

### **III. BAHAN DAN METODE**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan Kebun Percobaan dalam Kampus Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai Juni 2014.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

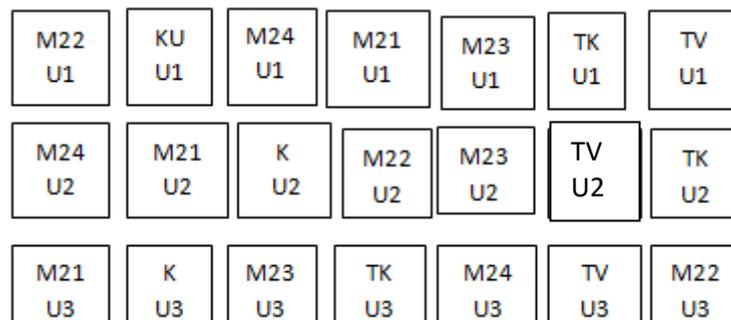
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih jagung turunan varietas Pioneer 27 (P27), biakan *Trichoderma* yang diperoleh dari sampel tanah asal kota Metro dan koleksi di Laboratorium, media *Potato Dextrose Agar*- asam laktat (PDA-L), media *Potato Dextrose Agar-Rosebengal* (PDA-R), larutan gula, daun jagung yang terserang patogen bulai dan hawar, alkohol 70%, aquades, antibiotik *tirmizin*, *chloropenichol* tanah steril, tisu, air steril dan aquades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, autoklaf, bor gabus, lampu bunsen, timbangan, plastik tahan panas, *aluminium foil*, meteran, *rotamixer*, *laminar air flow*, bunsen, jarum ose, jarum T, pinset, plastik tahan panas, plastik *wrap*, kertas label, nampan, timbangan elektrik, gelas ukur, pipet tetes, mikropipet, tisu, gelas ukur, pot, dan kompor.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini disusun dalam rancangan acak kelompok (RAK) dengan tujuh perlakuan yaitu, pertama tanpa perlakuan *Trichoderma* atau kontrol (K), kedua dengan aplikasi *T. viride* (TV), ketiga dengan aplikasi *T. koningi* (TK), keempat dengan aplikasi *Trichoderma reesei* isolat 3 (M21), kelima dengan aplikasi *T. koningi* isolat 4 (M22), keenam dengan aplikasi *T. koningi* isolat 5 (M23), ketujuh dengan aplikasi *T. koningi* isolat 6 (M24).

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 21 unit satuan percobaan, yang kemudian disusun secara acak berdasarkan hasil pengacakan dengan menggunakan undian. Pada setiap unit percobaan ditanam 10 benih jagung. Tata letak percobaan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tata letak petak percobaan

Peubah yang diamati adalah kerapatan spora, masa inkubasi, keterjadian penyakit, keparahan penyakit, tinggi tanaman, dan bobot kering brangkas. Hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji duncan pada taraf nyata 5%.

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1 Pembuatan media PDA-R**

Media *Potato Dextrose Agar-Rosebengal* (PDA-R) dibuat dengan komposisi 200 g kentang, 20 g agar batang, 20 g gula, dan ditambahkan 20 mg *rosebengal* untuk menghambat pertumbuhan koloni jamur. Setelah kentang ditimbang sebanyak 200 g lalu dikupas dan dicuci bersih kemudian dipotong-potong dan direbus dalam 1 liter aquades. Sari dari rebusan kentang tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan potongan agar, gula, dan *rosebengal* serta volumenya disesuaikan menjadi 1 liter dengan menambahkan aquades. Kemudian media PDA-R yang berada di erlenmeyer tersebut diautoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan 1 atm selama 30 menit. Sebelum media dituangkan ke dalam cawan petri, ditambahkan antibiotik *streptomycin* sebanyak 50 mg dan *chlorophenicol* sebanyak 50 mg.

#### **3.4.2 Penyiapan isolat *Trichoderma* spp.**

Isolat *Trichoderma* spp. diisolasi dari tanah pertanaman jagung yang diambil di Kabupaten Metro. Tanah yang diambil adalah tanah di sekitar pertanaman jagung sehat di antara tanaman jagung sakit. Sampel tanah sebanyak 1 g dilakukan seri pengenceran berseri  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$ , kemudian sebanyak 1 ml ditumbuhkan pada media PDA-R dengan dua kali ulangan. Isolat *Trichoderma* spp. yang didapatkan dimurnikan pada media PDA-L untuk mendapatkan kultur murni.

#### **3.4.3 Penyiapan media tanam dan penanaman jagung**

Media tanam yang digunakan adalah tanah steril sebanyak 73,5 kg pada 21 pot. Tanah disterilkan dengan menggunakan otoklaf. Tanah yang telah disterilkan

dimasukkan ke dalam pot 3,5 kg. Benih jagung ditanam sebanyak 10 benih dalam satu pot.

#### ***3.4.4 Perlakuan benih dengan *Trichoderma* spp.***

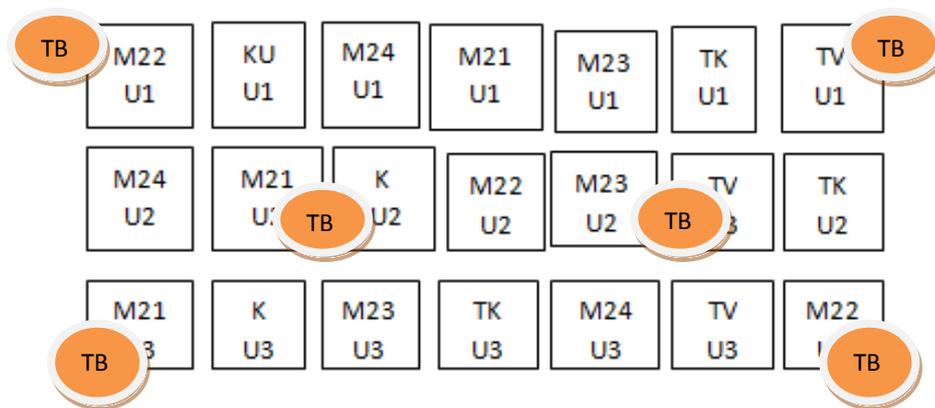
Suspensi *Trichoderma* spp. dibuat dengan cara jamur *Trichoderma* sp. dikeruk dengan menggunakan *scalpel* kemudian ditambahkan air steril  $\pm 0,5$  ml. Tiga cawan biakan *Trichoderma* sp. yang telah dikeruk dimasukkan ke dalam plastik untuk dicampurkan secara merata dengan 33 benih jagung untuk setiap perlakuan (Gambar 2), begitu pula selanjutnya untuk lima isolat *Trichoderma* spp. yang lainnya yang digunakan untuk perlakuan benih. Tiga benih jagung yang disisakan untuk setiap perlakuannya kemudian dihitung kerapatan sporanya agar dapat diketahui berapa banyak *Trichoderma* sp. yang dapat diaplikasikan pada benih jagung.



Gambar 2. Benih jagung yang diberi perlakuan benih.

### 3.4.5 Inokulasi alami dengan tanaman bergejala penyakit bulai dan hawar serta pembuatan suspensi *P. maydis*

Inokulasi penyakit dilakukan dengan dua cara yaitu secara alami dan buatan. Inokulasi alami tanaman jagung dilakukan dengan cara meletakkan tanaman jagung yang bergejala bulai dan hawar daun jagung dalam pot di sekitar tanaman uji pada petak percobaan (Gambar 3). Inokulasi alami dilakukan pada umur tanaman 3 hari setelah tanam (HST).



Gambar 3. Tata letak perlakuan dengan tanaman bergejala bulai dan hawar daun (TB).

Inokulasi buatan dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada 10 HST dan 11 HST, hal tersebut dilakukan agar dapat mengurangi resiko kegagalan dalam menginokulasi penyebab penyakit bulai pada tanaman jagung sehat. Suspensi *P. maydis* dibuat dengan cara diambil spora *P. maydis* yang ada di bawah permukaan daun jagung dengan menggunakan *scalpel* di dalam 100 ml aquades hingga aquades menjadi keruh. Inokulasi buatan pertama pada 10 HST dimulai dari pukul 02.00 - 05.00 WIB, dengan disemprotkan suspensi inokulum pada titik tumbuh setiap tanaman

dengan menggunakan *sprayer*. Inokulasi pada 11 HST dilakukan dengan cara yang sama namun yang membedakan adalah cara pembuatan suspensi *P. maydis*. Suspensi *P. maydis* dibuat dengan cara daun-daun jagung yang bergejala penyakit bulai dipotong-potong dengan ukuran 10 cm lalu direndam selama 6 jam dalam larutan gula (250 g gula : 2000 ml aquades) untuk disemprotkan pada dua petak percobaan tanaman jagung secara merata. Spora *P. maydis* diserut dengan menggunakan *scalpel* di dalam larutan gula dan daun-daun bergejala bulai yang sudah diserut maka dipisahkan dari nampan yang berisi larutan gula tersebut.

#### ***3.4.6 Pengamatan dan pengumpulan data***

Variabel yang diamati adalah masa inkubasi, keterjadian penyakit bulai, keparahan penyakit hawar daun jagung, tinggi tanaman, dan bobot brangkasan kering. Tinggi tanaman jagung diamati mulai dari 7 HST dengan interval 3 hari sekali dengan cara menggunakan meteran yang diukur dari pangkal batang tanaman jagung hingga daun jagung yang tertinggi. Masa inkubasi dan keterjadian penyakit bulai dilakukan setiap hari setelah inokulasi (HSI). Pengamatan keparahan penyakit hawar dilakukan setelah inokulasi patogen bulai dengan interval 3 hari sekali. Penimbangan bobot brangkasan dilakukan setelah tanaman jagung sudah banyak daunnya yang mengering dan setelah dilakukan pengovenan selama 3 hari.

Untuk menghitung keterjadian penyakit bulai digunakan rumus sebagai berikut :

$$KT = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

KT : Keterjadian penyakit (%)

n : Jumlah tanaman yang terserang

N : Jumlah tanaman yang diamati

Untuk menghitung persentase keparahan penyakit hawar daun jagung dengan menggunakan skor keparahan penyakit dan digunakan rumus sebagai berikut

(Efri, 2010) :

$$KP = \frac{\sum(n \times v)}{N \times V} \times 100$$

Keterangan :

n = Jumlah daun yang bergejala setiap skor

v = Skor keparahan

N = Jumlah daun yang diamati

V = Skor tertinggi

KP = Keparahhan penyakit (%)

Skor penyakit yang digunakan untuk menghitung keparahan penyakit hawar daun tanaman jagung adalah sebagai berikut (Efri, 2010) :

Skor penyakit :

0= Tidak ada infeksi

1= < 20 %

2= 21 - 40 %

3= 41 - 60 %

4= 61 - 80 %

5= 80 - 100 %