

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Pertanian dan Kebun Percobaan UPT (Unit Pelayanan Teknik) Fakultas Pertanian Universitas Riau Pekanbaru. Penelitian ini dilaksanakan selama 8 bulan, dari bulan Maret sampai Oktober 2007.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah bibit kelapa sawit yang telah berumur 3 bulan varietas Tenera (Dura X Pisifera) yang berasal dari PPKS Marihat Pematang Siantar, tanah gambut yang di ambil dari Desa Rimbo Panjang Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar, *dregs* yang diambil dari salah satu pabrik kertas yang ada di Provinsi Riau, isolat jamur *Trichoderma viride* TNJ 63 dari Laboratorium Biokimia FMIPA UNRI, *lactophenol blue*, pupuk NPK Mg 15.15.6.4, NPK Mg 12.12.17.2, Kieserite, *Potato Dextrosa agar* (PDA), plastik tahan panas paralon, kertas *warp*, plastik 6 kg, alkohol 70%, aquades steril, kertas saring, *aluminium foil*, tissue gulung, jagung pipilan sebagai substrat *Trichoderma* sp, *polybag* ukuran 6 kg dan *polynet*.

Alat-alat yang digunakan adalah parang, pisau, sarung tangan plastik, *seed bed* cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer 250 ml, 500 ml, mikroskop binokuler, gelas piala 200 ml, gelas ukur, *cork borer*, batang pengaduk, jarum ose, pinset, *autoclave*, *laminar air flow cabinet* (ruang isolasi), kaca objek, kaca penutup, pipet tetes, lampu bunsen, inkubator, kulkas, botol semprot plastik, timbangan analitik, timbangan biasa, saringan, kompor gas, cangkul, gembor, ember, sekop, meteran, ayakan, termometer dan alat-alat tulis lainnya.

3.3. Metode Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan observasi di tempat penelitian kebun percobaan UPT UNRI yang terdapat bibit kelapa sawit yang terserang penyakit sebagai sumber inokulum penyakit tanaman. Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen dengan

menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor:

Faktor I adalah dosis *T. viride* yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

- T0 : Tanpa pemberian *T. viride*
- T1 : *T. viride* 25 g/kg gambut
- T2 : *T. viride* 50 g/kg gambut
- T3 : *T. viride* 75 g/kg gambut

Faktor II adalah dosis *dregs* yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

- D0 : Tanpa pemberian *dregs*
- D1 : 10 g *dregs*/ kg gambut
- D2 : 20 g *dregs*/ kg gambut
- D3 : 30 g *dregs*/ kg gambut

Dari kedua faktor tersebut diperoleh 16 kombinasi perlakuan yang masing-masing perlakuan tersebut terdiri dari tiga (3) ulangan, sehingga diperoleh 48 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 3 tanaman sehingga jumlah keseluruhnya adalah 144 bibit yang ditanam dalam *polybag*.

Data jenis dan gejala penyakit fisiologis, jenis dan gejala penyakit biotik hasil identifikasi patogen dianalisis secara statistik deskriptif. Data gejala serangan pertama dari masing-masing jenis penyakit dan tingkat kerusakan tanaman akibat serangan masing-masing penyakit dianalisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam dengan persamaan linear sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \tau_k + (\alpha\tau)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Dimana:

Y_{ij} = nilai hasil pengamatan pada faktor *T. viride* taraf ke-I dan faktor *dregs* taraf ke-j

μ = nilai rata-rata tengah

α_i = efek faktor *T. viride* taraf ke-i

β_j = efek blok taraf ke-j

$(\alpha\tau)_{ij}$ = efek interaksi pada faktor *T. viride* taraf ke-I dan faktor *dregs* taraf ke-j

E_{ijk} = efek error pada faktor *T. Viride* dan *dregs* taraf ke-i dan blok taraf ke-j dan

ulangan ke-k

Data hasil analisis statistika diuji lanjut dengan uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Di Lapangan

3.4.1.1. Persiapan Tempat Penelitian

Tempat penelitian yang digunakan adalah lahan yang memiliki topografi datar. Kemudian dilakukan pengukuran luas lahan dengan ukuran 14 m x 4,5 m untuk meletakkan medium percobaan dengan jarak antar *polybag* (76x75x75) cm. Jarak antara kelompok 75 cm. Penempatan masing-masing kombinasi perlakuan pada setiap kelompok dilakukan secara acak. Lahan yang sudah diukur kemudian dibersihkan dengan menggunakan cangkul dari vegetasi gulma dan sisa-sisa tanaman lainnya.

3.4.1.2. Persiapan Medium Tanam

Tanah gambut diambil dari daerah Rimbo Panjang dengan tingkat kematangan yang tergolong kategori tanah saprik. Teknik pengambilannya dilakukan secara komposit yaitu dengan membersihkan gulma dipermukaan lahan terlebih dahulu kemudian gambut diambil dengan kedalaman 0-30 cm dari permukaan tanah. Tanah gambut yang diambil untuk medium tanam tersebut dikeringanginkan dan diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 6 mesh. Kemudian tanah gambut ditimbang sebanyak 5 kg dan dimasukkan ke dalam *polybag* yang berukuran 6 kg. Pengisian harus cukup padat hingga akar tertutup oleh tanah, dan disiram setiap hari sebelum ditanam. Bagian atas *polybag* dibiarkan tidak diisi tanah agar pupuk yang ditaburkan tidak hanyut sewaktu penyiraman.

3.4.1.3. Pemberian Dregs

Dregs yang sudah dihancurkan dan dikeringanginkan, kemudian diberikan pada medium gambut yang sudah berada dalam *polybag* seminggu sebelum pemberian *T. viride* sesuai dengan perlakuan. Caranya dengan menaburkan *dregs*

pada medium tanam dan diaduk sampai *dregs* dan tanah tercampur merata. Campuran *dregs* dan tanah diinkubasi selama 2 minggu.

3.4.1.4. Infestasi *T. viride*

Starter *T. viride* TNJ 63 dicampur dengan tanah gambut dalam *polybag* sesuai dengan dosis dan perlakuan yang telah diberi *dregs* dan diaduk sampai rata. Kemudian diinkubasi selama 4 minggu (1 bulan). Selama inkubasi pengadukan dan penyiraman terus dilakukan agar bahan organik bisa tercampur rata dan pada akhir inkubasi dilakukan penanaman.

3.4.1.5. Penanaman

Penanaman dilakukan pada sore hari dengan tujuan agar tanaman tidak mengalami evapotranspirasi yang tinggi, yang mengakibatkan tanaman akan layu. Bibit yang berumur 3 bulan dipindahkan kedalam *polybag* yang berukuran 6 kg. Tanah disekeliling lubang ditekan sampai rata, setelah itu dilakukan penambahan tanah gambut hingga sebatas leher akar, hingga akar yang ada pada tanaman tertutup oleh tanah.

3.4.1.6. Pemupukan

Pemupukan kelapa sawit dilakukan dengan menggunakan pupuk majemuk NPKMg. Jenis pupuk yang dipakai adalah pupuk majemuk NPKMg 15-15-6-4 sampai umur lima bulan dan selanjutnya dipakai pupuk majemuk NPKMg 12-12-17-2 dan Kieserite. Jadwal pemberian pupuk mengikuti anjuran PPKS (2005), sedangkan dosis diberikan setengah dari anjuran PPKS (2005) dapat dilihat pada lampiran 4, karena diharapkan terjadi penambahan hara dari *dregs* dan hasil dekomposisi oleh *T. viride*.

3.4.1.7. Pengambilan Bagian Daun yang Terserang Penyakit

Bagian daun yang terserang penyakit diambil pada saat munculnya gejala dengan menggunakan pisau culter, kemudian dimasukkan dalam plastik ukuran 2 kg dan diberi label yang ditulis lokasi, waktu pengambilan sampel, kemudian sampel dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam kulkas untuk diisolasi dan identifikasi.

3.4.1.8.1. Pemeliharaan

3.4.1.8.1.1. Penyiraman

Kebutuhan air pada bibit kelapa sawit dipembibitan utama diberikan sesuai dengan kebutuhan. Penyiraman dilakukan 2 kali sehari pada pagi dan sore hari. Penyiraman tidak dilakukan jika terjadi hujan. Penyiraman dilakukan dengan menggunakan gembor.

3.4.1.8.1.2. Penyiangan

Penyiangan dilakukan secara fisik dan mekanik dengan membersihkan gulma yang tumbuh didalam *polybag* atau medium tanam dan di sekeliling areal pertanaman.

3.4.8.3. Pengendalian Hama

Pengendalian hama dilakukan secara mekanik yaitu dengan membuang hama yang menyerang bibit disekitar areal pertanarman dan dengan pemberian *polynet* supaya tanaman tidak terserang atau terganggu oleh hewan mamalia. Pengendalian penyakit tidak dilakukan karena dengan penggunaan *Trichoderma viride* (TNJ 63) dan *dregs* diharapkan dapat mengendalikan penyakit.

3.4.2. Di Laboratorium

3.4.2.1. Penyiapan Starter *Trichoderma viride*

Isolat *T. viride* TNJ 63 diperoleh dari koleksi Laboratorium Biokimia UNRI yang memiliki keunggulan seperti peranannya sebagai dekomposer dan agen pengendali penyakit tanaman. Menurut Nugroho dkk (2003), *T. Viride* mengandung enzim selulose yang merupakan multi enzim dan memiliki 3 jenis kitinase. Isolat tersebut direisolasi dengan memindahkan hifa yang tumbuh ke dalam medium PDA sebanyak 4 cawan petri dengan menggunakan jarum ose yang telah disterilkan diatas lampu bunsen dan isolasi dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* dan diinkubasi selama 7 hari, kemudian diambil koloni jamur yang tumbuh dan diisolasi dengan memindahkan kedalam cawan petri baru yang telah berisi PDA baru sampai diperoleh biakan murni.

Biakan murni tersebut dicampurkan dengan jagung pipilan sebagai substrat starter *T. Viride* dan diinkubasi selama 7 hari. Perbanyakkan massa jamur *T. viride* dan Komposisi serta cara kerja pembuatan starter pada medium jagung dapat dilihat pada lampiran 2.

3.4.2.2. Persiapan Isolasi

Bagian daun yang terserang penyakit ditumbuhkan terlebih dahulu dengan cara penanaman jaringan untuk merangsang sporulasi. Bagian daun yang terinfeksi jamur pada perbatasan sehat dan sakit dipotong 1 x 1 cm dan dilakukan desinfektan permukaan dengan cara mencelupkan bagian tanaman yang terinfeksi kedalam alkohol 70% selama 3 menit dan dicelupkan ke dalam aquades steril, bagian daun yang telah dipotong diletakkan ke cawan petri yang telah berisi PDA sebanyak 5 bagian, kemudian diinkubasi selama satu minggu.

3.4.2.3. Isolasi Penyebab Penyakit

Hifa yang telah tumbuh pada teknik penanaman jaringan diambil dengan menggunakan jarum inokulasi steril. Setelah itu diletakkan dalam cawan petri baru yang berisi medium PDA, ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari. Setelah diperoleh biakan murni kemudian jamur tersebut diidentifikasi.

3.4.2.4. Inokulasi Penyebab Penyakit

Inokulasi penyebab penyakit tidak dilakukan karena infestasi penyakit diharapkan terjadi secara alami karena pada lokasi penelitian kebun percobaan Program Agribisnis University (PAU) Universitas Riau penyakit bercak daun *Curvularia lunata* dengan tingkat kerusakan 50,41 %, penyakit bercak daun *Pestalotia* sp dengan tingkat kerusakan 8,77 %, bercak daun *Cercospora elaidis* 53,26 % dan layu yang disebabkan *pythium* sp dengan tingkat serangan 20%.

3.4.2.5. Identifikasi Penyebab Penyakit

Identifikasi patogen dianalisis secara deskriptif Patogen diidentifikasi secara makrokopis dan mikrokopis berdasarkan metode Barnett (1972) dan Hunter (1972). Identifikasi secara makrokopis dilakukan secara visual dengan menggunakan mata secara langsung sedangkan identifikasi mikrokopis dilakukan dengan metode preparat basah dengan cara meletakkan miselium pada objek yang telah dibersihkan dengan

alkohol 70%, aquades dan *lactophenol blue*. Setelah itu ditutup dengan kaca penutup dan diamati dibawah mikroskop binokuler dengan pembesaran lemah (10x10), pembesaran sedang (10x40) dan pembesaran tinggi (10x100). berdasarkan metode (Schaad, 1998) dan (Klemert, 1990).

3.5. Pengamatan

3.5.1. Diagnosa Awal Penyakit Lapangan.

Diagnosa awal penyakit dilapangan dilakukan pada saat munculnya gejala dengan mengamati gejala serangan penyakit pada bibit kelapa sawit secara visual dengan membandingkan gejala tersebut pada buku literatur. Tujuannya untuk membedakan penyakit fisiologis dan biotik.

3.5.2. Gejala Munculnya Serangan Pertama Masing-masing Jenis Penyakit/hari

Gejala munculnya serangan pertama dari masing-masing penyakit pada bibit kelapa sawit dilakukan setiap hari mulai dari penanaman sampai akhir penelitian, berdasarkan gejala pertama masing-masing penyakit yang mungkin menyerang di pembibitan utama.

3.5.3. Karakteristik Makrokopis

Pengamatan karakteristik makrokopis dilakukan secara visual terhadap masing-masing isolat 5-7 hari setelah inkubasi (hsi), meliputi :

3.5.3.1. Warna Miselium

3.5.3.2.. Arah Pertumbuhan Miselium

3.5.3.3. Bentuk Miselium

3.5.4. Karakteristik Mikrokopis

Pengamatan karakteristik mikrokopis dilakukan di medium PDA isolat 7 hsi dengan metode preparat basah dengan menggunakan mikroskop meliputi :

3.5.4.1. Warna Hifa

3.5.4.2. Konidiofor

3.5.4.3. Makrokonidia dan Mikrokonidia

3.5.5. Intensitas Serangan Masing-masing Penyakit (%)

Intensitas serangan tanaman akibat serangan penyakit dihitung berdasarkan gejala serangan penyakit apakah termasuk penyakit yang bergejala mutlak (misalnya layu, virus mosaik) atau bervariasi (misalnya penyakit bercak daun, *blac spot*).

Menurut Natawigena (1993) tingkat kerusakan serangan yang bergejala mutlak dihitung dengan menggunakan rumus :

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

P = persentase tanaman/ bagian tanaman terserang

n = jumlah tanaman/ bagian tanaman yang terserang

N = jumlah tanaman/ bagian tanaman yang diamati

Untuk mengukur (menilai) intensitas serangan penyakit yang bergejala bervariasi digunakan metoda ratings (skala). Skala ini biasanya dibagi dalam 5 atau 6 klas yang bertujuan untuk membedakan tingkat-tingkat serangan patogen dengan memberikan keterangan yang jelas mengenai tiap-tiap kategori (Natawigena, 1990).

Rumus yang digunakan dalam metoda ini adalah:

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

I = persentase infeksi atau intensitas serangan

n = jumlah daun dari tiap kategori

v = harga (nilai) numerik (skala) dari tiap kategori

Z = jumlah numerik (skala) dari kategori tertinggi

N = jumlah daun yang diamati

Skala yang digunakan dalam penilaian serangan penyakit ini adalah :

0 = tidak ada serangan terhadap daun yang diamati

1 = terdapat serangan dengan luas 0 - <25% terhadap daun yang diamati

2 = terdapat serangan dengan luas > 25 – 50 % terhadap daun yang diamati

3 = terdapat serangan dengan luas >50 – 75 % terhadap daun yang diamati

4 = terdapat serangan dengan luas > 75 % terhadap daun yang diamat