

BAB III METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan Laboratorium Ekofisiologi Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Riau Kampus Bina Widya Jalan H.R Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru Panam Pekanbaru. Penelitian ini berlangsung selama 4 bulan yaitu bulan Februari sampai dengan bulan Mei 2010.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih cabai merah varietas TM-999, Laris, Kawat, Ferosa dan varietas cabai merah lokal, Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) DIFCO, Media NA (*Nutrient Agar*) OXOID, kentang untuk uji pektinase, *aluminium foil*, NaOCl₂ 5%, alkohol 70%, pisau, aquades steril, label, kantong plastik transparan, tissue gulung, kapas dan tanah lapisan atas (*top soil*).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, gelas piala 100 ml, 1000 ml, pipet tetes, batang pengaduk, mikroskop binokuler, *laminar air flow cabinet*, erlenmeyer 250 ml, 500 ml, *hand sprayer*, jarum ose, lampu bunsen, pinset, *autoclave*, *automatic shaker*, *test tube*, gelas objek, gelas penutup, inkubator, cangkul, alat-alat tulis dan bak persemaian plastik (*seed bed*) ukuran 40×25×10 cm.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan, perlakuannya adalah beberapa varietas cabai sebagai berikut:



V1 = Varietas TM-999

V2 = Varietas Laris

V3 = Varietas Kawat

V4 = Varietas Ferosa

V5 = Varietas Cabai Merah Lokal

Penelitian ini terdiri dari dua pengujian yaitu Uji kesehatan benih dan Uji daya kecambah benih. Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Data jenis-jenis jamur dan bakteri patogen pada benih dan kecambah cabai, dianalisis secara statistik deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.
- Data persentase serangan jamur dan bakteri patogen pada benih serta daya kecambah benih dianalisis dengan menggunakan sidik ragam atau analysis of variance (ANOVA) dengan model linear sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \sigma_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Hasil pengamatan dari varietas benih cabai ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum (*mean*)

σ_i = Pengaruh dari varietas benih cabai ke-i

ϵ_{ij} = Galat dari varietas benih cabai ke-i dan ulangan ke-j

Hasil sidik ragam dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5 %.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pengambilan sampel benih

Sampel benih yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari toko penjual sarana produksi pertanian di Pekanbaru. Varietas-varietas cabai merah yang diambil merupakan varietas yang umum ditanam oleh petani cabai di Pekanbaru. Prinsip dari pengambilan sampel benih yaitu benih yang diambil secara acak dari masing-masing varietas yaitu sebanyak dua kantong plastik kecil benih dengan berat benih per kantongnya adalah 10 g, lalu dicampurkan secara homogen dan kemudian digunakan sebagai bahan uji benih (*working sample*).

3.4.2. Pengujian Kesehatan dan Daya Kecambah Benih

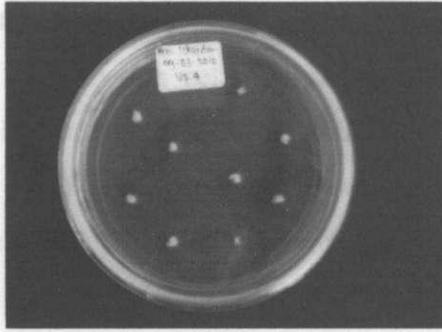
Pengujian kesehatan dan daya kecambah benih pada penelitian ini menggunakan 3 jenis medium, yaitu: Medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), Medium NA (*Nutrient Agar*) dan medium tanah. Benih yang digunakan untuk pengujian pada ketiga jenis medium yang diambil secara acak dari sampel benih.

Tahap-tahap pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.4.2.1. Pada Medium PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Benih sebanyak 200 biji dicuci dengan air mengalir, kemudian diperlakukan dengan cara direndam dalam larutan NaOCl_2 5% selama 3 menit lalu diambil dengan menggunakan pinset dan direndam ke dalam larutan aquades steril sebanyak 2 kali, masing-masingnya selama 3 menit. Kemudian benih tersebut disusun secara teratur di dalam cawan petri yang telah berisi medium PDA steril sebanyak 20 ml. Jumlah benih untuk setiap cawan petri 10 biji (Gambar 1), kemudian benih tersebut diinkubasi di dalam inkubator selama 7 hari pada suhu kamar. Pada hari terakhir dilakukan pengamatan jamur patogen secara makroskopis dan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop binokuler.

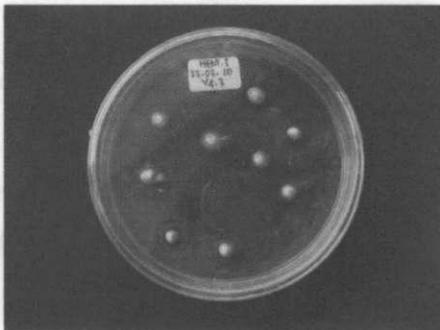




Gambar 1. Benih Cabai Merah pada Medium PDA

4.2.2. Pada medium NA (*Nutrient Agar*)

Benih sebanyak 200 biji dicuci dengan air mengalir, kemudian diperlakukan dengan cara direndam dalam larutan NaOCl_2 5% selama 3 menit lalu diambil dengan menggunakan pinset dan direndam ke dalam larutan aquades steril sebanyak 2 kali, masing-masingnya selama 3 menit. Kemudian media NA steril dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri. Jumlah benih untuk setiap cawan petri adalah 10 biji (Gambar 2), kemudian benih tersebut diinkubasi di dalam inkubator selama 7 hari pada suhu kamar. Pada hari terakhir dilakukan pengamatan bakteri patogen secara makroskopis dan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop binokuler.



Gambar 2. Benih Cabai Merah pada Medium NA

4.2.3. Pada Medium Tanah

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah lapisan atas (*top soil*) yang diambil dari UPT Fakultas Pertanian Universitas Riau. Tanah yang telah diambil tersebut dibersihkan dari sisa-sisa kotoran, tumbuhan dan batuan. Kemudian tanah tersebut disterilisasikan dalam *Electric Soil Sterilizer* selama 1

jam dengan suhu 105 °C, disterilisasi selama 3 hari berturut-turut dengan selang waktu istirahat selama 24 jam dan selanjutnya dimasukkan ke dalam kantong plastik tertutup dan dibiarkan dingin selama 1 minggu. Tanah ini dimasukkan ke dalam bak persemaian (*seed bed*) sebanyak 10 kg dan disiram sampai lembab. Benih cabai ditanam sebanyak 50 biji, ke dalam masing-masing *seed bed* secara teratur dengan lubang tanam sedalam ± 1 cm. Penyiraman dilakukan dengan menggunakan *hand sprayer* setiap pagi dan sore hari selama lebih kurang 2 minggu sampai benih cabai berkecambah (Gambar 3). Pengamatan dilakukan terhadap benih yang tumbuh normal dan abnormal. Pengujian pada medium ini dilakukan di Laboratorium Ekofisiologi Tumbuhan, Fakultas Pertanian.



Gambar 3. Kecambah Cabai Merah pada Medium Tanah

3.5. Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.5.1. Jenis-jenis Jamur Patogen pada Benih Masing-masing Varietas Cabai

3.5.1.1. Pengamatan Makroskopis

Pengamatan secara makroskopis dilakukan secara visual dengan melihat langsung jenis-jenis jamur patogen yang diisolasi dari benih cabai yang telah diinkubasi pada medium PDA selama 7 hsi (hari setelah inkubasi). Pengamatan dilakukan dengan melihat warna miselium, arah pertumbuhan dari miselium jamur patogen (ke atas atau ke samping), bentuk miseliumnya kasar atau halus.



3.5.1.2. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan terhadap isolat yang berumur 7 hari (hari setelah inkubasi) pada medium PDA dengan menggunakan mikroskop binokuler yaitu dengan melihat warna dari hifa jamur, memiliki sekat atau tidak serta melihat bentuk konidia jamur patogen tersebut.

Untuk memudahkan identifikasi terhadap jamur patogen ini dipergunakan buku Identifikasi "*Illustrated Genera of Imperfect Fungi*" oleh Barnet (1972), "*Micology Training Manual*" oleh Kenzie, dkk (2001) dan buku "*Jamur Patogenik Tumbuhan*" oleh Mardinus (2006). Untuk mengetahui jenis-jenis jamur patogen yang terdapat pada kecambah cabai, dipergunakan buku panduan "*Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*" oleh Semangun (2007) dan buku "*Ilmu Penyakit Tumbuhan*" oleh Agrios (1996).

3.5.2. Identifikasi Bakteri Patogen pada Benih Masing-masing Varietas Cabai

3.5.2.1. Pengamatan Makroskopis

Pengamatan secara makroskopis dilakukan secara visual, yaitu dengan melihat bentuk koloni bakteri patogen, warna koloni bakteri (putih keruh, putih bening, kuning atau kemerahan) dan bentuk permukaan koloni bakteri patogen (berbentuk bulat, tepi rata, cembung mengkilat, berlendir dan berbau busuk) yang telah diisolasi dari benih dan yang diinkubasikan pada medium NA selama 3-5 hari.

3.5.2.2. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan terhadap isolat bakteri yang berumur 3 hari (hari setelah inkubasi) pada medium NA dengan metode preparat basah dan dengan menggunakan mikroskop binokuler yaitu dengan melihat bentuk bakteri patogen seperti bentuk elips, bola, batang dan spiral.

3.5.2.3. Uji Fisiologis

3.5.2.3.1. Uji Gram

Pengujian Gram dilakukan dengan menggunakan larutan KOH 3%. Koloni bakteri diletakkan di atas gelas objek dan ditambahkan 1 tetes larutan KOH 3% kemudian diaduk rata dan diangkat beberapa cm dari gelas objek dengan menggunakan jarum ose. Gram negatif ditunjukkan dengan adanya lendir yang ikut terangkat apabila jarum ose diangkat sedangkan bila encer Gram positif (Lelliot dan Stead, 1987).

3.5.2.3.2. Uji Pektinase

Uji pektinase ini bertujuan untuk melihat apakah bakteri menghasilkan enzim pektinase. Bahan yang digunakan adalah irisan kentang, alkohol 70% dan aquades steril. Irisan kentang tersebut diletakkan dalam cawan petri yang telah dilapisi kertas saring lembab, kemudian diinokulasikan dengan 1 ml suspensi bakteri. Apabila pada bagian yang diinokulasi terjadi pembusukan dan perubahan warna menjadi kecokelatan, bakteri tersebut menghasilkan enzim pektinase (Schaad, 1988).

3.5.2.3.3. Uji Levan

Uji Levan dilakukan dengan menggunakan metode Schaad (1988). Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium NA yang ditambahkan dengan sukrosa 5%. Koloni bakteri dipindahkan secara goresan pada medium NA yang ditambahkan dengan sukrosa 5%. Adanya Levan ditandai dengan terbentuknya koloni mukoid berwarna putih keruh dan berbentuk cembung.

Untuk mempermudah identifikasi bakteri patogen, dipergunakan buku "*Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria 2nd Ed*" oleh Schaad (1988), "*Methods in Phytobacteriology*" oleh Klement dan Rudolf (1990), "*Manual Identifikasi Bakteri Tanaman*" oleh Hamzah (1993). Untuk mengetahui jenis-jenis bakteri patogen yang terdapat pada kecambah cabai, dipergunakan

buku panduan “*Bakteri Patogenik Tumbuhan*” oleh Habazar dan Rivai (2003) dan “*Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*” oleh Semangun (2007).

3.5.3. Persentase Serangan Jamur Patogen pada Benih (%)

Pengamatan dilakukan pada hari ke-7 setelah inkubasi pada medium PDA.

Persentase serangan masing-masing jamur patogen pada benih dihitung dengan:

$$\text{Persentase serangan} = \frac{\text{Jumlah benih yang terinfeksi oleh satu jenis jamur}}{\text{Jumlah benih yang diinkubasi}} \times 100\%$$

3.5.4. Persentase Serangan Bakteri Patogen pada Benih (%)

Pengamatan dilakukan pada hari ke-5 setelah inkubasi pada medium NA.

Persentase serangan masing-masing bakteri patogen pada benih dihitung dengan:

$$\text{Persentase serangan} = \frac{\text{Jumlah benih yang terinfeksi oleh satu jenis bakteri}}{\text{Jumlah benih yang diinkubasi}} \times 100\%$$

3.5.5. Persentase Daya Kecambah Benih Normal pada medium PDA (%)

Pengamatan dilakukan mulai hari ke-5 setelah benih dikecambahkan dengan melihat kecambah normal yang tumbuh pada medium PDA yang sesuai dengan kriteria kecambah cabai normal (Gambar 4), selanjutnya pengamatan dilakukan 2 hari sekali sampai 14 hari, dihitung dengan:

$$\text{Daya kecambah normal} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

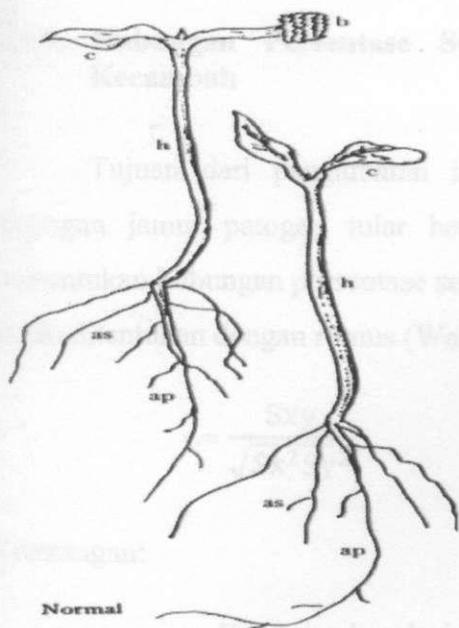
3.5.6. Persentase Daya Kecambah Benih Normal pada medium NA (%)

Pengamatan dilakukan mulai hari ke-5 setelah benih dikecambahkan dengan melihat kecambah normal yang tumbuh pada medium NA yang sesuai dengan kriteria kecambah cabai normal (Gambar 4), selanjutnya pengamatan dilakukan 2 hari sekali sampai 14 hari, dihitung dengan:

$$\text{Daya kecambah normal} = \frac{\text{Jumlah benih yang berkecambah normal}}{\text{Jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$



Kriteria kecambah cabai normal dapat dilihat pada Gambar 4 berikut:



Gambar 4. Kecambah Cabai Normal (Kamil, 1982).

Keterangan:

- a) b, c (kotiledon): kotiledon paling kurang ada satu yang masih melekat pada bibit.
- b) h (hipokotil): hipokotil panjang tanpa patah-patahan atau luka-luka memanjang sampai ke jaringan pengangkut.
- c) ap (akar primer): akar primer tumbuh baik, biasanya dengan akar serabut.
- d) as (akar sekunder): tak ada akar primer atau akar membatang (*stubby*), tetapi akar sekunder tumbuh kuat dan hipokotil normal.

3.5.7. Uji Muncul Tanah (%)

Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk menentukan kekuatan tumbuh (vigor) benih pada medium tanah. Pengamatan dilakukan mulai hari ke-5 setelah benih ditanam dengan cara menghitung jumlah kecambah normal dan abnormal. Pengamatan selanjutnya dilakukan dua hari sekali selama 14 hari. Persentase daya kecambah untuk uji muncul tanah ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Daya kecambah} = \frac{\text{Jumlah kecambah yang tumbuh}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100 \%$$

3.5.8. Hubungan Persentase Serangan Jamur Patogen dengan Daya Kecambah

Tujuan dari pengamatan ini untuk melihat hubungan antara tingkat serangan jamur patogen tular benih dengan daya kecambah benih. Dalam menentukan hubungan persentase serangan jamur patogen dengan daya kecambah benih ditentukan dengan rumus (Walpole dan Raymond, 1986) sebagai berikut:

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_x^2 S_y^2}}$$

Keterangan:

- r = Koefisien korelasi (skala -1, 0, 1)
- r = Koefisien korelasi (skala -1, 0, 1)
- S_{xy} = Ragam antara persentase serangan jamur patogen dengan daya kecambah
- S_x = Persentase serangan jamur patogen
- S_y = Daya kecambah

Hubungan korelasi merupakan hubungan sebab-akibat dari suatu variabel. Variabelnya yaitu S_x (persentase serangan jamur patogen) dan S_y (daya kecambah), dilihat hubungan diantara kedua variabel tersebut. Korelasi bernilai 1 jika terdapat hubungan linier yang positif, bernilai -1 jika terdapat hubungan linier yang negatif, dan antara -1 dan 1 yang menunjukkan tingkat dependensi linier antara dua variabel. Semakin dekat dengan -1 atau 1, semakin erat korelasi antara kedua variabel tersebut. Jika variabel-variabel tersebut saling bebas atau tidak ada hubungan sebab-akibat, nilai korelasi sama dengan 0.

5.9. Hubungan Persentase Serangan Bakteri Patogen dengan Daya Kecambah

Tujuan dari pengamatan ini untuk melihat hubungan antara tingkat serangan bakteri patogen tular benih dengan daya kecambah benih. Dalam menentukan hubungan persentase serangan bakteri patogen dengan daya kecambah benih ditentukan dengan rumus (Walpole dan Raymond, 1986) sebagai berikut:

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_x^2 S_y^2}}$$

eterangan:

r = Koefisien korelasi (skala -1, 0, 1)

S_{xy} = Ragam antara persentase serangan bakteri patogen dengan daya kecambah

S_x = Persentase serangan bakteri patogen

S_y = Daya kecambah

Hubungan korelasi merupakan hubungan sebab-akibat dari suatu variabel. Variabelnya yaitu S_x (persentase serangan bakteri patogen) dan S_y (daya kecambah), dilihat hubungan diantara kedua variabel tersebut. Korelasi bernilai 1 jika terdapat hubungan linier yang positif, bernilai -1 jika terdapat hubungan linier yang negatif, dan antara -1 dan 1 yang menunjukkan tingkat dependensi linier antara dua variabel. Semakin dekat dengan -1 atau 1, semakin erat korelasi antara dua variabel tersebut. Jika variabel-variabel tersebut saling bebas atau tidak ada hubungan sebab-akibat, nilai korelasi sama dengan 0.