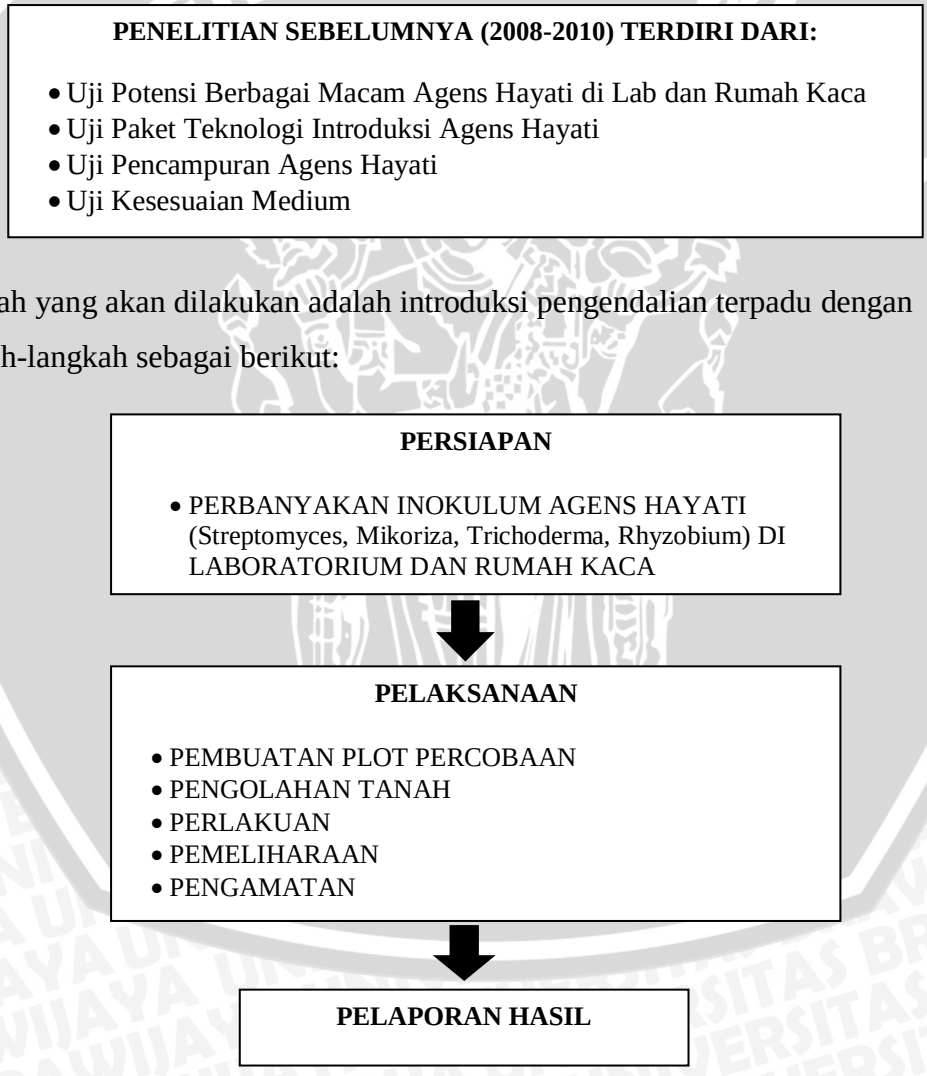
BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama lebih kurang 6 bulan terhitung sejak bulan Juli 2012. Dimana kegiatan penelitian ini dilaksanakan di lahan percobaan seluas ± 0,25 ha. Yang terletak di Dusun Bendungan Desa Landungsari Kecamatan Dau Kabupaten Malang – Jawa Timur.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan, dimana sebelumnya telah dilakukan beberapa uji mengenai agens hayati. Secara keseluruhan langkah-langkah penelitian selengkapnya dibuat diagram alur seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Diagram alur kegiatan penelitian

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang dgunakan dalam penelitian ini antara lain : cangkul, sabit, tugal, timbangan, meteran/penggaris, handcounter, alat tulis, kamera, bak/ember, plastik, tali rafia, karung, terpal, ayakan.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : biakan murni (*Streptomyces, Mikoriza, Trichoderma,* dan *Rhyzobium*) yang merupakan koleksi dari Prof. Dr. Ir. H. Ika Rochjdatun S. (Sub-laboratorium mikologi Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya), biji kedelai varietas burangrang yang didapat dari Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI) Kendalpayak - Malang, pupuk kandang 2 ton/ha (2500 kg/0,25 ha), tiang bambu, label (plastik).

3.3. Persiapan Penelitian

3.3.1. Perbanyakan Inokulum Agens Hayati

Perbanyakan inokulum agens hayati (*Streptomyces, Mikoriza, Trichoderma, Rhyzobium*) bertujuan untuk menyediakan inokulum berdasarkan genusnya guna memenuhi kebutuhan pada percobaan berikutnya. Metode perbanyakan antagonis dilakukan dengan menumbuhkan saproba potensial dalam medium semi sintetis dalam botol-botol kaca atau Erlenmeyer (Johnson *dkk*, 1959). Isolat *Streptomyces* diperbanyak pada medium tanah yang dicampur oat meal atau corn meal sebagai medium semi sintetis agar supaya membentuk massa koloni (Oduro, *dkk*. 1976). Campuran medium tersebut dimasukkan ke dalam botol erlenmeyer, sebanyak 200 g per botol. Selanjutnya medium tersebut disterilkan dalam autoclave pada tekanan 1,5 atm dengan suhu 121^{o}C selama 15 menit. Setelah dingin medium diinokulasi dengan 5 potongan biakan Streptomyces diameter koloni 5 mm yang berumur 5 hari. Inokulum diinkubasikan pada suhu kamar selama 21 hari untuk persiapan inokulasi pada media tanam.

Metode perbanyakan mikoriza mengacu pada metode Sieverding (1991). Perbanyakan massal dilakukan pada inang tanaman jagung yang ditanam pada pot plastik dengan media tumbuh tanah steril. Spora mikoriza yang akan dibiakkan diinokulasikan sebanyak 5-10 spora (2 cm di bawah letak benih yang telah ditanam).

Spora yang diinokulasikan diletakkan dalam corong kertas yang terbuat dari kertas tisu untuk menghindari merembesnya spora ke bagian yang lebih dalam. Selanjutnya benih ditutup dengan tanah setinggi 4 cm dan dilakukan perawatan sebaik mungkin. Setelah tanaman berumur 45 hst (hari setelah tanam), tanaman dipanen dengan cara membongkar akar beserta tanahnya untuk mendapatkan spora mikoriza. Apabila pada pengamatan mikroskopis didapatkan spora mikoriza dengan jumlah yang mencukupi, maka siap untuk digunakan sebagai sumber inokulan.

3.3.2. Penyediaan benih

Benih kedelai yang dipergunakan dalam penelitian adalah varietas Burangrang yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI), Jl. Raya Kendalpayak Km 8, Malang.

3.4. Metode Pelaksanaan

Tujuan percobaan adalah untuk mengamati pengaruh perlakuan agens hayati pada bibit tanaman kedelai terhadap serangan patogen dan hasilnya apabila didaerah endemik penyakit rebah semai. Percobaan ini dilaksanakan pada suatu daerah endemik penyakit rebah semai di Malang, dimana kedelai ditanam secara berturutan (dua musim tanam) pada lokasi yang sama.

Untuk menguji hal tersebut di atas maka digunakan Rancangan Acak Kelompok, yang diulang sebanyak 6 kali. Adapun jenis perlakuannya terdiri dari:

a. Perlakuan agens hayati campuran (*Streptomyces*, *mikoriza*, *Trichoderma*, *dan Rhyzobium*)
b. Pemberian pupuk organik (kandang)
c. Pengaturan jarak tanam

Dengan kombinasi sebagai berikut:

1. Agens hayati + pupuk kandang + jarak tanam 20 x 20 cm
2. Agens hayati + pupuk kandang + jarak tanam 15 x 15 cm
3. pupuk kandang + jarak tanam 20 x 20 cm
4. pupuk kandang + jarak tanam 15 x 15 cm
5. Kontrol + jarak tanam 20 x 20 cm
6. Kontrol + jarak tanam 15 x 15 cm

Percobaan lapangan ini dilaksanakan di kebun percobaan lahan petani yang menunjukan daerah endemik penyakit rebah semai.

3.4.1. Pembuatan Plot Percobaan

Pertama dilakukan persiapan lahan berupa pengolahan tanah dan membuat petak dan guludan berukuran 3 x 4 m dan tinggi 30 cm, pada petak tersebut kedelai ditanam dengan jarak sesuai perlakuan. Diantara dua petak dipisahkan dengan sistem draenase selebar 40 cm, jarak antar blok 1 m. Selanjutnya tanah dibalik dengan cara mencangkul sedalam lapisan olah. Pengolahan tanah ini dilakukan 2 minggu sebelum tanam. Metode di atas didasarkan pada penelitian Adisarwanto dan Suhartina (1995), dan Taufiq dan Sudaryono (1995).

3.4.2. Penanaman

Kedelai ditanam dengan jarak sesuai perlakuan. Biji yang ditanam sebelumnya telah diperlakukan dengan agens hayati sesuai dengan perlakuan yang diujicobakan.

3.4.3. Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi pemupukan, penyiraman, pengendalian gulma dan pengendalian hama. Pemupukan disesuaikan dengan perlakuan.

Pengendalian gulma dilakukan secara mekanis dengan mencabut gulma yang tumbuh. Pelaksanaan dapat setiap saat bila terdapat gulma disekitar tanaman uji.

Penyiraman dilakukan dua hari sekali saat tanaman muda tetapi setelah tanaman dewasa dilakukan penyiraman 3 hari sekali disesuaikan dengan kebutuhan tanaman sehingga tidak mengalami kekeringan. Selanjutnya pencegahan terhadap serangan hama dilakukan dengan menggunakan pestisida.

3.4.4. Pengamatan

a. Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati pada percobaan lapangan antara lain: 1) tingkat serangan patogen rebah semai pada kedelai dengan cara menghitung banyaknya tanaman sakit dibagi populasi tanaman dalam masing-masing perlakuan,

pengamatan diamati setiap minggu (7 hari) agar supaya dapat dihitung kecepatan laju infeksinya ; 2) pertumbuhan tanaman meliputi tinggi tanaman pada sampel dengan mengukurnya dari pangkal batang ke tinggi tajuk dalam rumpun setiap minggu sekali; 3) hasil panen tanaman (berat polong dan biji). Pengamatan hasil panen tanaman berupa berat biji setelah melalui proses pengeringan yang dilakukan dengan cara menjemur biji pada bak penjemuran selama 3-7 hari, hal ini tergantung pada kualitas dan kuantitas sinar matahari.

b. Masa Inkubasi dan Gejala.

Masa inkubasi adalah periode waktu dari inokulasi sampai munculnya gejala. Pengamatan dilakukan mulai satu hari setelah inokulasi sampai munculnya gejala pertama pada semua perlakuan.

c. Jumlah Tanaman Tumbuh dan Mati

Penghitungan jumlah tanaman tumbuh dilakukan satu minggu setelah penanaman kedelai.

d. Jumlah Tanaman Layu/Terserang

Penghitungan jumlah tanaman yang layu/terserang bertujuan untuk mengetahui intensitas serangan *Sclerotium rolfsii*. Pengamatan dilakukan pada umur tanaman 1,2,3, dan 4 minggu setelah tanam (mst). Intensitas serangan penyakit (%) dihitung menggunakan rumus :

$$I = \frac{a}{b} x100\%$$

Keterangan :

I : adalah persentase tanaman yang terserang.

a : adalah jumlah tanaman terserang.

b : adalah jumlah keseluruhan tanaman.

e. Pertumbuhan dan Produksi Tanaman

Variabel pengamatan pertumbuhan dan produksi tanaman dilakukan pada komponen hasil tanaman pada saat panen meliputi :

- ✓ Tinggi Tanaman Kedelai

  Pengamatan tinggi tanaman dilakukan setiap 10 hari sekali. Tinggi tanaman diukur dari pangkal batang sampai ujung tertinggi tanaman (cm). Pengukuran dilakukan mulai dari dua minggu setelah tanam (mst) sampai panen.

- ✓ Penghitungan Jumlah Polong per Tanaman

  Penghitungan jumlah polong dilakukan pada polong hampa per tanaman dan juga jumlah polong isi per tanaman. Jumlah polong per tanaman dihitung untuk mengetahui potensi tanaman di dalam membentuk polong.

- ✓ Berat Brangkasan per 100 Tanaman

  Penghitungan berat brangkasan diperoleh dengan cara melakukan pengeringan terlebih dahulu brangkasan kedelai pada suhu 60°C dengan cara dioven atau dilakukan penjemuran, selanjutnya dilakukan penimbangan.

- ✓ Berat Biji per Tanaman

  Data berat biji per tanaman diperoleh dengan cara mengambil polong yang berbiji yang sudah dioven selama 2x24 jam pada suhu 80°C dan selanjutnya bijinya ditimbang.

- ✓ Berat 100 biji

  Data bobot 100 biji diperoleh dengan cara mengambil 100 biji secara acak dari setiap perlakuan. Kemudian ditimbang dan pengambilan 100 biji secara acak diulang empat kali. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kualitas hasil produksinya.

3.5. Analisis Hasil

Semua komponen pengamatan hasilnya dianalisis secara statistika dengan menggunakan Uji F dan Duncan atau BNT untuk melihat tingkat sigifikansinya pada taraf kepercayaan 95 %, demikian pula pola perkembangan penyakit yang berjalan selama dua kali tanam dianalisis scara statistika sehingga didapat rumusannya. Analisis hasil tersebut dilakukan dengan menggunakan program komputer (software) SPSS. Disamping itu dilakukan pula analisis terhadap laju infeksi penyakit (*disease infection rate*).