

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di rumah kaca (*screenhouse*) Kebun Percobaan, Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Waktu penelitian yaitu dari bulan April 2012 sampai dengan bulan Juni 2013.

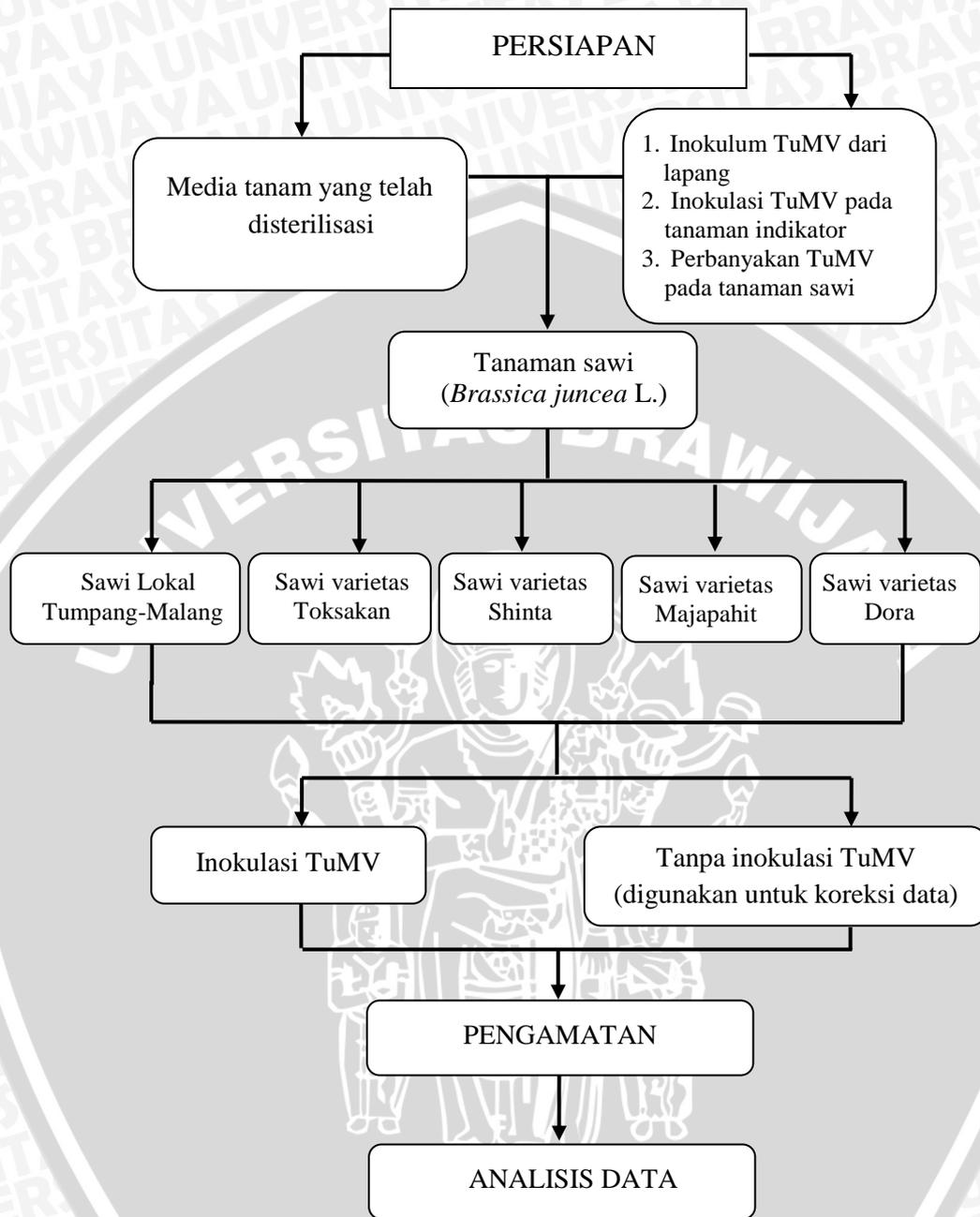
3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah polybag 5 kg, mistar, label, gunting, plastik, cetok, timbangan analitik, gelas ukur (vol. 100 ml), mortar dan penumbuk, cawan petri, gunting, kertas kasa dan kamera.

Bahan yang digunakan yaitu inokulum TuMV yang berasal dari lapang yaitu tanaman sawi yang terserang TuMV. Benih sawi yang digunakan adalah benih sawi lokal Tumpang-Malang, varietas Toksakan, Shinta, Majapahit, dan Dora. Tanaman indikator yang digunakan adalah *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Zinnia elegans*, dan *Gomphrena globosa*. Tanah yang sudah disterilisasi dengan formalin 5%, karborundum 600 mesh, aquadest steril, dan buffer fosfat 0,01 M pH 7.

3.3 Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan varietas sawi, yaitu sawi lokal Tumpang-Malang, Toksakan, Shinta, Majapahit dan Dora. Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Tiap perlakuan terdapat tanaman yang tidak diinokulasi dengan TuMV dan digunakan sebagai koreksi.



Gambar 1. Kerangka Operasional Penelitian

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Persiapan Inokulum dan Identifikasi TuMV

Inokulum TuMV yang digunakan berasal dari daun tanaman sawi yang menunjukkan gejala terinfeksi TuMV, yakni gejala mosaik berat hijau kekuningan pada daun, *vein clearing*, melepuh (*blister*), dan perubahan bentuk (malformasi). Inokulum TuMV tersebut berasal dari kebun sayuran petani di desa Torongrejo, Kecamatan Dau, Malang. Sebelum inokulum TuMV digunakan dalam penelitian, terlebih dahulu dilakukan identifikasi menggunakan tanaman indikator. Inokulum berbentuk sap diinokulasikan secara mekanis pada tanaman indikator yaitu *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Zinnia elegans*, dan *Gomphrena globosa*. Tanaman indikator merupakan tanaman yang menunjukkan gejala spesifik dan cepat menunjukkan gejala jika diinfeksi oleh virus tertentu. Menurut Firdaus (2005) *Chenopodium amaranticolor* yang diinokulasi dengan TuMV menunjukkan gejala lesio lokal nekrotik.



Gambar. Inokulum TuMV yang digunakan

3.4.2 Persiapan Media Tanam

Media tanam disterilkan dengan menggunakan formalin 5% dan ditutup dengan plastik selama 7 hari dan dibolak-balik selama 3 hari sekali agar formalin merata. Setelah 7 hari plastik dibuka dan tanah dikeringanginkan selama 2-3 hari sampai formalin tidak berbau. Kemudian tanah tersebut siap digunakan dan dipindahkan ke polibag berukuran 5 kg.

3.4.3 Persiapan Benih

Masing masing benih sawi yang berasal dari sawi lokal Banjarsari-Malang, Toksakan, Shinta, Majapahit, dan Dora disemai di dalam *tray* yang telah berisi media tanam yang telah disterilkan. Setelah tanaman memiliki daun kurang lebih empat helai (berumur 3 minggu), bibit siap dipindahkan ke dalam polybag berukuran 5 kg.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Sap untuk Inokulum TuMV

Penularan virus TuMV dalam penelitian ini menggunakan cara mekanis. Inokulum TuMV untuk percobaan disiapkan dalam bentuk sap (cairan perasan). Daun tanaman sawi yang menampakkan gejala *Turnip Mosaic Virus* dicuci dan dipotong-potong. Daun yang sudah dipotong-potong, diambil sebanyak 5 gram dan ditumbuk dengan mortar. Penumbukkan daun berfungsi untuk memecahkan sel tumbuhan untuk membantu keluarnya virus dari sel ke dalam cairan perasan. Kemudian ditambahkan buffer fosfat 0,01 M, pH 7 sebanyak 10 ml. Pemberian buffer berfungsi untuk menetralkan virus atau menstabilkan virus dalam cairan perasan, khususnya terhadap pengaruh keasaman larutan yang dapat mempengaruhi persistensi virus dalam cairan perasan. Sap diperoleh dengan cara melakukan penyaringan menggunakan kain kasa.

3.5.2 Penularan sap pada Tanaman Sawi

Penularan sap dilakukan pada daun tanaman sawi yang berumur 4 minggu setelah tanam. Daun yang diinokulasi adalah daun muda yang telah membuka sempurna. Sebelum diinokulasi, permukaan daun dilukai dengan cara ditaburi dengan karborandum 600 mesh. Menurut Hadiastono (2010) pemberian karborandum bertujuan untuk menambah abrasive, yang berperan menimbulkan luka mikroskopis pada dinding sel permukaan pada bagian tanaman yang diinokulasi. Setelah ditaburi dengan karborandum, sap tanaman sakit dioleskan menggunakan jari pada permukaan daun sawi. Pengolesan dilakukan searah tulang daun, tanpa digosok berlawanan arah. Inokulasi dengan cairan tumbuhan yang mengandung virus (sap) harus dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari luka yang berlebihan. Oleh

karena itu, setelah pengolesan sap dilakukan pembilasan sisa-sisa karborundum yang masih melekat pada permukaan daun tanaman uji dengan air, menggunakan spray.

3.5.3 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman, pemupukan, pengendalian gulma serta pengendalian OPT (Organisme Pengganggu Tanaman). Penyiraman dilakukan setiap hari pada pagi atau sore, dengan menggunakan gembor. Hal ini disesuaikan dengan kebutuhan tanaman sehingga tidak mengalami kekeringan dan layu. Pengendalian gulma dilakukan secara mekanis, dengan mencabut gulma yang tumbuh. Pelaksanaan dapat dilakukan setiap saat bila terdapat gulma di sekitar tanaman sawi. Pengendalian OPT dilakukan secara mekanik yaitu dengan mengambil hama yang menyerang dan memamatkannya, sedang untuk patogen pada bagian yang terserang diambil kemudian dibuang.

3.6 Parameter Pengamatan

3.6.1 Masa Inkubasi dan gejala penyakit

Masa inkubasi diukur mulai inokulasi sampai munculnya gejala pada tanaman sawi. Pengamatan dilakukan mulai satu hari setelah inokulasi sampai munculnya gejala pertama pada semua perlakuan.

3.6.2 Intensitas Serangan

Untuk menghitung intensitas serangan gejala virus mosaik menggunakan metode skoring menurut Abadi (2003) pada Tabel 1.

Tabel 1. Penilaian skor daun tanaman sakit berdasarkan gejala mosaik dan malformasi dihitung dengan menggunakan skoring (Abadi, 2003)

Skor	Kategori serangan
0	Daun sehat (tidak menunjukkan gejala virus)
1	Gejala mosaik $\leq 50\%$ dari luas daun
2	Gejala mosaik $\geq 50\%$ dari luas daun
3	Gejala mosaik, ukuran daun mengecil
4	Gejala mosaik, ukuran daun mengecil dan berkerut
5	Gejala mosaik, ukuran daun mengecil, berkerut serta daun menggulung ke bawah.

Sedangkan untuk menghitung persentase daun tanaman sawi yang terserang penyakit virus mosaik TuMV dihitung dengan rumus persamaan menurut Abadi (2003):

$$I = \frac{n \times V}{N \times Z} \times 100 \%$$

Keterangan :

- I = Intensitas serangan tiap tanaman
- n = Jumlah daun dari tiap kategori serangan
- V = Nilai atau skor dari setiap kategori serangan
- N = Jumlah daun yang diamati tiap tanaman
- Z = Nilai atau skor dari kategori serangan tertinggi

3.6.3 Pengurangan Panjang Tanaman

Pengurangan panjang tanaman akibat infeksi TuMV, diperoleh dari selisih rerata panjang tanaman pada tanaman sehat dengan panjang tanaman yang diinokulasi TuMV. Pengukuran dilakukan saat panen, dengan mengukur panjang batang dari pangkal sampai ujung daun terpanjang. Satuan pengukuran adalah centimeter (cm).

3.6.4 Pengurangan Jumlah Daun

Pengurangan jumlah daun akibat infeksi TuMV, diperoleh dari selisih rerata jumlah daun pada tanaman sehat dengan jumlah daun tanaman yang diinokulasi TuMV. Daun yang dihitung adalah daun yang telah membuka sempurna. Satuan pengukuran adalah helai.

3.6.5 Pengurangan Luas Daun

Pengurangan luas daun akibat infeksi TuMV, diperoleh dari selisih rerata luas daun pada tanaman sehat dengan luas daun tanaman yang diinokulasi TuMV. Penghitungan luas daun diperoleh dengan menggunakan alat *Leaf Area Meter* (LAM). Satuan pengukuran adalah centimeter persegi (cm²).

3.6.6 Pengurangan Panjang Akar

Pengurangan panjang akar akibat infeksi TuMV, diperoleh dari selisih rerata panjang akar pada tanaman sehat dengan panjang akar tanaman yang diinokulasi TuMV. Pengukuran panjang akar dilakukan dengan mengukur akar dari pangkal batang sampai ujung akar terpanjang. Pengukuran panjang akar dilakukan pada saat panen. Satuan pengukuran adalah centimeter (cm).

3.6.7 Pengurangan Bobot Basah Tanaman

Pengurangan bobot basah akibat infeksi TuMV, diperoleh dari selisih rerata bobot basah pada tanaman sehat dengan bobot basah tanaman yang diberi perlakuan inokulasi TuMV. Pengukuran bobot basah tanaman dilakukan dengan menimbang tanaman sawi segar setelah dipanen. Satuan pengukuran bobot basah adalah gram.

3.6.8 Pengurangan Bobot Kering Tanaman

Pengurangan bobot kering tanaman akibat infeksi TuMV, diperoleh dari selisih rerata bobot kering pada tanaman sehat dengan bobot kering tanaman yang di inokulasi TuMV. Bobot kering tanaman diperoleh dengan cara menimbang tanaman setelah dikeringkan dalam oven selama 2 x 24 jam pada suhu 80°C. Satuan pengukuran bobot kering adalah gram.

3.7 Analisis Data

Data pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (uji F) pada taraf 5%. Bila hasil pengujian diperoleh perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.

3.8 Penilaian Tingkat Ketahanan

Penilaian tingkat ketahanan tanaman dari sawi yang terinfeksi TuMV didasarkan pada nilai indeks parameter mengikuti metode Castillo *et al.*, (1976 dalam Heroetadji, 1983) yang telah dimodifikasi. Perhitungan nilai indeks adalah sebagai berikut:

- Nilai Indeks Tertinggi = $\frac{\text{Jumlah rerata tertinggi tiap parameter}}{\text{Jumlah nilai huruf notasi parameter tersebut}}$
- Nilai Indeks Terendah = $\frac{\text{Nilai indeks tertinggi}}{\text{Nilai notasi tertinggi parameter tersebut}}$
- Nilai Indeks selanjutnya = $\frac{\text{Nilai indeks terendah} \times \text{Nilai huruf yang mendampingi}}{\text{Jumlah huruf notasi yang mendampingi}}$

Penentuan interval kategori ketahanan diperoleh dari selisih rerata indeks tertinggi dan rerata indeks terendah dibagi tiga kategori ketahanan, yaitu rentan, sedang dan tahan.