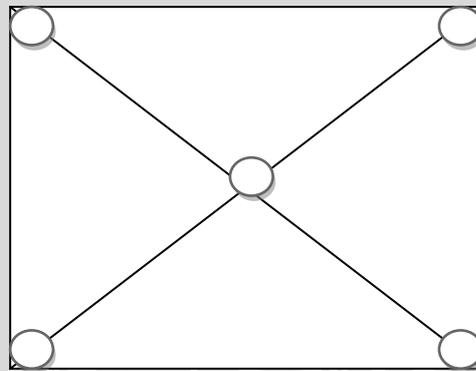
Hama yang berada di permukaan tanah diperangkap dengan menggunakan lubang perangkap yang terbuat dari gelas plastik dengan kedalaman gelas 10 cm. Setiap gelas diisi dengan formalin 4% sebanyak 60 ml. Perangkap diletakkan pada tanah yang telah dilubangi terlebih dahulu dengan menggunakan sekop dan kedalaman lubang disesuaikan dengan tinggi gelas. Perangkap dipasang sebanyak 10 buah (Gambar 2) dan tiap satu tanaman dipasang satu perangkap dengan jarak 10 cm dari tanaman. Pemasangan perangkap jebakan dilakukan selama 24 jam pada tiap minggu dan dilakukan sebanyak 8 kali. Selanjutnya, serangga yang didapatkan kemudian dimasukkan pada kantong plastik.



Gambar 2. Letak pemasangan perangkap hama pada lahan

Hama yang beraktifitas pada malam hari diperoleh dengan menggunakan lampu perangkap. Lampu perangkap yang digunakan adalah lampu dengan daya 220 watt yang dipasang sebanyak 5 buah. Lampu dipasang dengan menggunakan tiang penyangga bambu setinggi 50 cm dan nampan plastik yang berisi air detergen diletakkan dibawah lampu. Masing-masing lampu diletakkan dibagian pinggir dan tengah area lahan. Lampu perangkap dinyalakan mulai dari pukul 18.00 WIB hingga pukul 05.00 WIB. Setelah serangga mendekat ke sumber cahaya yang cukup panas, serangga akan jatuh kedalam nampan yang berisi larutan detergen dan mati. Keesokan harinya serangga yang telah mati diambil

dari nampan plastik yang berisi deterjen. Kemudian serangga dimasukkan kedalam kantung plastik. Setelah itu, kapas berukuran 2 cm yang telah ditetesi khlorofom dimasukkan kedalam kantung plastik. Khlorofom berfungsi untuk membunuh serangga. Serangga yang mati didalam kantung plastik diambil dengan menggunakan kuas atau pinset. Kemudian serangga tersebut dimasukkan ke dalam fial film yang berisi dengan alkohol 70 %. Serangga dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi di bawah mikroskop monokuler. Hama diidentifikasi berdasarkan bentuk dan ciri morfologi menggunakan buku identifikasi serangga Borror (1996).



Keterangan : ○ = Lampu perangkap

Gambar 3. Letak pemasangan lampu perangkap pada lahan

Studi Gejala Penyakit

Studi gejala penyakit pada tanaman buah naga putih dan tanaman buah naga merah dilakukan pada batang atau cabang tanaman yang bergejala diambil dengan cara dipotong atau dikorek dengan menggunakan pisau dan dimasukkan ke dalam kantung plastik. Satu kantung plastik berisikan satu macam patogen tanaman.

Organisme penyebab penyakit diperoleh dengan cara membiakkan penyebab penyakit dengan melakukan prosedur Postulat Koch (Sutedjo, 1996).

Sebelum dilakukan Postulat Koch maka terlebih dulu dilakukan sterilisasi alat dan pembuatan media sebagai berikut :

Sterilisasi Alat. Sterilisasi alat bertujuan agar alat yang digunakan steril atau bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan kehadirannya. Sterilisasi ini dilakukan dengan menggunakan *autoclave*. Alat yang akan disterilkan dicuci dengan air lalu dikeringkan dan kemudian dibungkus dengan kertas, setelah itu dimasukkan ke dalam *autoclave* dan disterilkan dengan suhu 121°C selama 1 jam. Setelah alat-alat yang akan dipergunakan untuk pembiakkan patogen steril, maka selanjutnya adalah pembuatan media tumbuh PDA yang diuraikan dibawah ini.

Pembuatan Media tumbuh PDA. Pembuatan media tumbuh PDA digunakan sebagai media tumbuh patogen jamur maupun bakteri. Bahan untuk media PDA yaitu dengan menggunakan bahan kentang sebanyak 200 gram, dextrose 20 gram, agar 20 gram, dan aquades steril 1 liter. Kentang dikupas kemudian dicuci dan diiris dadu dengan ukuran 1×1 cm. Kemudian kentang direbus dalam panci dengan aquades selama 20 menit dan irisan kentang dipisahkan untuk diambil airnya. Dextrose dan agar ditambahkan ke dalam air rebusan kentang dan diaduk sambil menambahkan aquades hingga mencapai volume 1 liter. Kemudian campuran bahan tersebut direbus kembali hingga mendidih dan selanjutnya dituangkan ke dalam tabung erlemeyer. Tiap tabung diisi sebanyak 200 ml dan ditutup dengan aluminium foil, Kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C , tekanan 1 Atm selama 15-20 menit.

Setelah media PDA sudah terbentuk maka dilakukan Postulat Koch. Tahapan metode Postulat Koch diuraikan sebagai berikut:

Isolasi Patogen. Contoh batang atau cabang yang bergejala kemudian dipotong dengan cara mengambil $\frac{1}{2}$ bagian yang sakit dan $\frac{1}{2}$ bagian yang sehat dengan ukuran lebih kurang 1 mm^2 . Potongan batang tersebut kemudian dijepit di bagian yang sehat dengan pinset dan dibilas dengan menggunakan alkohol 70% selama 3 detik. Kemudian dicelupkan ke dalam larutan clorox 1,25% selama 3 menit dan selanjutnya dicelupkan pada aquades yang diletakkan pada cawan Petri selama lebih kurang 2 menit. Pencelupan pada aquades dilakukan sebanyak dua kali pada cawan Petri yang berbeda. Kemudian potongan batang tersebut

dikeringkan dengan kertas saring agar kering. Setelah itu isolat tersebut diletakkan ditengah-tengah media PDA. Kemudian cawan petri yang berisi media PDA ditutup dengan plastik pelekat agar tidak terkontaminasi, dan diinkubasi selama lebih kurang 3 hari. Setelah masa inkubasi akan muncul hifa sebagai jamur dan koloni basah yang berwarna keruh sebagai bakteri. Patogen yang tumbuh pada media tidak selalu murni tumbuh hanya satu organisme. Oleh karena itu, untuk mendapatkan biakan patogen murni maka dilakukan pemurnian pada media PDA baru.

Pemurnian. Organisme patogen yang muncul di media PDA kemudian dipisahkan dengan cara setiap patogen ditumbuhkan pada media PDA baru. Tujuan dari penumbuhan ini adalah untuk memisahkan setiap spesies jamur atau bakteri sehingga dapat memudahkan dalam identifikasi. Biakan jamur pada media PDA diambil sedikit dengan menggunakan jarum Ose, kemudian ditanam dengan cara meletakkan isolat pada media PDA baru. Selanjutnya diinkubasi selama kurang lebih 7 hari. Pada umumnya dalam 7 hari jamur sudah mulai tumbuh dan dapat dilakukan identifikasi.

Bakteri yang tumbuh pada media PDA dapat melalui proses pemurnian dengan cara memindahkan biakan bakteri dengan menggunakan jarum Ose pada media PDA baru dengan metode goresan (streak). Dalam waktu kurang lebih 7 hari bakteri sudah mulai tumbuh dan dapat dilakukan identifikasi.

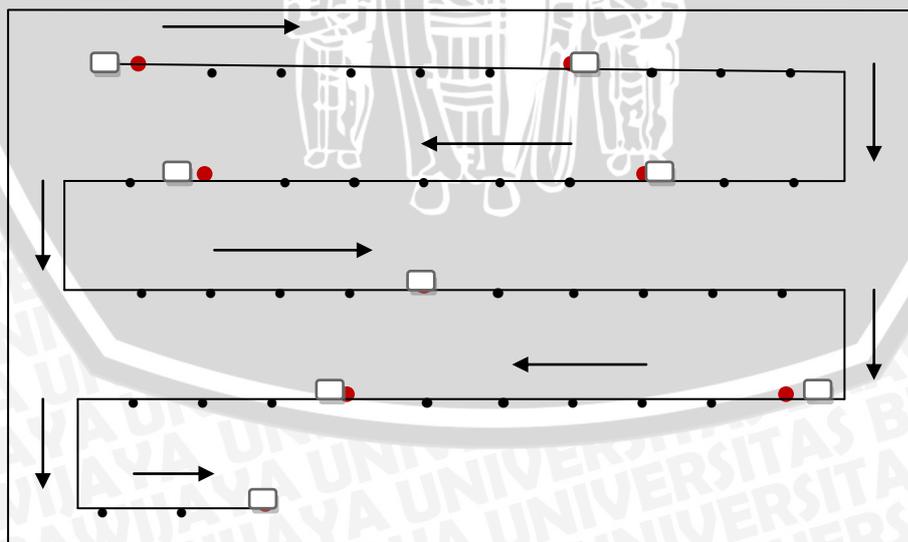
Identifikasi. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui jenis patogen penyebab penyakit. Identifikasi jamur dan bakteri dilakukan menggunakan hasil biakan murni yang diambil sedikit dengan menggunakan jarum Ose kemudian diletakkan di gelas obyek dan diberi sedikit air. Setelah itu, ditutup dengan menggunakan gelas penutup dan diamati di bawah mikroskop monokuler. Identifikasi isolat jamur dan bakteri yang berhasil di reisolasi pada metode Postulat Koch, dilihat berdasarkan ciri morfologi jamur dan bakteri tersebut. Selanjutnya disesuaikan dengan kunci identifikasi penyakit Barnet (1960) dan identifikasi bakteri dilakukan dengan panduan Williams dan Walkins (1974). Setelah diketahui nama spesies patogen melalui identifikasi maka dapat

dilanjutkan dengan inokulasi pada tanaman sehat sesuai dengan bagian tanaman yang terserang sebelumnya.

Inokulasi. Inokulasi bertujuan untuk memastikan isolat yang telah berhasil dikembangbiakkan pada PDA dapat memunculkan gejala yang sama seperti gejala sebelumnya. Inokulasi dilakukan pada batang tanaman naga sehat dengan cara isolat dari biakan murni yang telah dikembangbiakkan di PDA diambil menggunakan jarum Ose dan kemudian ditusukkan pada batang tanaman. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai timbul adanya gejala.

Penetapan Tanaman Contoh Untuk Pengamatan Tingkat Kerusakan Hama Dan Penyakit

Tanaman contoh ditetapkan sebanyak 20% dari jumlah populasi tanaman. Pemilihan tanaman contoh dilakukan dengan cara metode baris (Gambar 4). Dari metode baris didapatkan 378 tanaman contoh. Jarak tanaman contoh nomor kedua, terletak pada urutan tanaman ke-7, kemudian tanaman contoh nomor ketiga berada pada urutan tanaman ke-13 dan seterusnya. Tanaman contoh diamati dari pangkal batang hingga cabang.



Keterangan: • = tanaman buah naga, □ = tanaman contoh

Gambar 4. Letak Penetapan Tanaman Contoh

Intensitas serangan hama. Hama yang sering menyerang tanaman buah naga putih dan tanaman buah naga merah dinilai berdasarkan tingkat kerusakan yang ditimbulkannya. Tingkat kerusakan tanaman akibat serangan hama dapat diperoleh dari hasil pengamatan gejala secara visual pada setiap batang dan menghitung populasi hama pada batang tersebut. Tingkat kerusakan dihitung berdasarkan rumus dan nilai berikut.

$$I = \frac{\sum (n_i \times v_j)}{Z \times N} \times 100\%$$

yang I, adalah tingkat kerusakan (%), n_i adalah jumlah batang yang terserang dengan klasifikasi tertentu, v_j adalah nilai unuk klasifikasi kerusakan tertentu, Z adalah nilai tertinggi dalam klasifikasi, N adalah jumlah tanaman yang diamati. Klasifikasi tingkat kerusakan diatas disajikan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Klasifikasi tingkat kerusakan batang atau cabang tanaman buah naga

Tingkat kerusakan	Tanda kerusakan pada	Nilai
Sehat	Batang atau cabang $\leq 5\%$	0
Ringan	Batang atau cabang antara 5%-25%	1
Agak berat	Batang atau cabang antara 26%-50%	2
Berat	Batang atau cabang antara 51%-75%	3
Sangat berat	Batang atau cabang $\geq 75\%$	4

Intensitas serangan penyakit. Penyakit yang sering menyerang tanaman buah naga dapat disebabkan oleh bakteri maupun jamur dengan gejala serangan secara lokal atau sistemik.

Tingkat kerusakan yang disebabkan oleh jamur dengan gejala serangan secara lokal pada tanaman berdasarkan pengamatan dihitung dengan rumus menurut Abadi (2003) :

$$I = \frac{\sum (n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

yang I, adalah intensitas serangan (%), n adalah jumlah batang dalam tiap kategori serangan, v adalah nilai skoring berdasarkan luas seluruh batang tanaman yang terserang, Z adalah nilai kategori serangan tertinggi (v=5), N adalah jumlah tanaman yang diamati. Nilai tingkat kerusakan seperti disajikan pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Nilai tingkat kerusakan batang yang disebabkan oleh patogen

Tingkat kerusakan	Tanda kerusakan pada	Nilai
Sehat	Tanaman tidak terserang (sehat)	0
Sangat Ringan	Batang antara 1-20%	1
Ringan	Batang antara 21-40%	2
Agak berat	Batang antara 41-60%	3
Berat	Batang antara 61-80%	4
Sangat berat	Batang antara 81-100%	5

Tingkat intensitas kerusakan yang disebabkan oleh bakteri dan jamur dengan gejala serangan secara sistemik pada tanaman dihitung berdasarkan rumus Ditlin Tanaman Pangan (2000) berikut.

$$I = \frac{a}{a + b} \times 100\%$$

yang I, adalah intensitas serangan (%), a adalah banyaknya tanaman yang rusak atau menunjukkan gejala serangan, b adalah banyaknya tanaman yang tidak rusak (tidak menunjukkan gejala serangan).

Analisis data

Analisis yang digunakan untuk mengetahui intensitas serangan hama dan penyakit pada kedua jenis tanaman buah naga adalah menggunakan analisis *One Sample Test (T-Test)*, dan apabila terdapat perbedaan yang nyata antar serangan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji t dengan menggunakan *SPSS 13.0 for windows*. Jika $t_{hitung} > t_{tabel}$ atau $Sig\ t < level\ of\ significant\ (\alpha)$, maka hasilnya adalah nyata dan berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima. Sedangkan jika $t_{hitung} < t_{tabel}$ atau $Sig\ t > level\ of\ significant\ (\alpha)$, maka hasilnya tidak nyata dan berarti H_0 diterima dan H_1 ditolak.

