

III. METODOLOGI

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya pada bulan Januari sampai bulan Juni 2014.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah nampan, baki, pot, ember, *termohidrometer*, kamera, tusuk *ice cream*, *aspirator*, plastik ukuran $\frac{1}{4}$ kg, mistar(cm) dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah kurungan atau sangkar yang ditutup dengan kain kasa dengan ukuran (tinggi 140cm, panjang 80cm, lebar 55cm), kertas label, tanah, *aquadest*, pupuk urea sebagai nutrisi bagi tanaman, lima benih galur padi (P90, P39, P61, D dan 25A) dan tujuh benih Varietas padi (Varietas Sembada, Varietas Long Ping, Varietas Ciherang, Varietas Devgen, Varietas Hipa8, Varietas Inpari13 dan Varietas IR64) yang diuji pada penelitian ini adalah galur dan varietas milik Perusahaan Swasta *Research-Rice* sebanyak 12 dan diulang sebanyak tiga kali, dalam satu ulangan terdapat dua tanaman, dengan model rancangan percobaan penelitian pada (Gambar lampiran. 1).

Metode Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, dengan 12 perlakuan dan tiga ulangan, sebagai berikut:

V1 = Varietas Sembada	V8 = Varietas Hipa8
V2 = Varietas Long Ping	V9 = Galur D
V3 = Galur P90	V10 = Galur 25A
V4 = Varietas Ciherang	V11 = Varietas Inpari13
V5 = Varietas Devgen	V12 = Varietas IR64
V6 = Galur P39	
V7 = Galur P61	

Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi beberapa kegiatan yaitu penyediaan inokulum, persiapan media tanam, penanaman benih (persemaian) dan pindah tanam (*transplanting*).

A. Penyediaan Inokulum

Penyediaan inokulum dilakukan dengan perbanyak serangga penular, yang bertujuan untuk perantara menginfeksi virus tungro ketanaman uji. Tahapan untuk penyediaan inokulum adalah:

1. Pencarian serangga vektor (imago *N. virescens*) di daerah endemik tungro (Lamongan, Pasuruan dan Lawang-Malang), pengambilan serangga dengan cara dihisap menggunakan selang yang diberi kain kasa (*aspirator*).
2. Pengambilan tanaman sakit di lapang (daerah endemik tungro di Lawang-Malang), sebagai tanaman sumber inokulum (Gambar lampiran. 16).
3. Serangga dari lapang dilepaskan pada sangkar atau kurungan yang ditutup dengan kain kasa (Gambar lampiran. 15) untuk diperbanyak dan diberi pakan tanaman padi yang masih muda (umur 6-30 hari setelah semai) secara terus-menerus.
4. Setelah 60 hari, diberi pakan tanaman sakit dari daerah endemik agar serangga infeksiif membawa virus tungro (Gambar lampiran. 17).
5. Serangga siap untuk menularkan virus ke tanaman sehat.

B. Persiapan Media Tanam

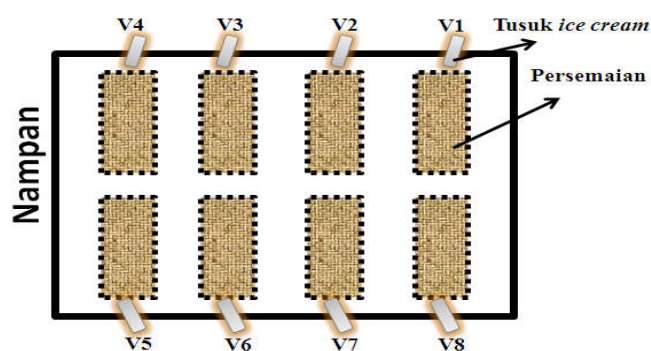
Persiapan media tanam bertujuan untuk tempat penanaman setiap tanaman uji. Persiapan media tanam dilakukan dengan cara:

1. Menggemburkan tanah sawah yang masih menggumpal dengan menggunakan balok kayu dan ditambahkan air agar tanah tidak keras.
2. Tanah yang sudah digemburkan dicampur dengan kompos (membeli) dengan perbandingan 4:2. Dengan cara diaduk-aduk menggunakan tangan dan dibantu dengan alat bangunan (*cethok*) agar merata.
3. Tanah yang sudah tercampur dikeringanginkan selama 7 hari.
4. Kemudian media tanam (campuran tanah dan kompos) dimasukkan kedalam nampan untuk persemaian tanam uji dan baki untuk persiapan *transplanting*.

C. Persemaian Benih Padi

Persemaian varietas uji dilakukan setelah jumlah serangga vektor dan inokulum memenuhi untuk penularan penyakit. Langkah-langkah untuk persemaian yaitu:

1. Benih (12 tanaman uji) direndam *aquadest* selama 18 jam untuk memecah masa dormansi agar pertumbuhan di media tanam lebih cepat dan tidak membusuk.
2. Benih disemai pada media tanam (nampan), satu nampan disemai beberapa galur dan varietas sesuai dengan kebutuhan benih yang akan digunakan. Setiap galur dan varietas diberi jarak agar pertumbuhan masing-masing tanaman uji tidak tercampur (Gambar lampiran. 19).
3. Masing-masing galur dan varietas diberi tusuk *ice cream* dan label sesuai varietas, bertujuan untuk membedakan setiap tanaman uji (Gambar 4).
4. Benih yang sudah disemai disiram dengan air sampai jenuh agar mempercepat pertumbuhan benih padi.



Gambar 4. Sketsa Persemaian Benih Padi pada Nampan

D. *Transplanting*

Pemindahan tanaman dari persemaian ke pot atau baki bertujuan untuk mempercepat pertumbuhan agar tidak terjadi persaingan nutrisi untuk pertumbuhan tanaman padi.

Pindah tanam dilakukan setelah persemaian berumur 20 hingga 24 HSS dengan cara mencabut bibit persemaian dan ditanam pada media tanam (pot/baki). Pada setiap media tanam ditanami dua tanaman dan

setiap media tanam ditanam galur dan varietas yang berbeda. Media tanam (pot/baki) yang sudah di tanam galur dan varietas uji diberi label dan dimasukkan didalam sangkar untuk siap diinokulasi. Inokulasi dilakukan selama dua hari, kemudian tanaman uji dikeluarkan untuk perawatan dan pengamatan gejala infeksi.



Gambar 5. Proses *Transplanting*, (a) benih padi dalam persemaian, (b) benih dari persemaian *ditransplanting* kedalam baki/pot

Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari dua langkah yaitu penularan dan pemeliharaan tanaman uji.

A. Penularan

Makan aquisisi. Serangga diinfestasikan pada setiap tanaman sakit untuk makan aquisisi. Serangga yang diinfestasikan adalah imago sebanyak 100 ekor, pemindahan serangga menggunakan selang yang diberi kain kasa (*aspirator*) (Gambar lampiran. 23) dengan cara dihisap kemudian ditiup. Periode makan aquisisi selama 1 hari. Setelah periode ini serangga sudah dianggap infeksi. Karena virus tidak mengalami masa inkubasi pada tubuh serangga, maka penularan dapat dilakukan langsung dengan memindahkan serangga ke tanaman sehat untuk inokulasi.

Makan inokulasi. Serangga yang sudah infeksi dari tanaman sakit diinfestasikan pada tanaman sehat atau galur dan varietas uji, yaitu masing-masing tanaman uji yang ditanam pada pot/baki. Infestasi serangga dengan menggunakan selang yang diberi kain kasa (*aspirator*) dengan cara dihisap kemudian ditiup. Serangga penular atau vektor yang

diinfestasikan adalah imago berjumlah 7 ekor setiap tanaman uji. Tanaman uji yang sudah diinfestasi serangga dimasukkan kurungan yang diberi kain kasa (sangkar). Lama periode makan inokulasi adalah 48 jam untuk memastikan bahwa vektor sudah menginfeksi tanaman uji. Setelah periode makan inokulasi berakhir, serangga penular dikeluarkan dan dimatikan. Hal ini sesuai penelitian Suzuki (1992) bahwa serangga yang diinfestasikan untuk penularan penyakit tungro adalah imago *N. virescens* sebanyak 5-10 ekor. Periode makan inokulasi adalah 2 hari dan setelah itu serangga vektor dimusnahkan dari tanaman uji. Kemudian diamati gejala yang muncul setelah diinfeksi virus tungro.

Pengamatan gejala. Setelah tanaman diinokulasi, tanaman uji dirawat dan diamati gejala yang muncul. Gejala tungro muncul antara 1 sampai 3 minggu setelah inokulasi. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari setelah inokulasi (HSI) sampai tanaman uji mengeluarkan malai (Gambar lampiran. 18). Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase gejala infeksi yang dimunculkan oleh tanaman uji (Gambar 6). Gejala dari penyakit tungro adalah daun berwarna kuning oranye yang dimulai dari ujung selanjutnya berkembang kebagian bawah.



Gambar 6. Pengamatan Gejala Infeksi Penyakit Tungro

B. Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan yang dilakukan meliputi pemupukan, penyiraman, penyulaman dan pengendalian gulma.

Pemupukan dengan menggunakan pupuk Urea pada umur 10 HSS dan setelah dipindah tanam dipupuk pada umur 10 HST dan 40 HST. Penyiraman dilakukan pada saat kondisi tanah kering dan jumlah air

disesuaikan dengan kebutuhan tanaman sehingga tidak mengalami kekeringan. Penyulaman dilakukan apabila tanaman mati, tanaman yang digunakan untuk menyulam keadaanya sesuai dengan tanaman yang sebelumnya mati. Pengendalian gulma dilakukan dengan cara mekanis yaitu mencabut gulma atau tanaman yang menyimpang dari tanaman uji.

Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah tingkat keparahan dan persentase tanaman terserang tungro dengan dihitung persentase kerusakan (*skoring*) yang kemudian di hitung indek untuk mengetahui galur dan varietas uji termasuk kedalam kategori ketahanan terhadap penyakit tungro. Selain itu juga dihitung lama masa inkubasi terhadap munculnya gejala setelah tanaman uji diinokulasi. Sebagai data pendukung dilakukan pengamatan pada pertumbuhan tanaman yaitu tinggi tanaman dan jumlah daun setiap varietas uji.

A. Tingkat Keparahannya dan Persentase Tanaman Terserang

Tingkat keparahan dan persentase tanaman terserang tungro dievaluasi berdasarkan *Standard Evaluation System for Rice/SES* (IRRI, 1996), sebagai berikut:

Tabel 1. Evaluasi tingkat keparahan gejala tungro

Skor	Persentase	Keterangan
1	0%	Tidak ada gejala serangan
3	1 - 10%	Terserang dan belum menguning
5	11 - 30%	Terserang, kerdil dan agak kuning
7	31 - 50%	Terserang, kerdil dan kuning
9	> 50%	Terserang, kerdil dan oranye

Intensitas serangan dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan rumus,

- n : jumlah daun dari setiap katagori serangan
- v : nilai setiap katagori serangan
- Z : nilai skala dari katagori serangan tertinggi
- N : jumlah daun yang diamati

B. Masa Inkubasi

Pengamatan masa inkubasi dilakukan setelah tanaman diinokulasi sampai masing-masing tanaman uji mengeluarkan gejala yang persis dari penyakit tungro. Lama masa inkubasi dipengaruhi oleh ketahanan setiap tanaman uji untuk menunjukkan gejala infeksi setelah diinokulasi penyakit tungro.

C. Pertumbuhan Tanaman

Variabel pengamatan pada pertumbuhan tanaman yaitu tinggi tanaman dan jumlah daun. Dari pengamatan dilihat perkembangan tinggi tanaman dan jumlah daun setiap tanaman uji. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari sekali setelah tanaman diinokulasi penyakit tungro, pengamatan berakhir sampai tanaman mengeluarkan malai.

Metode Pengukuran Tingkat Ketahanan

Berdasarkan tingkat keparahan dan intensitas serangan (%), masa inkubasi, tinggi tanaman dan jumlah daun. Dihitung nilai indek ketahanan tanaman terhadap serangan virus tungro dengan menggunakan metode Castillo *dkk*, 1978 (*dalam* Heroetadji, 1983) adalah sebagai berikut:

- a. Nilai indek tertinggi

$$\frac{\sum \text{rata-rata tertinggi setiap variabel pengamatan}}{\sum \text{nilai huruf notasi tertinggi}}$$

- b. Nilai indek terendah

$$\frac{\text{Nilai indek tertinggi}}{\text{Nilai notasi huruf tertinggi}}$$

- c. Nilai terendah dihitung setiap variabel pengamatan

- d. Nilai indek setiap variabel

$$\frac{\text{Nilai indek terendah} \times \text{nilai huruf yang mendampingi}}{\text{jumlah notasi huruf yang mendampingi}}$$

- e. Nilai indek setiap variabel pengamatan (intensitas serangan, masa inkubasi, tinggi tanaman dan jumlah daun)

- f. Dihitung indek rata-rata, kemudian ditentukan banyaknya katagori ketahanan dengan kriteria Tahan (T), Moderat Tahan (MR), Moderat

Peka (MS), dan Peka (S). Katagori ketahanan dapat diketahui dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Indek rata-rata tertinggi} - \text{indek rata-rata terendah}}{4 \text{ katagori}}$$

Analisis data

Data pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Apabila terdapat pengaruh nyata pada perlakuan maka dilakukan uji lanjutan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.