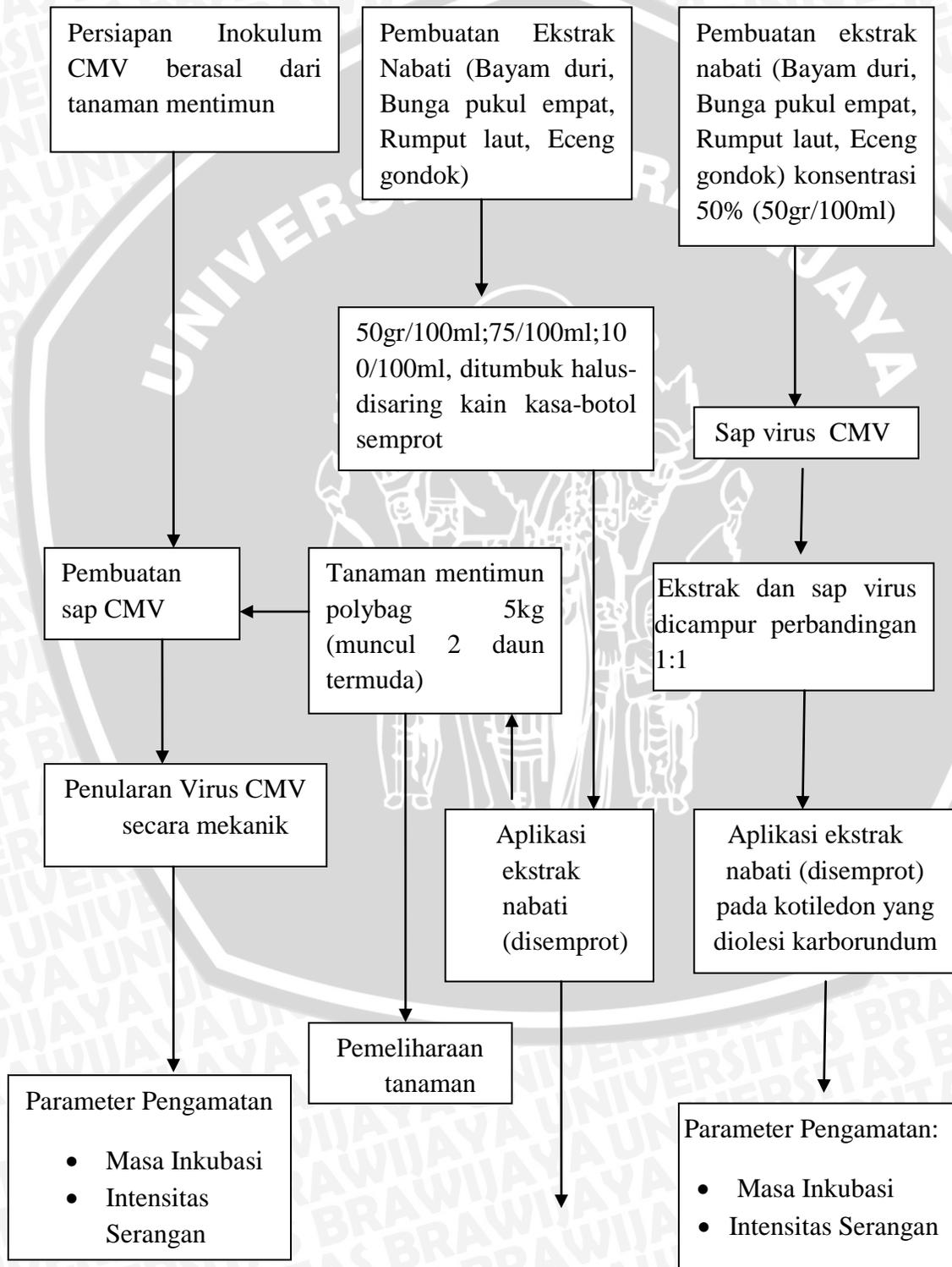


III. BAHAN DAN METODE

3.1 Kerangka Operasional



Konsentrasi 0%, 50%,75%, 100%

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kasa (*Screen House*) dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Mei sampai September 2014.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar dan pistil, timbangan analitik, gelas ukur, polybag 5 kg, gunting, ajir bambu, label, plastik, kamera, alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih mentimun varietas Harmony, bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*), bayam duri (*Amaranthus spinosus*), eceng gondok (*Eichornia crassipes*), rumput laut (*Euchema alvarezii*), inokulum CMV didapatkan dari tanaman mentimun yang menunjukkan gejala sakit, tanaman indikator *Gomphrena globosa*, Dithane M-45, karborundum 600 mesh, alkohol 70 %, kapas, larutan penyangga fosfat 0,01 M pH 7.0, kain kasa steril, formalin 4 %, tanah steril, aquades, pupuk kandang, dan sekam.

3.4 Metode Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh berbagai macam ekstrak tanaman terhadap CMV pada tanaman mentimun, penelitian ini dilakukan dengan 2 kali percobaan. Percobaan pertama yaitu pengaruh 4 macam ekstrak nabati pada konsentrasi yang berbeda terhadap ketahanan CMV sedangkan percobaan kedua yaitu peran 4 macam ekstrak nabati sebagai inhibitor infeksi virus CMV.

3.4.1 Pengaruh 4 Macam Ekstrak Nabati pada Konsentrasi yang Berbeda terhadap Ketahanan CMV

1. Metode Penelitian

Percobaan pertama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Perlakuan dengan mengkombinasikan 4 macam jenis ekstrak nabati (*E. crassipes*, *E. alvarezii*, *M. jalapa*, *A. spinosus*) dengan 3 macam konsentrasi ekstrak nabati yang berbeda (0%, 50%, 75%, dan 100%) sehingga didapatkan 4 x 4 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali sehingga terdapat 48 perlakuan. Perlakuan tersebut adalah:

Faktor pertama adalah jenis ekstrak nabati dengan 4 taraf yaitu:

- A₁: Ekstrak daun *E. crassipes*
- B₁: Ekstrak daun *E. alvarezii*
- C₁: Ekstrak daun *M. jalapa*
- D₁: Ekstrak daun *A. spinosus*

Faktor kedua adalah perbedaan konsentrasi dengan 4 taraf yaitu:

- K₁: Konsentrasi ekstrak nabati 0% (kontrol)
- K₂: Konsentrasi ekstrak nabati 50%
- K₃: Konsentrasi ekstrak nabati 75%
- K₄: Konsentrasi ekstrak nabati 100%

2. Parameter Pengamatan

2.1 Masa Inkubasi

Masa inkubasi adalah periode waktu dari inokulasi virus sampai munculnya gejala pada tanaman mentimun. Masa inkubasi dihitung setelah dilakukan inokulasi CMV sampai munculnya gejala pertama kali.

2.2 Intensitas Serangan

Intensitas serangan dihitung pada 7,14 dan 21 HSI dengan menggunakan rumus :

$$I = \frac{(nxv)}{NxV} \times 100\%$$

Keterangan :

- I = intensitas serangan
n = jumlah tanaman skala tertentu
v = nilai skala tertentu
N = jumlah tanaman yang diamati
V = nilai skala keparahan tertinggi

Skala serangan berdasarkan Dolores (1996) adalah sebagai berikut.

- 0 = tanaman tidak menunjukkan gejala virus
- 1 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sangat ringan, atau tidak ada penyebaran sistemik
- 2 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sedang
- 3 = tanaman menunjukkan gejala mosaik atau belang berat tanpa penciutan atau kelainan bentuk daun
- 4 = gejala mosaik atau belang berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun
- 5 = gejala mosaik atau belang sangat berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun yang parah, kerdil, atau mati.

3. Analisis Data

Data pengamatan ditransformasikan menggunakan $\text{Arcsin } \sqrt{y}$. Untuk mengetahui pengaruh yang nyata, dianalisis dengan menggunakan uji F pada taraf 5 %, kemudian data yang signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf kesalahan 5%.

3.4.2 Peran 4 Macam Ekstrak Nabati Sebagai Inhibitor Infeksi Virus CMV

1. Metode Penelitian

Percobaan kedua menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat macam jenis ekstrak nabati dengan konsentrasi 50% (*E. crassipes*, *E. alvarezii*, *M. jalapa*, *A. spinosus*). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali sehingga terdapat 20 perlakuan.

2. Parameter Pengamatan

2.1 Masa Inkubasi

Masa inkubasi adalah periode waktu dari inokulasi virus sampai munculnya gejala pada tanaman mentimun. Masa inkubasi dihitung setelah dilakukan inokulasi CMV sampai munculnya gejala pertama kali.

2.2 Intensitas Serangan

Intensitas serangan dihitung pada 7 HSI dengan menggunakan rumus :

$$I = \frac{(nxv)}{NxV} \times 100\%$$

Keterangan :

I = intensitas serangan

n = jumlah tanaman skala tertentu

v = nilai skala tertentu

N = jumlah tanaman yang diamati

V = nilai skala keparahan tertinggi

Skala serangan berdasarkan Dolores (1996) adalah sebagai berikut.

- 0 = tanaman tidak menunjukkan gejala virus
- 1 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sangat ringan, atau tidak ada penyebaran sistemik
- 2 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sedang
- 3 = tanaman menunjukkan gejala mosaik atau belang berat tanpa penciutan atau kelainan bentuk daun
- 4 = gejala mosaik atau belang berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun
- 5 = gejala mosaik atau belang sangat berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun yang parah, kerdil, atau mati.

3. Analisis Data

Data pengamatan ditransformasikan menggunakan Arcsin \sqrt{y} . Untuk mengetahui pengaruh yang nyata, dianalisis dengan menggunakan uji F pada taraf 5 %, kemudian data yang signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kesalahan 5%.

3.5 Persiapan Penelitian

3.5.1 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1 yang telah disterilkan dengan menggunakan formalin 4% yang berfungsi untuk mematikan mikroba dalam tanah. Kemudian ditutup dengan plastik selama 2-3 hari lalu dibuka dan dikeringanginkan. Setelah 2-3 hari media tanaman dipindahkan ke polybag berukuran 5kg.

3.5.2 Persiapan Benih Tanaman Uji

Perlakuan benih sebelum penyemaian dengan cara benih yang akan disemai direndam dengan menggunakan air hangat selama 30 menit dan pencegahan penyakit dilakukan perendaman benih dalam fungisida Dithane M-45 selama ± 5 menit. Penyemaian dilakukan pada baki dan dipilih tanaman yang pertumbuhannya normal bibit dipindahkan kedalam polybag 5 kg setelah berumur 10 hari atau setelah memiliki dua daun.

3.5.3 Penanaman Tanaman Mentimun

Tanah yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam polybag berukuran 5 kg sampai dengan batas 5 cm dari permukaan atas polybag. Bibit yang telah disemai dipindahkan ke polybag yang telah berisi tanah. Setiap polybag diisi dengan satu tanaman.

3.5.4 Persiapan Inokulum dan Identifikasi Virus

Inokulum CMV terlebih dahulu dilakukan identifikasi dengan menggunakan tanaman indikator. Tanaman indikator yang digunakan adalah tanaman bunga kenop (*Gomphrena globosa*).

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Aplikasi Ekstrak Nabati

Aplikasi ekstrak nabati menggunakan cara mekanis. Pembuatan ekstrak dengan perbedaan konsentrasi 50 gram daun /100 ml penyangga fosfat, 75 gram daun /100 ml penyangga fosfat, 100 gram daun /100 ml penyangga fosfat. Daun ditimbang dan dicuci bersih, dihaluskan menggunakan mortar yang telah disterilkan dengan alkohol 70% lalu ditambahkan larutan penyangga fosfat 0.01 M pH 7.0. Ekstrak daun disaring dengan menggunakan kain kasa. Proses aplikasi dilakukan dengan menyemprotkan ekstrak daun pada dua helai daun termuda (bukan kotiledon) yang telah membuka penuh pada umur 10 hari setelah tanam. Pembilasan dilakukan setelah \pm 30 menit untuk membersihkan sisa karborundum agar tidak mengganggu proses fisiologi.

3.6.2 Penularan Virus

Penularan virus menggunakan cara mekanis. penularan dilakukan dengan cara mengambil daun sumber inokulum CMV yaitu tanaman mentimun yang terserang penyakit CMV. Kemudian daun dicuci bersih terlebih dahulu lalu di gunting dan dipisahkan dari tulang daunnya. Lalu ditumbuk dengan mortar dan dicampur dengan larutan penyangga fosfat 0.01 M pH 7.0 dan disaring menggunakan kain kasa steril. Mengoleskan karborundum pada daun tanaman mentimun untuk melukai sel – sel daun lalu mengoleskan sap menggunakan kapas pada permukaan daun yang telah diinduksi oleh ekstrak nabati secara searah. Setelah selesai dilakukan pembilasan dengan air.

3.6.3 Inhibitor dan Pengaruhnya terhadap Keberhasilan Inokulasi

Pengujian keberhasilan inokulasi virus CMV dilakukan dengan melihat antiviral yang terdapat pada ekstrak tanaman yang diinokulasikan pada tanaman mentimun. Inokulasi dilakukan secara mekanis. Pembuatan ekstrak dengan konsentrasi 50 gram daun /100 ml penyangga fosfat. Selanjutnya mencampurkan ekstrak dengan sap virus

CMV dengan perbandingan 1:1. Proses inokulasi dilakukan dengan menyemprotkan campuran sap virus dan ekstrak pada kotiledon yang telah diolesi karborundum. Pembilasan dilakukan setelah \pm 30 menit untuk membersihkan sisa karborundum agar tidak mengganggu proses fisiologi.

3.6.4 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi pemupukan, penyiraman, dan penyiangan gulma. Penyiraman dilakukan 1-2 kali sehari dilakukan pada pagi atau sore hari dengan menggunakan gembor. Pengendalian gulma dilakukan 1-2 kali setiap minggu pada umur 2 dan 3 minggu setelah tanam. Pengendalian OPT (Organisme Pengganggu Tanaman) selain CMV dilakukan secara mekanis, dengan sanitasi gulma yang tumbuh di sekitar tanaman inang. Untuk pengendalian hama dilakukan juga dengan mengambil hama tersebut dan mematikannya.

