

I. METODE PENELITIAN

1.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Lahan sekitar laboratorium Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari Juni 2011 sampai Januari 2012.

1.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, jarum ose, gelas kimia, otoklaf, plastik pembungkus, aluminium foil, plastik tahan panas, bunsen burner, tabung *Erlenmeyer*, kaca preparat, kaca penutup, mikroskop, spatula, gelas ukur, kapas, tissue, *laminar air flow*, oven, timbangan, nampan, alat perajang, kertas label, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman tembakau Virginia, kentang, agar batang, gula pasir, asam laktat, tanah, pupuk kandang, aquades, alkohol 70%, dan air.

1.3 Rancangan Percobaan

Perlakuan dalam percobaan ini disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL).

Perlakuan terdiri atas tanaman tembakau tanpa aplikasi *Trichoderma* sebagai kontrol (ko), aplikasi *T. harzianum* (Th), aplikasi *T. viride* (Tv), dan aplikasi *T.*

koningii (Tk). Setiap perlakuan diulang empat kali. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan sidik ragam dan perbedaan nilai tengah antarperlakuan diuji dengan uji BNT dengan taraf nyata 5%.

1.4 Pelaksanaan Penelitian

1.4.1 Penyiapan tanaman tembakau

Tanaman tembakau yang digunakan adalah jenis Virginia berumur 50 hari. Penanaman bibit tembakau dilakukan dalam *polybag* berukuran 5 kg dengan media tanam berupa tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 3:1. Pupuk kandang yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari kotoran kambing. Pemeliharaan tanaman berupa penyiraman dilakukan setiap hari.

1.4.2 Penyiapan biakan *Trichoderma* spp.

1.4.2.1 Penyiapan suspensi *Trichoderma* spp.

Spesies *Trichoderma* yang digunakan adalah *T. harzianum*, *T. viride*, dan *T. koningii* koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Suspensi spora *Trichoderma* disiapkan dengan cara: spora jamur *Trichoderma* spp. dipanen dengan menambahkan 10 ml aquades steril ke biakan *Trichoderma* spp. pada cawan petri lalu dikeruk dengan spatula steril dan disuspensikan. Suspensi *Trichoderma* spp. selanjutnya diencerkan sampai didapatkan kerapatan spora 10^6 spora/ml.

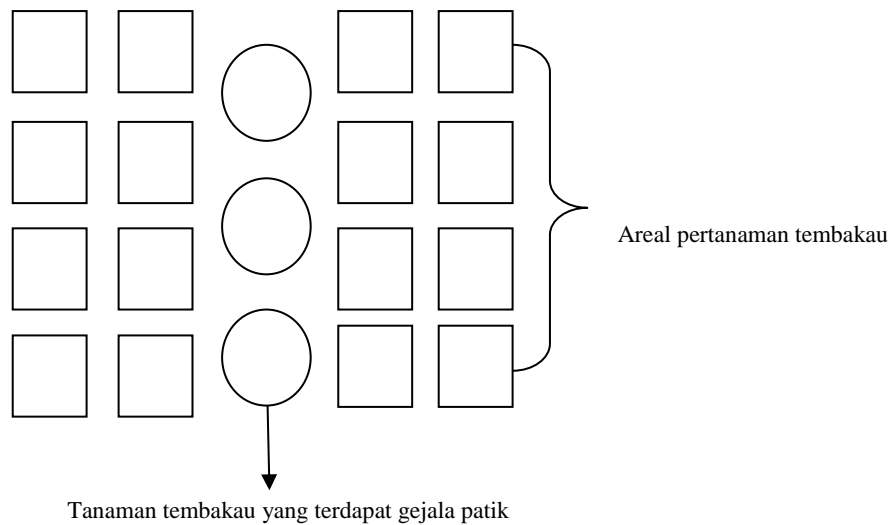
1.4.2.2 Aplikasi *Trichoderma* spp.

Aplikasi *Trichoderma* spp. dilakukan dua kali yaitu pada saat tanaman berumur 3 bulan setelah tanam dan 7 hari setelah inokulasi (hsi) *C. nicotianae* yang kedua. Aplikasi *Trichoderma* dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi masing-masing spesies *Trichoderma* pada setiap tanaman tembakau hingga membasahi bagian atas dan bagian bawah daun pada masing-masing *polybag*. Suspensi *Trichoderma* yang disemprotkan pada aplikasi pertama sebanyak 20 ml/tanaman, sedangkan pada aplikasi kedua 50 ml/tanaman. Aplikasi dilakukan sore hari dengan tujuan kelembapan daun tembakau dapat terjaga.

1.4.3 Inokulasi *Cercospora nicotianae*

Inokulasi *C. nicotianae* dilakukan dengan dua cara, yaitu inokulasi alami dan buatan. Inokulasi secara alami dilakukan dengan cara meletakkan tanaman tembakau yang bergejala patik pada tengah-tengah tanaman tembakau uji sebanyak 3 *polybag* (gambar 1). Tanaman tembakau sakit yang digunakan berumur 140 hari setelah tanam (hst). Inokulasi buatan dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi/larutan dari daun tembakau yang bergejala patik pada permukaan atas dan bawah daun tembakau sebanyak 50 ml secara merata pada masing-masing *polybag*.

Penyemprotan ini dilakukan 7 hari setelah inokulasi (hsi) alami *C. nicotianae* dan aplikasi dilakukan pada sore hari dengan tujuan menjaga kelembapan. Penyiapan inokulum *C. nicotianae* dilakukan dengan cara memblender 50-60 helai daun tembakau yang bergejala patik dengan ditambahkan 5 liter air. Setelah halus, kemudian dimasukkan dalam sprayer untuk disemprotkan pada daun tembakau.



Gambar 1. Cara peletakkan tanaman tembakau yang terdapat gejala patik di areal pertanaman tembakau.

1.5 Pengamatan dan Pengumpulan Data

Pengamatan dilakukan selama 35 hari dengan interval pengamatan 7 hari.

Pengamatan dimulai 7 hari setelah aplikasi (hsa) *Trichoderma* spp. yang kedua.

Setiap tanaman (perlakuan) diamati sebanyak 5 helai daun sebagai sampel.

Pengambilan sampel daun tembakau pada masing-masing perlakuan dan kontrol

dilakukan secara acak. Pengambilan sampel daun pada tanaman tembakau di

antara daun yang berada pada bawah batang hingga bagian atas tanaman

tembakau. Peubah yang diamati adalah keparahan penyakit. Keparahan penyakit

dihitung menggunakan rumus:

$$KpP = \frac{\sum(n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

Dengan KpP adalah keparahan penyakit, n = jumlah daun pada setiap skor serangan, v = nilai skor yang digunakan, Z = nilai skor tertinggi yang digunakan, N = jumlah total daun yang diamati.

Nilai skoring yang digunakan dalam pengukuran keparahan penyakit merupakan analogi dari pengujian terhadap bercak daun *Cercospora* sp. pada tanaman kacang tanah yaitu sebagai berikut (Komisi Pestisida, 1989).

Tabel 1. Skor gejala penyakit patik pada tembakau

Skor	Gejala Penyakit
0	Tidak ada daun terserang
1	Luas daun terserang 1-25%
2	Luas daun terserang 26-50%
3	Luas daun terserang 51-75%
4	Luas daun terserang 76-100%

Selanjutnya dari data keparahan penyakit dihitung laju perkembangan penyakit (r) dan daerah di bawah kurva penyakit (AUDPC). Laju perkembangan penyakit (r) dihitung dengan rumus:

$$r = \frac{1}{t_2 - t_1} x \left(\frac{\ln x_2}{1 - x_2} - \frac{\ln x_1}{1 - x_1} \right)$$

Dengan r adalah laju infeksi, t_1 = waktu pengamatan ke 1, t_2 = waktu pengamatan ke 2, x_1 = proporsi penyakit pada pengamatan ke 1, x_2 = proporsi penyakit pada pengamatan ke 2. Sedangkan daerah di bawah kurva penyakit (AUDPC) (de Jesus Junior *et al.* 2001; Danielsen dan Ames 2004) dihitung dengan rumus :

$$AUDPC = \sum_{i=n}^{n=1} x \frac{(Y_1 + Y_i + 1)}{2x(t_i + 1 - t_1)}$$

Dengan AUDPC adalah daerah kurva perkembangan penyakit, Y_i = intensitas serangan pada pengamatan ke i , Y_1 = intensitas serangan pada pengamatan pertama, t_1 = waktu pada pengamatan pertama, t_i = waktu pada pengamatan ke i , $n = 1$.