

III. METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Januari 2015 – September 2015.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nampan plastik, cawan petri plastik, gunting, kantong plastik, pipet ukur, object glass, cover glass, isolasi bening ukuran 1 inch, mikroskop cahaya, kamera, *handsprayer*, hand counter, *plastic wrap*, kertas label, tissue.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman semangka yang terinfeksi embun bulu di lapang yang berada di tulungagung, aquades, balok es, larutan carnoy dan Fungisida yang digunakan adalah fungisida mancozeb, fungisida benalaksil, dan fungisida majemuk dengan bahan aktif Benalaksil 8 % dan Mankozeb 65%.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan rancangan acak lengkap dan uji lanjut BNJ 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

a. Pengambilan Sampel Daun Tanaman Semangka yang Bergejala

Pengambilan sampel dilakukan pada daun tanaman semangka terinfeksi jamur *P. cubensis*. Sampel diambil secara acak pada daun nomor 3 atau 4. Kemudian daun disimpan didalam plastik, dan disimpan pada wadah yang telah diberi bongkahan es. Hal ini bertujuan untuk menjadi kesegaran dari daun tersebut dan menjaga jamur tetap bertahan hidup.

b. Pembagian Sampel Berdasarkan Perlakuan

Sampel dibagi menjadi ke dalam 13 nampan plastik sesuai perlakuan. Masing-masing nampan plastik terdapat 4-5 daun yang bergejala. Daun disemprot

menggunakan sedikit larutan gula 10%, untuk menjaga jamur tetap hidup dan tetap mendapat nutrisi dari larutan gula tersebut.

c. Perlakuan Fungisida

Fungisida yang diuji merupakan fungisida majemuk (bahan aktif: benalaksil 8% dan mankozeb 65%) dan fungisida pembanding yaitu benalaksil dan mankozeb. Rancangan yang digunakan yaitu menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan 4 kali ulangan. Konsentrasi fungisida yang digunakan adalah :

Tabel 1. Konsentrasi aplikasi fungisida

No	Perlakuan	Konsentrasi
1.	Fungisida Majemuk	1,0 g/l
2.	Fungisida Majemuk	0,8 g/l
3.	Fungisida Majemuk	0,6 g/l
4.	Fungisida Majemuk	0,4 g/l
5.	Mancozeb	1,0 g/l
6.	Mancozeb	0,8 g/l
7.	Mancozeb	0,6 g/l
8.	Mancozeb	0,4 g/l
9.	Benalaksil	1,0 g/l
10.	Benalaksil	0,8 g/l
11.	Benalaksil	0,6 g/l
12.	Benalaksil	0,4 g/l
13.	Aquades steril	Kontrol

Aplikasi fungisida diterapkan sebanyak 1 kali semprot. Hal ini bertujuan untuk mengetahui cara kerja fungisida pada awal aplikasi dalam menghambat daya hidup sporangium *P. cubensis*.

d. Persiapan Larutan Carnoy

Larutan carnoy ini digunakan untuk mengawetkan daun. Biasanya larutan carnoy ini digunakan untuk pengamatan proses fiksasi. Larutan carnoy ini berkomposisi 6 chlorofome : 3 asam asetat : 1 etanol, ketiga bahan tersebut dicampurkan secara bersamaan. Daun yang telah disemprot fungisida kemudian direndam dalam larutan carnoy dalam 3 pembagian waktu yaitu, 12 jam setelah aplikasi, 24 jam setelah aplikasi, dan 48 jam aplikasi. Daun direndam dalam larutan carnoy selama 24 jam atau sampai warna daun hilang, sehingga sporangium yang berada pada daun mudah teramati dengan jelas.

e. Variabel Pengamatan

1. Sporangium utuh dan Sporangium rusak

Jumlah sporangium yang utuh dan rusak diamati bertujuan untuk mengetahui kemampuan sporangium untuk bertahan hidup setelah diaplikasikan fungisida. Untuk perhitungan hampir sama dengan cara menghitung viabilitas spora, yaitu :

$$S = \frac{a}{a+b} \times 100\% \quad \text{atau} \quad S = \frac{b}{a+b} \times 100\%$$

Keterangan :

S = Persentase jumlah sporangium utuh / rusak

a = Jumlah sporangium utuh

b = Jumlah sporangium rusak

Setelah mengetahui persentase sporangium utuh dan persentase sporangium rusak, maka data hasil sporangium utuh yang tersisa dihitung melalui perhitungan tingkat hambatan relatif (THR) yang diperoleh sebagai pengaruh dari konsentrasi fungisida yang diaplikasikan pada daun semangka, dihitung menggunakan rumus:

$$THR = \frac{sk - sp}{sk} \times 100\%$$

Keterangan :

sk = Persentase sporangium pada kontrol

sp = Persentase sporangium pada perlakuan

2. Sifat aktivitas Fungisida

Data perkembangan sporangium pada tiap perlakuan (tunggal dan majemuk) diolah dengan analisis probit. Untuk mengetahui ada tidaknya efek antagonis perlu dihitung nisbah ko-toksisitas (NK) pada taraf LC50 dan LC90. Kriteria sifat aktifitas fungisida campuran sebagai berikut:

- a. Bila $NK \geq 1$, maka formulasi fungisida campuran yang diuji memiliki aktifitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan fungisida tunggal. Untuk campuran dengan kerja bersama bebas, persyaratan ini harus dipenuhi untuk NK pada taraf LC95. Bila persyaratan tersebut dipenuhi fungisida campuran tersebut dapat diuji lebih lanjut di lapangan.
- b. Bila $NK \leq 0,95$ maka formulasi fungisida campuran yang diuji memiliki aktifitas yang lebih buruk jika dibandingkan dengan fungisida tunggal.
- c. Bila NK antara 0,95 dan 1 ($0,95 < NK < 1$), pengujian dapat diulangi dan hasilnya dirata-ratakan dengan hasil pengujian se/belumnya.

Rumus yang digunakan untuk menentukan NK adalah:

$$NK = \frac{LC \text{ tunggal}}{LC \text{ Majemuk}}$$

Keterangan:

- NK = nisbah ko-toksisitas
LC tunggal = nilai LC pada fungisida tunggal
LC majemuk = nilai LC pada fungisida majemuk

3.5. Analisis data

Pada pengujian laboratorium data sporangium utuh dan sporangium tidak utuh dianalisis dengan ragam ANOVA dengan tingkat perbedaan dinyatakan pada taraf 5%. Apabila terdapat pengaruh antar perlakuan akan dilanjutkan dengan uji BNJ.

