

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Januari sampai dengan Mei 2014.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan –bahan yang digunakan antara lain biakan murni *T. viride*, biakan murni *P. fluorescens*, alkohol 70%, NaOCl 1%, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), varietas jagung hibrida, varietas jagung lokal, varietas jagung manis, kertas, tisu, dan aquades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, erlenmeyer, mikroskop majemuk, mikro pipet, bunsen, alat potong, pinset, laminar air flow, autoclave, aluminium foil, plastik tahan panas, kaca preparat, kaca penutup, bor gabus, jarum ose, jarum ent, tabung reaksi, selotip, sprayer, plastik, karet gelang, timbangan elektrik, penggaris dan alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Perlakuan dalam percobaan faktorial disusun dalam rancangan acak lengkap.

Faktor pertama adalah jenis agensia hayati yang terdiri dari empat jenis yaitu, (1)

Perlakuan benih jagung dengan *T. viride*, (2) Perlakuan benih jagung dengan *P.*

fluorescens, (3) Perlakuan benih jagung dengan kombinasi antara *T. viride* dan *P.*

fluorescens, (4) Kontrol benih. Faktor kedua adalah varietas jagung yang terdiri

dari varietas jagung hibrida (VJH), varietas jagung lokal (VJL), varietas jagung

manis(VJM). Perlakuan di ulang sebanyak 4 kali, sehingga terdapat 48 unit

percobaan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyiapan Media Biakan *T. viride*

Penyiapan biakan murni *T. viride* dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan.

Biakan murni tersebut diperoleh dari biakan koleksi Laboratorium Penyakit

Tumbuhan. Untuk mempertahankan daya antagonismenya, dilakukan reisolasi ke

dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dalam cawan petri.

3.4.2 Penyiapan Media Biakan *P. fluorescens*

Penyiapan biakan murni *P. fluorescens* dilakukan di Laboratorium Penyakit

Tumbuhan. Biakan murni tersebut diperoleh dari biakan koleksi Laboratorium

Penyakit Tumbuhan. Untuk mempertahankan daya antagonismenya, dilakukan reisolasi ke dalam media King'S B dalam cawan petri.

3.4.3 Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah tanah yang dimasukkan ke dalam *polybag* berukuran 5kg. Selanjutnya *polybag* yang berisi tanah tersebut diletakkan berdasarkan hasil pengacakan, setiap *polybag* di tanam 10 benih jagung. Tanah dalam *polybag* dipertahankan kelembabannya dengan cara di siram dengan air. Dengan demikian diharapkan pertumbuhan tanaman akan baik dan sekaligus menjaga pertumbuhan mikroba tanah.

3.4.4 Pembuatan Suspensi *T. viride*

Suspensi *T. viride* di buat dengan cara mensuspensikan 3 cawan petri biakan *T. viride* yang dimasukkan ke dalam pada 1 liter air steril (aquades) dan gula sebanyak ¼ kg. Suspensi *T. viride* dengan kerapatan spora 10^6 spora/ml ini digunakan untuk perendaman benih jagung sebelum di tanam, benih di rendam selama 15 menit sebelum di tanam.

3.4.5 Pembuatan Suspensi *P. fluorescens*

Suspensi *P. fluorescens* di buat dengan cara mensuspensikan 2 cawan petri biakan *P. fluorescens* yang dimasukkan ke dalam pada 1 liter air steril (aquades) dan gula sebanyak ¼ kg. Suspensi *P. fluorescens* ini akan digunakan untuk perendaman

benih jagung sebelum di tanam, benih di rendam selama 15 menit sebelum di tanam.

3.4.6 Inokulasi spora *P. maydis*

3.4.6.1 Inokulasi Buatan

Inokulasi spora *P. maydis* dilakukan pada dini hari pukul 02.00-04.00 WIB. Daun jagung terserang bulai yang terdapat spora *P. maydis* terlebih dahulu direndam di dengan air gula selama 6 jam, kemudian daun tersebut diserut di dalam ember pada pukul 02-00. Setelah itu, air dimasukkan ke sprayer yang digunakan untuk inokulasi ke tanaman jagung. Penyemprotan dilakukan pada saat kondisi tanaman lembab dan berembun, karena pada kondisi tersebut diharapkan spora *P. maydis* menempel pada bagian daun tanaman. Penyemprotan juga dilakukan dengan menyemprotkan cairan suspensi spora pada titik tumbuh tanaman jagung.

3.4.6.2 Infeksi Alami

Infeksi alami *P. maydis* dilakukan dengan cara menanam tanaman jagung yang menunjukkan gejala penyakit *P. maydis* sebelum penanaman jagung. Tanaman yang menunjukkan gejala bulai di tanam di dalam *polybag* dan diletakkan di sekitar lokasi plot tanaman jagung. Dengan adanya infeksi alami ini, diharapkan tanaman jagung yang di tanam dapat terinfeksi *P. maydis* melalui bantuan angin.

3.4.7 Pengamatan dan Pengumpulan Data

3.4.7.1 *Keterjadian Penyakit Bulai*

Pengamatan dilakukan 2 hari sekali, dimulai saat tanaman bergejala. Dari data tersebut kemudian dihitung persentase keterjadian penyakit dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Zadoks dan Schein, 1979 dalam Sudarsono dan Ginting, 2003):

$$KP = \frac{\text{Jumlah tanaman terserang}}{\text{Jumlah tanaman seluruhnya}} \times 100\%$$

KP = Keterjadian Penyakit

3.4.8 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah statistik dengan menggunakan sidik ragam. Apabila terdapat beda nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.