

### **III. TATA CARA PENELITIAN**

#### **A. Tempat Dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan bulan Mei 2015 sampai Juli 2015 di Dusun Ngebel, kelurahan Tamantirto, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul dilahan persawahan.

#### **B. Bahan Dan Alat Penelitian**

##### **1. Bahan**

Bahan penelitian yang digunakan meliputi: Daun Mimba, daun bawang merah yang terinfeksi cendawan *Alternaria porrii*, media *plating* (PDA) larutan ethanol, air, bibit bawang merah, pupuk urea, SP-36, dan KCl.

##### **2. Alat**

Alat penelitian yang digunakan meliputi: cangkul, timbangan, gembor, tugal, handsprayer, ember, penggaris, blender, saringan, kain kasa, pisau, tali, perlengkapan pengamatan pertumbuhan isolat (petridish) dan label.

#### **C. Metode Penelitian**

Penelitian dilaksanakan dengan metode percobaan eksperimen yang terdiri dari dua kegiatan. Kegiatan pertama di laboratoium dan kedua di lahan yang disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap ( RAKL). Terdiri atas 2 faktor (faktorial), yaitu faktor pertama adalah cara aplikasi (F) yang terdiri atas 3 perlakuan cara aplikasi, yaitu:

1. F1= cara aplikasi rendam
2. F2= cara aplikasi semprot dan

3. F3= aplikasi rendam+semprot

Faktor kedua adalah konsentrasi fungisida (K) yang terdiri atas 3 perlakuan konsentrasi, yaitu:

1. K0= kontrol (konsentrasi 0%)
2. K1= konsentrasi ekstrak mimba 10% (Balikabi, 2009) dan
3. K2= konsentrasi ekstrak mimba 20% (Sahrani, 2008).

Kedua faktor tersebut dikombinasikan dengan kombinasi perlakuan sebagai berikut :

1. F1K0= Rendam konsentrasi ekstrak mimba 0% (kontrol)
2. F2K0= Penyemprotan konsentrasi ekstrak mimba 0% (kontrol)
3. F3K0= Perendaman+penyemprotan konsentrasi ekstrak mimba 0% (kontrol)
4. F1K1=Perendaman umbi konsentrasi ekstrak mimba 10%
5. F2K1=Penyemprotan umbi konsentrasi ekstrak mimba 10%
6. F3K1=Perendaman+penyemprotan umbi konsentrasi ekstrak mimba 10%
7. F1K2=Perendaman umbi konsentrasi ekstrak mimba 20%
8. F2K2=Penyemprotan umbi konsentrasi ekstrak mimba 20%
9. F3K2= Perendaman+penyemprotan umbi konsentrasi ekstrak mimba 20%

Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Setiap masing-masing perlakuan memiliki 3 ulangan, sehingga diperoleh  $9 \times 3 = 27$  satuan percobaan.

#### **D. Cara Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari 2 tahap, yaitu tahap pertama di laboratorium dan tahap kedua dilahan. Tahap di laboratorium meliputi kegiatan isolasi jamur *Alternaria porrii* dan karakterisasi cendawan. Dan tahap di lahan meliputi pengolahan lahan, penanaman, aplikasi mimba, infeksi cendawan, pemeliharaan dan pengamatan.

##### **1. Kegiatan di laboratorium**

Penelitian di laboratorium meliputi isolasi cendawan *Alternaria porrii* penyebab penyakit bercak ungu dan karakterisasi cendawan. Kegiatan yang akan dilakukan di laboratorium yaitu:

##### **a) Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang terbuat dari logam dan gelas dicuci bersih kemudian setelah kering alat-alat tersebut dibungkus menggunakan kertas payung. Alat-alat dari logam dan kaca yang telah terbungkus kertas payung kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121°C bertekanan 1 atm selama 30 menit.

##### **b) Pembuatan Medium Untuk Isolasi**

Medium perbanyakan yang digunakan yaitu *Potato Dextrosa Agar* (PDA) sesuai kebutuhan. Seluruh bahan untuk membuat medium PDA dilarutkan dengan air di dalam erlenmeyer sebanyak 330 ml kemudian dipanaskan hingga mendidih agar seluruh bahan larut dengan air. Setelah seluruh bahan homogen, kemudian dilakukan pengecekan pH menggunakan kertas lakmus, pH yang dikehendaki ialah antara 6,5-7,2. Medium yang telah siap kemudian disterilkan menggunakan

autoklaf pada temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15-20 menit. Medium PDA steril kemudian dimasukkan kedalam petridish steril sebagai media tumbuh sebanyak 10 ml.

**c) Isolasi Cendawan *Alternaria***

Isolasi patogen dilakukan dengan mengisolasi dari daun tanaman bawang merah yang menunjukkan gejala bercak ungu. Bagian daun yang sakit dipotong, menggunakan pisau kemudian dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam aquades steril. Potongan daun yang sakit ditumbuhkan ke dalam medium PDA.

**d) Identifikasi Dan Karakterisasi Cendawan *Alternaria porrii***

Cendawan diidentifikasi secara konvensional berdasarkan kunci determinasi morfologi, yaitu masing-masing isolat dilihat morfologinya, yaitu bentuk miselium, diameter dan warna koloni, serta sifat-sifat lainnya, kemudian diidentifikasi dengan menggunakan buku *Introductory Mycology* (Alexopoulos dan Mims, 1979 dalam Nirwanto dan Mujoko, 2009).

**e) Pembuatan Ekstrak Daun Mimba Untuk Perlakuan Perendaman**

Daun mimba diambil dari lapangan dan ditimbang masing-masing dengan berat 300gr sebanyak 6 kali kemudian dicuci bersih. Kemudian dibuat terlebih dahulu larutan biang dengan konsentrasi 100%, yaitu memblender 300gr daun mimba dengan 300ml air. Setiap ulangan dibuat 2 larutan biang, sehingga untuk total perlakuan terdapat 6 larutan biang. Hasil ekstrak disaring dengan corong yang dilapisi kain kassa. Larutan kemudian direndam selama 12 jam (semalaman)

(Balitkabi, 2009). Dosis yang akan digunakan yaitu 1L ekstrak untuk 1 plot bibit. Maka, untuk perlakuan konsentrasi 10% diambil 100cc larutan biang kemudian diencerkan dengan menambahkan 900cc air, sehingga didapat larutan 1liter dengan konsentrasi 10%. Sedangkan untuk perlakuan konsentrasi 20% maka diambil 200cc larutan biang kemudian diencerkan dengan menambahkan 800cc air, sehingga didapat larutan 1liter dengan konsentrasi 20%.

#### **f) Pembuatan Ekstrak Daun Mimba Untuk Perlakuan Penyemprotan**

Daun mimba diambil dari lapangan dan ditimbang masing-masing seberat 100gr sebanyak 3 kali kemudian dicuci bersih. Kemudian dibuat terlebih dahulu larutan biang dengan konsentrasi 100%, yaitu memblender 100gr daun mimba dengan 100ml air ditambah 10 cc etanol sebagai pelarut. Setiap ulangan dibuat satu larutan biang, sehingga total terdapat 3 larutan biang untuk seluruh perlakuan. Kemudian larutan didiamkan dulu selama 30 menit. Hasil ekstrak disaring dengan corong yang dilapisi kain kassa. Larutan kemudian direndam selama 12 jam (semalaman) (Balikabi, 2009) sebagai proses maserasi yaitu proses pemisahan bahan aktif dari kandungan bahan lain.

Dosis yang akan digunakan yaitu 400 L/ha (balitkabi) bila dikonversikan ke luas plot  $2m^2$ , volume penyemprotannya yaitu 80cc dan dikalibrasi setiap 2 minggu dengan menambahkan 20cc. Cara pembuatan ekstrak perlakuan konsentrasi 10% dengan mengambil 10cc larutan biang kemudian diencerkan dengan menambahkan 90cc air, sehingga didapat larutan 100ml dengan konsentrasi 10%. Kemudian diambil 80cc untuk diaplikasikan ke setiap plot

tanam. Sedangkan untuk perlakuan konsentrasi 20% maka diambil 20cc larutan biang kemudian diencerkan dengan menambahkan 100cc air, sehingga didapat larutan 100ml dengan konsentrasi 20%. Kemudian kita ambil 80cc untuk disemprotkan ke setiap plot tanam.

## **2. Kegiatan di lahan**

Penelitian di lahan meliputi budidaya dan pengamatan. Kegiatan yang akan dilakukan di lahan yaitu:

### **a) Pengolahan Lahan**

Tanah dibersihkan dari gulma dan diolah dengan menggunakan cangkul sampai mendapatkan struktur tanah yang gembur dengan kedalaman 5-10 cm. Kemudian dibuat petak guludan sesuai dengan jumlah perlakuan yaitu 27 petak, diukur menggunakan tali dengan ukuran tiap plot 1,4 x 1,2 m, jarak antara plot dalam satu ulangan 30 cm, dan jarak antara ulangan 50 cm.

### **b) Pemupukan**

Pupuk dasar yang diberikan terdiri atas pupuk kandang 3,6 kg/ plot dengan cara disebar diatas bedengan 5 hari sebelum tanam. Pupuk yang digunakan telah dikontaminasi dengan cendawan *Alternaria porrii* untuk memanipulasi serangan cendawan lewat tanah. Pupuk anorganik yang diberikan yaitu pupuk urea 24gr/ plot, pupuk SP 36 48gr/plot, KCL 30gr/plot diberikan saat tanam. Apabila pada pengamatan pendahuluan belum terinfeksi penyakit, maka akan dilakukan infeksi lanjutan dengan cara penyemprotan.

### c) Perlakuan Perendaman Pra Tanam Bibit

Untuk perlakuan perendaman, maka seluruh permukaan umbi direndam selama 15 menit dalam ember (Kaeni dkk, 2014) dalam satu liter ekstrak mimba dengan konsentrasi 10% dan 20%. Kemudian bibit umbi dikering anginkan selama 30 menit kemudian selanjutnya dipindahkan ke lahan dan siap ditanam.

### d) Penanaman

Bibit bawang merah ditanam dengan jarak tanam 20x20 cm, yaitu jarak dalam baris 20 cm dan jarak antar baris 20 cm diukur menggunakan tali dengan jumlah populasi bawang dalam satu plot 20 tanaman. Benih ditanam dengan menggunakan tugal kecil kemudian benih ditanam 2 umbi per lubang. Dua minggu setelah tanam dilakukan penjarangan, yaitu pemilihan tanaman yang pertumbuhannya lebih baik sedangkan tanaman lainnya dibuang hingga terdapat satu tanaman/lubang. Penanaman dilakukan dengan memasukkan setengah umbi bawangnya ke dalam tanah.

### e) Pemeliharaan

Kegiatan pemeliharaan meliputi: penyiangan, penyiraman dan penggemburan tanah.

#### i. Penjarangan

Penjarangan tanaman bawang merah dilakukan 2 minggu setelah tanam dengan memilih tanaman yang pertumbuhan lebih baik dalam 1 lubang tanam. Tanaman lain yang tidak digunakan, dipindahkan ke tempat pertanaman lain untuk digunakan sebagai tanaman cadangan apabila terdapat tanaman utama yang pertumbuhannya kurang baik

ii. Penyiangan

Penyiangan dilakukan dengan mencabut gulma yang tumbuh disekeliling tanaman sedini mungkin. Dilakukan pada 2 dan 4 minggu setelah tanam.

iii. Penyiraman

Penyiraman mulai dilakukan sejak penanaman dan setiap hari pada pagi hari atau sore hari, apabila keadaan cuaca panas dan tanah terlalu kering menggunakan gembor.

iv. Penggemburan

Penggemburan tanah tujuannya adalah untuk memperlancar sirkulasi udara dalam tanah menggunakan cangkul. Penggemburan dilakukan bersamaan dengan kegiatan penyiangan.

v. Pemupukan susulan

Pupuk anorganik yang diberikan yaitu pupuk urea 24gr/ plot, pupuk SP 36 48gr/plot, KCL 30gr/plot diberikan saat tanam dan pemberian pupuk urea kedua kalinya setelah 25 hari setelah tanam sebanyak dosis anjuran 24 gr/plot, cara pemupukan dilakukan dengan ditaburkan pada larikan diatas baris tanaman kira-kira 5 cm, kemudian alur pupuk tersebut ditutup dengan tanah.

vi. Pemberian pupuk daun

Pemberian pupuk daun dilakukan untuk merangsang perkembangan cendawan *Alternaria* sehingga dapat meningkatkan kemungkinan pertumbuhan penyakit. Hal ini dimungkinkan oleh tingginya kandungan unsur nitrogen pada pupuk daun yang dapat menjadi nutrisi bagi perkembangan cendawan pada daun

f) Aplikasi Perlakuan Penyemprotan Ekstrak Mimba

Penyemprotan ekstrak daun mimba dilakukan menggunakan handsprayer dengan 6 kali penyemprotan. Dilakukan ketika sudah terdapat gejala serangan bercak daun oleh cendawan *Alternaria*. Jadwal penyemprotan yaitu seminggu sekali pada sore hari ketika memasuki usia tanam 14, 21, 28, 35, 42 dan 49 hari setelah tanam. Namun bila belum terdapat gejala serangan, maka perlakuan penyemprotan ditunda hingga muncul gejala serangan.

Terdapat 2 kali penambahan volume semprot yaitu pada umur tanam 28 hari dan 42 hari setelah tanam. Masing-masing penambahan yaitu 20cc, dari 80cc pada 2 minggu awal penyemprotan (usia 14 dan 21) menjadi 100cc pada 2 minggu penyemprotan selanjutnya (usia tanam 28 dan 35) dan menjadi 120cc pada 2 minggu akhir aplikasi penyemprotan (usia tanam 42 dan 49). Kalibrasi penyemprotan ini dilakukan sejalan dengan semakin kuatnya ketahanan tanaman bawang merah terhadap fungisida sesuai umur tanamnya serta upaya untuk mengintensifkan pencegahan pertumbuhan *Alternaria porrii*

### **g) Infeksi *Alternaria***

Infeksi *Alternaria porrii* melalui cara penyemprotan dilakukan bila tidak terdapat tanda-tanda serangan penyakit pada pengamatan pendahuluan. Bila pada pengamatan pendahuluan belum ditemukan tanda-tanda serangan penyakit maka infeksi *Alternaria porrii* dilakukan pada tanaman bawang merah berumur 12 hari setelah tanam.

### **h) Pengamatan di lapangan**

Pengamatan dilapangan dilakukan dengan 2 cara yaitu pengamatan pendahuluan dilaksanakan 7 hari setelah tanam dan pengamatan intensitas serangandimulai dari 2 minggu setelah tanam hingga panen. Hal ini didasarkan dari awal mula cendawan *Alternaria* mulai menyerang yaitu dari mulai pertumbuhan pucuk (Kristan Helms, 2001) sampai tanaman bawang mulai membentuk (inisiasi) umbi pada umur 70 hari (Sia dan Dwiyanto, 1995 dalam Semangun, 2007). Pengamatan pendahuluan dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya serangan penyakit bercak ungu serta perlu tidaknya dilakukan infeksi lanjutan *Alternaria porrii*. Sedangkan pengamatan intensitas serangan dilakukan untuk mengetahui tingkat serangan penyakit.

### **i) Panen**

Pemaenan dilakukan setelah tanaman tua, dengan kriteria daun menguning dan kering sekitar 66-70 hari setelah tanam dan pangkal batang mengeras. Sebagian umbi telah tersembul diatas permukaan tanah

## E. Parameter Pengamatan

### 1. Intensitas Serangan

Pengamatan terhadap intensitas serangan dilakukan pada saat tanaman ada serangan yang diamati 1 minggu sekali dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IS = \Sigma \frac{nxv}{NXZ} \times 100\%$$

Keterangan :

IS = Intensitas serangan (%)

n = Jumlah rumpun yang memiliki nilai kerusakan yang sama

v = Nilai atau skor yang ditetapkan berdasarkan luas daun yang terserang,

yaitu:

0= Tanaman sehat

1= Luas kerusakan daun > 0-10%

2= luas kerusakan daun > 10-20%

3= luas kerusakan daun > 20-40%

4= luas kerusakan daun > 40-60%

5= luas kerusakan daun > 60-100%

Z= Nilai kerusakan tertinggi (V=5)

N= jumlah rumpun yang diamati

(Moekasan dkk, 2012)

## 2. Hasil Panen

Produksi dihitung dengan menimbang berat bawang yang dipanen dari setiap plot perlakuan, dan dikonversikan kedalam ton/ha dengan menggunakan rumus:

$$Y \text{ (ton/ha)} = \frac{X}{L} \times \frac{10.000 \text{ m}}{1000 \text{ kg}}$$

Keterangan :

Y= produksi dalam ton/ha

X= produksi dalam plot (kg)

L= luas plot (m<sup>2</sup>)

## F. Analisis Data

Data yang terkumpul dianalisis dengan sidik ragam (Analysis of Variance) pada taraf  $\alpha = 5\%$  diuji lanjut bila ada beda nyata dengan menggunakan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf  $\alpha = 5\%$ .