III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Juni 2017 dengan menggunakan media polybag yang diletakkan di Lahan Sawah Desa Bugan, Kecamatan Sukodadi, Kabupaten Lamongan.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hand sprayer,* kamera, blangko pengamatan, timbangan, kalkulator, sabit, polybag, gembor, meteran dan nampan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah formula cair *Trichoderma* sp. dan *P. fluorescens* milik Laboratorium Mikrobiologi Kompartemen Riset PT Petrokimia Gresik, tanah sawah milik petani setempat, pupuk organik “Tulus” dibeli dari toko pertanian, pupuk Urea dan SP 36 dibeli dari toko pertanian, benih padi varietas Inpari 32 dan Situ Bagendit dibeli dari toko pertanian setempat, serta benih padi varietas Ciherang dibeli dari petani setempat.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan dengan RALF (Rancangan Acak Lengkap Faktorial) yang terdiri dari 2 faktor perlakuan dan 4 ulangan, faktor pertama yaitu jenis agens hayati dengan kode perlakuan T0 (Kontrol), T1 (*Trichoderma* sp.), T2 (*P. fluorescens*), T3 (*Trichoderma* sp. dan *P. fluorescens*) dan faktor kedua yaitu jenis varietas dengan kode perlakuan V1, V2, dan V3 (Ciherang, Situ Bagendit, dan Inpari 32). Terdapat 12 perlakuan dan 48 jumlah sampel yang akan diamati.

Tabel 1. Perlakuan dengan kode yang berbeda

No	Kode Perlakuan	Keterangan
1	T0V1	Kontrol, Ciherang
2	T1V1	*Trichoderma* sp., Ciherang
3	T2V1	*P. fluorescens*, Ciherang
4	T3V1	*Trichoderma* sp. dan *P. fluorescens,* Ciherang
5	T0V2	Kontrol, Situ Bagendit
6	T1V2	*Trichoderma* sp., Situ Bagendit
7	T2V2	*P. fluorescens*, Situ Bagendit
8	T3V2	*Trichoderma* sp. dan *P. fluorescens*, Situ Bagendit
9	T0V3	Kontrol, Inpari 32
10	T1V3	*Trichoderma* sp., Inpari 32
11	T2V3	*P. fluorescens*, Inpari 32
12	T3V3	*Trichoderma* sp. dan *P. fluorescens*, Inpari 32

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Uji Pendahuluan

Sebelumnya telah dilakukan uji antagonisme antara mikroba *Trichoderma* sp. dan *P. fluorescens* terhadap patogen *P. oryzae* pada saat kegiatan magang kerja di PT Petrokimia Gresik pada bulan Juli sampai dengan September 2016, dan didapatkan hasil bahwa terdapat zona hambat yang terbentuk. Pelaksanaan magang kerja yang dilakukan yaitu berupa *project* untuk melakukan riset tentang uji antagonisme isolat mikroba terhadap beberapa jenis patogen tanaman di kebun percobaan PT Petrokimia Gresik. Seluruh kegiatan dimulai dari isolasi patogen, pembuatan subkultur mikroba, uji antagonisme, hingga pengamatan hasil uji antagonisme telah dilakukan pada saat kegiatan magang kerja. Pengumpulan data dan analisis hasil pengamatan, dimulai dari kegiatan hari pertama sampai hari terakhir pengamatan disusun dalam bentuk laporan tertulis.

3.4.2 Persiapan *Pyricularia oryzae*

Jamur patogen *P. oryzae* disiapkan secara alami di lapang, di Lahan Sawah Desa Bugan, Kecamatan Sukodadi, Kabupaten Lamongan. Penanaman dilakukan di daerah yang diketahui endemik blas.

3.4.3 Persiapan *Pseudomonas fluorescens* dan *Trichoderma* sp.

P. fluorescens dan *Trichoderma* sp. yang akan digunakan berasal dari Laboratorium milik Kompartemen Riset PT Petrokimia Gresik. Mikroba tersebut merupakan hasil perbanyakan dari Laboratorium Mikrobiologi. Suspensi isolat

mikroba dengan kerapatan sel 10^6 sel/ml. Formula mikroba dalam bentuk cair adalah koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi yang telah siap digunakan dalam aplikasi penyemprotan.

3.4.4 Persiapan Media Tanam

Menyiapkan polybag ukuran 40 x 40 cm untuk diisi dengan media tanam yaitu tanah+ pupuk organik dengan perbandingan 3 : 2. Media tanam berupa tanah dan pupuk organik yang telah homogen dimasukkan sebanyak 8 kg ke dalam polybag berwarna hitam. Polybag yang digunakan sebanyak 48. Selanjutnya polybag yang telah diisi oleh media tanam diletakkan sesuai dengan tata letak percobaan. Penyiapan media tanam ini dilakukan satu minggu sebelum tanam. Masing-masing polybag ditanami dua bibit padi. Polybag diletakkan di dekat lahan sawah yang diketahui endemik penyakit blas. Pengairan dilakukan seperlunya sesuai dengan perkembangan tanaman, apabila curah hujan tinggi tidak perlu dilakukan penyiraman atau pengairan.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Penanaman

Bibit yang akan ditanam adalah bibit yang berumur 21 hari setelah semai, berdaun 5 - 7 helai. Benih padi disemai terlebih dahulu umur 21 hari setelah semai, lalu ditanam di polybag. Benih yang akan disemai sebelumnya harus direndam terlebih dahulu sekitar 1 x 24 jam dalam ember atau wadah lainnya, hal ini dilakukan agar benih menyerap air yang dibutuhkan untuk perkecambahannya. Bibit ditanam dua bibit per lubang tanam.

3.5.2 Pemeliharaan

Perawatan dan pemeliharaan tanaman sangat penting dalam budidaya padi. Hal-hal yang dapat dilakukan yaitu pengairan, penyulaman dan penyiangan gulma. Pengairan diberikan secara macak-macak pada saat padi setelah tanam sampai padi berbunga. Setelah pertumbuhan bunga merata tanaman digenangi air setinggi 2 - 3 cm sampai padi menguning. Penyulaman dilakukan pada pagi atau sore hari apabila ada tanaman yang mati atau rusak. Kegiatan penyulaman dilakukan sampai dengan 10 HST. Tanaman disiangi dari gulma-gulma setiap minggunya sebelum pemupukan, kegiatan penyiangan dilakukan dengan cara mencabut gulma dan dimatikan tanpa alat.

3.5.3 Pemupukan

Pemupukan dilakukan berdasarkan rekomendasi Dinas Pertanian Lamongan yaitu Urea = 280 kg/ha, dan SP 36 50 kg/ha dengan pedoman dasar pada umur 0 HST (Urea 1/3 bagian + SP 36 1/2 bagian), susulan I umur 21 HST (1/3 Urea + 1/3 SP 36) susulan II 45 HST (1/3 Urea) Perhitungan (lampiran 2). Dosis anjuran masih dalam satuan kg/ha, oleh karena itu dilakukan konversi terlebih dahulu untuk mengetahui dosis pupuk yang akan diberikan pada masing-masing polybag. Dari hasil konversi kebutuhan pupuk setiap polybag mendapatkan 1,12 gram Urea dan 0,20 gram SP 36, agar efektif dan efisien penggunaan pupuk disesuaikan dengan kebutuhan dan perkembangan tanaman serta ketersediaan hara dalam tanah.

3.5.4 Aplikasi Agens Hayati

Aplikasi agens hayati dilakukan setelah pengamatan pendahuluan, pengamatan pendahuluan dimulai dari 0 HST sampai 15 HST. Apabila telah ditemukan gejala serangan maka dilakukan penyemprotan agens hayati pada tanaman sesuai dengan perlakuan. Penyemprotan dilakukan dengan *hand sprayer* dengan waktu 1 minggu (7 hari) sekali, 15 HST sampai 60 HST. Aplikasi dilakukan pada pagi atau sore hari dengan tujuan agar tidak terkena sinar matahari untuk mencegah rusaknya mikroba antagonis akibat sinar matahari. Agens hayati yang diaplikasikan memiliki kerapatan 10^6 sel mikroba/ml, sebanyak 10 ml/polybag. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Damanik *et al*., 2013), aplikasi dilakukan pada sore hari, mulai pukul 15.00, waktu aplikasi dihindari waktu terik matahari untuk mencegah rusaknya bakteri akibat sinar matahari. Aplikasi agens hayati diaplikasikan sebanyak 10^6 sel/ ml.

3.5.5 Panen

Tujuan pemanenan padi adalah untuk mendapatkan gabah dari lapangan pada tingkat kematangan optimal. Pemanenan padi tidak akan menguntungkan dan memuaskan jika prosesnya dilakukan dengan cara yang kurang benar dan pada umur panen yang tidak tepat. Panen harus dilakukan apabila bulir padi sudah dianggap cukup masak, 95% gabah sudah menguning, dan umur optimal malai 30-35 hari terhitung sejak masuk fase pematangan. Pemanenan dilakukan dengan cara menggunakan sabit.

3.6 Pengamatan Penelitian

Variabel yang diamati adalah tingkat keparahan penyakit blas, pertumbuhan, dan hasil produksi tanaman. Akan didapatkan hasil mengenai pengaruh agens hayati dan varietas terhadap intensitas penyakit. Pengamatan intensitas penyakit pada tanaman dilakukan dengan cara mengamati adanya gejala khas dari penyakit blas yaitu gejala belah ketupat pada permukaan daun padi. Pengamatan dilakukan setiap minggu dimulai dari 2 MST, 3 MST, 4 MST, dan 5 MST. Tingkat keparahan penyakit dihitung dengan rumus: Keterangan: I = Intensitas serangan penyakit, (%), n= Jumlah tanaman yang terserang, v= Nilai skala yang terserang, N = Jumlah seluruh daun yang diamati, Z = Skala tertinggi dari kategori skala serangan. Parameter pengamatan pertumbuhan terdiri atas: jumlah daun, jumlah anakan, dan tinggi tanaman. Parameter pengamatan hasil produksi tanaman meliputi: jumlah malai per rumpun, bobot gabah per rumpun, jumlah gabah per malai, bobot 1000 butir, dan bobot gabah kering panen.

Perhitungan intesitas serangan penyakit yang digunakan oleh (Octa, 2007) adalah dengan rumus:

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

Keterangan:

I : Intensitas serangan penyakit (%)

n : Jumlah daun tanaman yang terserang

v : Nilai skala yang terserang

N : Jumlah seluruh daun yang diamati

Z : Skala tertinggi dari kategori skala serangan

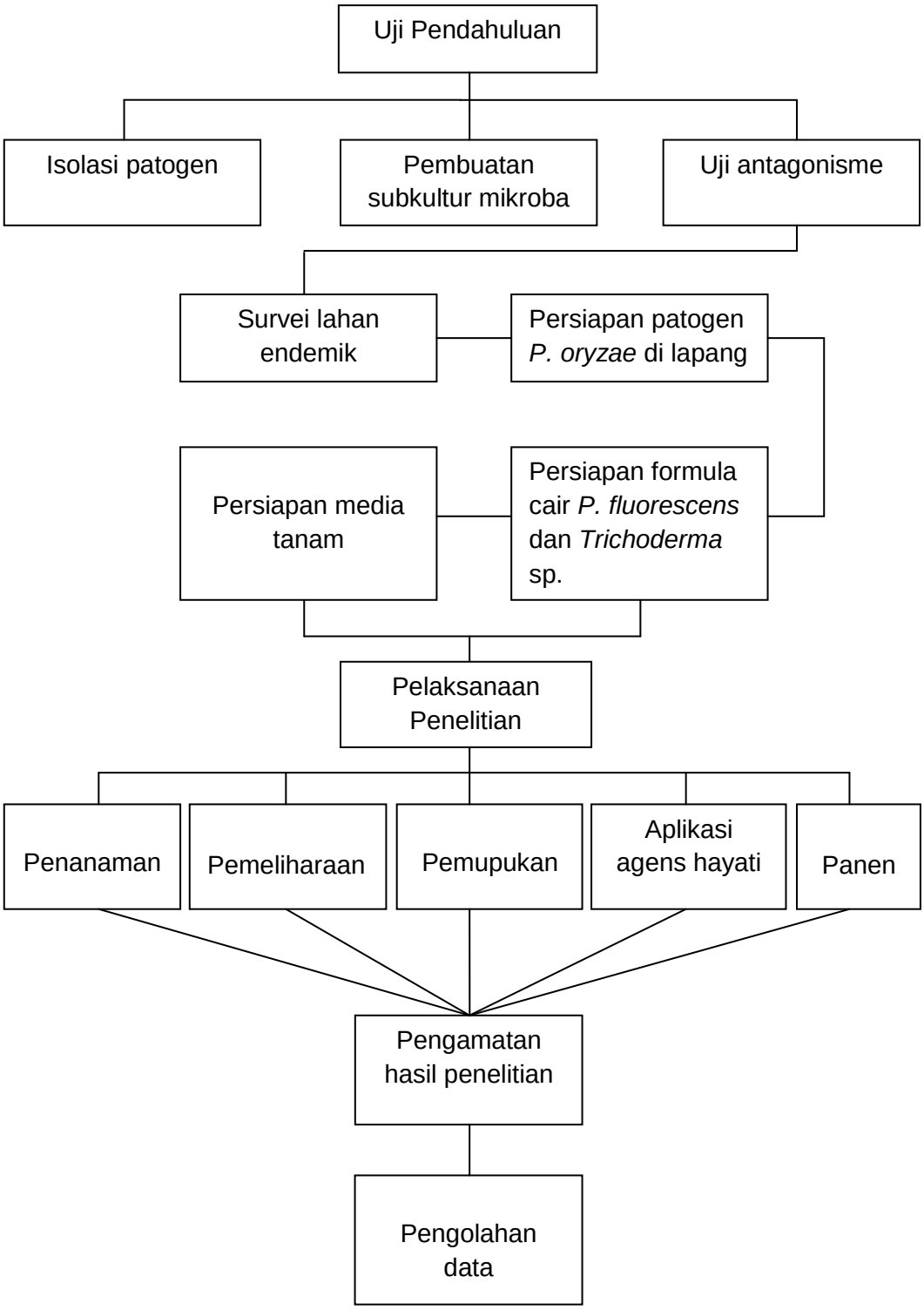
Tabel 2. Skala kerusakan (skor penyakit) pada tanaman (Tim Dosen Modul Praktikum PHEP Jurusan HPT FPUB, 2011)

Skor Penyakit	Uraian
0	Tidak ada infeksi
1	Luas permukaan tanaman atau bagian tanaman yang terserang lebih besar dari 0% sampai 10%
2	Luas permukaan tanaman atau bagian tanaman yang terserang lebih besar dari 10% sampai 25%
3	Luas permukaan tanaman atau bagian tanaman yang terserang lebih besar dari 25% sampai 50%
4	Luas permukaan tanaman atau bagian tanaman yang terserang lebih besar dari 50%

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisis ragam (uji F) dua arah (two way) dengan taraf nyata 5%, selanjutnya dilakukan uji lanjut Duncan taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Pengelompokan katagori ketahanan dihitung berdasarkan metode Castillo *dkk*., (1978, *dalam* Heroetadji,1983).

3.8 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 10. Kerangka operasional penelitian