

III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di lahan yang terletak di Kelurahan Tunggulwulung, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang dengan ketinggian \pm 450 mdpl dan suhu rata-rata harian 23-29⁰ C. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Januari sampai dengan Mei 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat tanam, gunting, timba (d= 14,5 cm, t = 20 cm), kamera, dan alat tulis. Sedangkan bahan yang digunakan adalah 5 galur padi yaitu MVM 37, MVM 39, MVM 40, MVM 45, dan MVM 49. Isolat *Xanthomonas oryzae* koleksi dari Laboratorium Bakteriologi Universitas Brawijaya dengan kode UB-PXO₁ dan *Xanthomonas oryzae* yang diperoleh di peroleh di lapang dengan kode XOL. Pupuk yang digunakan adalah pupuk Urea (300 kg/ha), pupuk SP36 (100 kg/ha), pupuk KCL (100 kg/ha).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Petak Terbagi (RPT) dengan 3 ulangan. Masing-masing galur ditanam 3 baris, masing-masing baris terdapat 10 tanaman. Sehingga total tanaman adalah 30 tanaman dengan jarak tanam 20 x 20 cm dan jarak antar ulangan 40 cm.

Tabel 1. Perlakuan Uji Ketahanan Beberapa Galur Tanaman Padi terhadap Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Petak utama (Isolat)	Anak petak
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (UB-PXO ₁)	1. MVM 37
	2. MVM 39
	3. MVM 40
	4. MVM 45
	5. MVM 49
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (XOL)	1. MVM 37
	2. MVM 39
	3. MVM 40
	4. MVM 45
	5. MVM 49

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pengolahan Tanah

Persiapan lahan diawali kegiatan membalikkan tanah dengan cara dicangkul sedalam $\pm 10-20$ cm atau menggunakan traktor dengan ukuran sedang agar tanah lebih gembur dan gulma dapat terbenam. Gulma yang telah terbenam dapat menjadi humus yang akan membantu menyuburkan tanah. Setelah tanah sudah siap untuk ditanami. Selanjutnya lahan digenangi air sehingga tanah menjadi gembur dan mudah untuk ditanami. Setelah dilakukan pengolahan lahan dan pengairan maka lahan siap untuk ditanami.

3.4.2 Persiapan Benih

Kegiatan pengaturan benih tersebut bertujuan untuk mempermudah dalam penanaman karena benih telah diurutkan berdasarkan nomor dan kode dari panen musim tanam sebelumnya. Pengaturan benih dimulai dengan memasukkan dan mengurutkan benih kedalam kantong plastik yang telah diberi nomer sesuai urutan. Setelah itu plastik dilubangi dan direndam dalam air selama semalam selanjutnya benih dibiarkan sampai berkecambah sebelum disemai di lahan. Tujuan dari perendaman tersebut adalah untuk memecah masa dormansi benih, sehingga benih sebelum ditanam dapat tumbuh dengan baik saat penanaman di lahan.

3.4.3 Penanaman

Pindah tanam dilakukan pada tanaman berumur ± 21 hari setelah semai (HSS). Bibit ditanam sesuai dengan pengacakan perlakuan yang telah dilakukan. Jarak tanam tiap perlakuan yang digunakan adalah 20×20 cm. Jarak tanam antar ulangan adalah 40 cm.

3.4.4 Persiapan Isolat

Isolat *Xanthomonas oryzae* yang digunakan untuk penelitian ini adalah isolat dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dengan konsentrasi 10^9 , dan isolasi dari daun padi yang menunjukkan gejala HDB yang diambil langsung di lahan padi yang terletak di Kelurahan Tunggulwulung, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang. Daun-daun yang

digunakan sebagai isolat yang telah terkumpul kemudian dipotong kecil-kecil direndam dan diremas-remas selama ± 15 menit kemudian siap untuk diinokulasikan.

3.4.2 Inokulasi Patogen

Padi yang telah berumur ± 60 HSS kemudian diinokulasi dengan cara memotong ± 5 cm dari ujung daun dengan menggunakan gunting yang telah disterilkan menggunakan alkohol, ujung daun yang telah dipotong kemudian dirundukan dan dicelup dengan rendaman isolat yang telah dibuat selama 5 menit (Herlina dan Silitonga, 2011). Tanaman padi diinokulasi dengan isolat UB-PXO₁ dan XLO sebanyak 12 tanaman tiap galurnya dan diambil 3 tanaman padi secara acak sebagai sampel dari masing-masing isolat. Masing-masing tanaman sampel diambil 3 daun untuk mengamati intensitas penyakit.

3.5 Parameter Pengamatan

3.5.1 Skala Penyakit. Setiap rumpun diamati dan diberi skor. Skala penyakit diamati pada minggu ke tiga dan ke empat setelah inokulasi dilakukan. Penentuan skala serangan penyakit hawar daun bakteri berdasarkan pada Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996) sebagai berikut:

Tabel 2. Skoring Ketahanan Varietas Padi terhadap Penyakit HDB Berdasarkan IRRI (Standar Evaluation System) (IRRI, 1996)

Skala	Luasan Gejala area pada area daun (%)	Tingkat ketahanan
0	Tidak ada serangan	Sangat Tahan (ST)
1	Luas daun yang bergejala hawar 1-5%	Tahan (T)
3	Luas daun yang bergejala hawar 6-12%	Agak Tahan (AT)
5	Luas daun yang bergejala hawar 13-25%	Sedang (S)
7	Luas daun yang bergejala hawar 26-50%	Agak Rentan (R)
9	Luas daun yang bergejala hawar 51-100%	Sangat Rentan (SR)

Perhitungan Intensitas Penyakit dengan menggunakan rumus (Suparyono *et al.*, 2004)

$$IP = \frac{a}{b} \times 100 \%$$

Keterangan :

IP : Intensitas penyakit

a : Panjang gejala hawar daun bakteri (cm)

b : Panjang daun secara keseluruhan (cm)

3.5.2 Tinggi Tanaman. Tinggi tanaman padi diukur mulai dari pangkal batang di atas permukaan tanah hingga ujung daun tertinggi. Pengukuran dilakukan setiap tiga hari sekali selama satu bulan. Satuan pengukuran dalam *centimeter* (cm).

3.5.3 Jumlah Anakan. Anakan dihitung dengan cara menghitung jumlah anakan tanaman padi yang tumbuh dari batang padi utama.

3.5.4 Berat Basah. Berat basah tanaman didapat dengan cara memotong batang tanaman padi tepat di atas permukaan tanah. Tanaman yang sudah dipotong, bersama daun yang sudah layu dikumpulkan kecuali gabah, dimasukkan ke dalam kantong kertas yang telah disiapkan dan selanjutnya tanaman ditimbang dengan alat timbang sehingga diperoleh berat basah tanaman (gram).

3.5.5 Berat Kering. Berat kering tanaman didapat dengan cara memotong batang tanaman padi tepat di atas permukaan tanah. Tanaman yang sudah dipotong, bersama daun yang sudah layu dikumpulkan kecuali gabah, dimasukkan ke dalam kantong kertas yang telah disiapkan, kemudian dimasukkan ke dalam oven dan dikeringkan pada suhu 65-85⁰C selama 48 jam dan selanjutnya tanaman yang telah kering, ditimbang dengan alat timbang sehingga diperoleh berat kering tanaman (gram).

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dengan taraf kepercayaan 95%. Bila hasil pengujian diperoleh beda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menggunakan program SPSS Statistik 17.0.