

BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Laboratorium Tanaman dan di Kebun Percobaan Unit Pelaksana Teknis (UPT) Fakultas Pertanian, Universitas Riau Pekanbaru, Kampus Bina Widya, Kecamatan Tampan, Kelurahan Simpang Baru Parau, Kota Pekanbaru, dengan ketinggian tempat 10 m dpl. Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan mulai dari bulan Mei sampai bulan Agustus 2009.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih akasia jenis *A. crassicarpa* didapat dari salah satu pabrik kertas yang ada di Riau, tanah gambut kategori kematangan saprik yang di ambil dari Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar, *dregs* dan sumber inokulum berupa isolat jamur *F. oxysporum* yang diambil dari salah satu pabrik kertas yang ada di Riau, isolat *Trichoderma pseudokoningii* T-ks, yang diperoleh dari Laboratorium Penyakit Tumbuhan, *Potato Dextrose Agar* (PDA), paralon diameter 1 inci, kertas label, kertas saring, alkohol 70%, tissue gulung, jagung sebagai substrat *Trichoderma* sp, pasir dan *polybag* yang berukuran panjang 22 cm, lebar 14 cm, dan tebal 0,07 mm.

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer 500 ml, mikroskop, gelas piala 200 ml, gelas ukur, batang pengaduk, jarum ose, pinset, plastik tahan panas, *cork borer*, autoclave, laminar air flow cabinet (ruang isolasi), kaca objek, kaca penutup, pipet tetes, lampu bunsen, inkubator, oven, kulkas, botol semprot plastik, kain kassa, pisau steril, timbangan analitik, timbangan biasa, saringan, kompor gas, cangkul, parang, ember, skop, sarung tangan, meteran, hektar dan alat-alat tulis lainnya.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, yang terdiri dari 2 faktor.

Faktor I adalah) dosis *dregs* yang terdiri dari 5 taraf yaitu:

- D0 = tanpa pemberian *dregs*
- D1 = 2,5 g *dregs*/ kg gambut
- D2 = 5 g *dregs*/ kg gambut
- D3 = 7,5 g *dregs*/ kg gambut
- D4 = 10 g *dregs*/ kg gambut

Faktor II adalah jenis Isolat *Trichoderma* spp terdiri dari 3 taraf yaitu:

- T0 – Tanpa pemberian *Trichoderma*
- T1 – *Trichoderma pseudokoningii* (T-ks)
- T2 = *Trichoderma harzianum* (T-ak)

Kedua faktor tersebut diperoleh 15 kombinasi perlakuan. masing-masing perlakuan diulang 4 kali, sehingga diperoleh 60 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 7 bibit yang ditanam dalam *polybag*. Denah penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

Dosis <i>dregs</i>	Pemberian Isolat <i>Trichoderma</i> sp		
	T0	T1	T2
D0	D0T0	D0T1	D0T2
D1	D1T0	D1T1	D1T2
D2	D2T0	D2T1	D2T2
D3	D3T0	D3T1	D3T2
D4	D4T0	D4T1	D4T2

Data yang di peroleh dari penelitian akan di analisis ragam dengan model linear sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana:

- Y_{ij} nilai hasil; pengamatan pada faktor *Trichoderma* spp taraf ke-i dan faktor *drengs* taraf ke-j
- μ = nilai rata-rata tengah
- α_i = efek faktor *Trichoderma* spp taraf ke-i
- β_j = efek faktordrengs taraf ke-j
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = efek interaksi pada faktor *Trichoderma* spp taraf ke-i dan faktor *drengs* taraf ke-j
- E_{ijk} = efek error pada faktor *Trichoderma* spp taraf ke-i dan faktor *drengs* taraf ke-j dan ulangan ke-k

Data hasil analisis ragam dilanjutkan dengan menggunakan uji lanjut DNMRT (*Duncan's New Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Di Laboratorium

3.4.1.1. Penyiapan *Trichoderma* spp

Isolat *Trichoderma* spp direisolasi dengan memindahkan hifa yang tumbuh ke dalam medium PDA (Komposisi dan cara kerja pembuatan PDA dapat dilihat pada (Lampiran 2) dalam cawan petri dengan menggunakan jarum ose yang telah disterilkan dengan cara pemijaran dan didinginkan yang dilakukan di dalam ruangan isolasi. Isolasi ini dilakukan sampai mendapatkan biakan *Trichoderma* spp yang murni dan homogen

Biakan murni tersebut diperbanyak lagi ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 ml PDA dan diinkubasi selama 7 hari. Suspensi konidia diperoleh dengan menambahkan 15 ml aquades steril ke dalam biakan *Trichoderma* spp di dalam erlenmeyer. Kemudian dilepaskan dengan kuas steril. Perbanyakkan masal jamur *Trichoderma* spp dilakukan dengan mengambil sebanyak 5 ml suspensi/kantong

plastik dan diinkubasi selama 14 hari pada medium jagung. Komposisi dan cara kerja pembuatan medium jagung dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.1.2. Penyiapan Sumber Inokulum *Fusarium oxysporum*

Isolat *F. oxysporum* yang digunakan adalah isolat yang telah diuji patogenesisnya pada bibit akasia yakni mempunyai patogenesis $> 75\%$. Isolat *F. oxysporum* direisolasi pada medium PDA dan diinkubasikan selama 15 hari. Perbanyakan massal dilakukan pada medium CMS. Medium ini dimasukkan sebanyak 100 g ke dalam kantong plastik tahan panas (volume 1 kg) dan pada ujungnya dipasang cincin pipa paralon dan ditutup dengan kapas. Medium ini disterilkan dalam *autoclave* selama 1 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm, sterilisasi ini dilakukan 2 kali. Substrat yang telah dingin diinokulasi dengan isolat *F. oxysporum* yang diambil dengan jarak yang sama (diameter 5cm) dari titik pusat koloni dan ukuran yang sesuai dengan *cork borer* (pemotong PDA) dengan diameter 0,5 cm kemudian biakan *F. oxysporum* diletakkan pada medium CMS tersebut, setelah itu diinkubasi selama 14 hari sampai pertumbuhan memenuhi substrat.

3.4.2. Di lapangan

3.4.2.1 Uji Patogenesis

Uji patogenesis dilakukan dengan menggunakan 20 bibit akasia di dalam *polybag* yang berisi tanah gambut 1 kg. Setiap *polybag* diinkubasi 15 g inokulum *F. oxysporum* dalam bentuk media "Corn Meal Sand" (CMS) menurut metode Habazar *et al* (1994). Komposisi dan cara kerja dapat dilihat pada Lampiran 4. Kemudian diinkubasi selama 7 hari, setelah itu 4 benih disemai pada masing-masing *polybag* dan diamati gejala penyakit yang muncul dengan ciri yaitu daun berubah warna menjadi kuning dan layu, terdapat pembusukan pada batang yang berada diatas permukaan tanah, bibit kehilangan turgor dan pada tingkat serangan yang lebih berat dapat menyebabkan bibit menjadi rebah dan akhirnya mati.

3.4.2.2. Persiapan Medium Tanam

Tanah gambut diambil di daerah Rimbo Panjang dengan kematangan kategori saprik. Teknik pengambilannya yaitu secara komposit dengan ke dalaman 0-40 cm. Tanah yang akan digunakan dalam penelitian ini tidak dilakukan analisis tanah karena merujuk dari hasil penelitian Elfina *et al* (2007) sudah diteliti sebelumnya pada lokasi yang sama dan hanya dilakukan analisis pH. Kemudian tanah gambut yang diambil dibersihkan dari sisa-sisa tanaman dan diaduk sampai homogen.

3.4.2.3. Persiapan Tempat Penelitian

Tempat yang digunakan adalah lahan yang memiliki topografi datar. Kemudian dilakukan pengukuran luas tempat, yaitu seluas (5X7) m yang akan digunakan untuk meletakkan medium percobaan dengan jarak (30X15) cm. Tempat yang telah diukur dibersihkan dari gulma atau sisa tanaman lainnya dengan menggunakan cangkul.

3.4.2.4. Pemberian Naungan

Pemberian naungan bertujuan untuk mengurangi pengaruh langsung sinar matahari terhadap bibit akasia. Naungan dibuat menghadap ke timur, dengan ketinggian tiang pada bagian timur 1,70 m dan bagian barat 1,50 m dan atap naungan terdiri dari daun kelapa sawit. Pada bulan pertama 1/3 naungan dikurangi, pada bulan ke dua dikurangi lagi 1/3, dan pada bulan ketiga tanpa naungan.

3.4.2.5. Pemberian *Dregs*

Dregs diberikan 2 minggu sebelum pemberian *Trichoderma* spp sesuai dengan perlakuan. Cara pemberian *dregs* yaitu dengan menaburkan pada medium tanam dan diaduk rata sampai *dregs* dan tanah tercampur rata. Setelah itu campuran *dregs* dan tanah diinkubasi selama dua minggu.

3.4.2.6. Introduksi Jamur Antagonis

Introduksi jamur antagonis *Trichoderma* spp dilakukan dua minggu setelah pemberian *dregs* dan 6 minggu sebelum penyesuaian benih menggunakan metode Habazar *et al* (1994), yaitu untuk setiap kg tanah ditambahkan 25 g biakan *T. pseudokongii* T-ks dan *T. harzianum* T-ak dalam medium jagung, kemudian diaduk sampai homogen dan diinkubasi selama 4 minggu.

3.4.2.7. Infestasi Jamur Patogen

Infestasi jamur patogen dilakukan 6 minggu setelah pemberian introduksi jamur antagonis dan satu minggu sebelum penyemaian benih dengan menggunakan metode Habazar *et al* (1994), yaitu untuk setiap kg tanah ditambahkan 15 g biakan *F. oxysporum* dalam medium CMS, kemudian diaduk sampai homogen dan diinkubasi selama 1 minggu.

3.4.2.8. Penyemaian

Benih akasia disemai 8 minggu (2 bulan) setelah pemberian *drugs*, *Trichoderma* spp dan *F. oxysporum*. Penyemaian dilakukan dengan cara memasukkan 2 benih ke dalam *polybag* dengan ke dalam 1 cm dan ditutup kembali dengan tanah. Benih yang akan diperlukan adalah 840 benih.

3.4.2.9. Pemeliharaan

3.4.2.9.1. Penyiraman

Penyiraman dilakukan dua kali sehari yaitu pada pagi hari dan sore hari, tergantung pada kondisi lingkungan dan cuaca. Apabila terjadi hujan tidak dilakukan penyiraman, penyiraman dilakukan dengan volume yang sama.

3.4.2.9.2. Penyiangan

Penyiangan di pembibitan ini terdiri dari dua macam yaitu penyiangan di sekitar *polybag* dan di dalam *polybag*. Penyiangan di sekitar *polybag* bertujuan untuk membersihkan areal pembibitan dari vegetasi lain selain bibit akasia dengan menggunakan cangkul. Penyiangan di dalam *polybag* bertujuan untuk membersihkan gulma yang berada dalam *polybag* dengan cara mencabut gulma.

3.4.2.9.3. Penjarangan

Penjarangan dilakukan dengan mengurangi jumlah bibit sehingga dalam *polybag* hanya terdapat satu bibit. Penjarangan dilakukan setelah bibit berumur satu minggu penggunaan dilakukan dengan tujuan untuk menyeragamkan besarnya bibit, mengurangi kelembaban, mendapatkan cahaya matahari dan air yang merata, serta untuk pengerasan dan menguatkan batang (Nurzihad, 1998).

3.4.2.9.4. Pemupukan

Pemupukan akasia menggunakan NPK *blue* 20 g/bibit yang dilakukan dua kali. Pemupukan pertama dilakukan bersamaan dengan pemberian *dregs* dengan menggunakan 10 g/bibit, pemupukan kedua berumur 1,5 bulan setelah semai dengan menggunakan 10 g/bibit.

3.4.2.9.5. Pengendalian Hama

Pengendalian hama dilakukan secara mekanik yaitu dengan membuang hama yang menyscrang bibit di sekitar areal pertanaman. Pengendalian penyakit tidak dilakukan karena dengan penggunaan *Trichoderma* spp diharapkan dapat mengendalikan penyakit.

3.5. Pengamatan

3.5.1. Di lapangan

3.5.1.1. Masa Inkubasi (hari)

Gejala serangan pertama (masa inkubasi) *F. oxysporum* pada bibit akasia ditandai dengan adanya gejala rebah semai yang mempunyai ciri yaitu daun berubah warna menjadi kuning dan layu, terdapat pembusukan pada batang yang berada diatas permukaan tanah, bibit kehilangan turgor dan pada tingkat serangan yang lebih berat dapat menyebabkan bibit menjadi rebah dan akhirnya mati. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai tidak ada lagi gejala yang muncul pada bibit di permukaan tanah.

3.5.1.2. Persentase Bibit Terserang Setelah Muncul ke Permukaan Tanah

Persentase bibit yang terserang setelah muncul ke permukaan tanah dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

K = Persentase bibit yang terserang setelah muncul ke permukaan tanah

n – Jumlah bibit yang terserang

N – Jumlah benih yang disemai

Pengamatan dilakukan setelah bibit mulai muncul ke permukaan tanah sampai akhir pengamatan dengan interval waktu 1 x 3 hari.

3.5.1.3. Tinggi Bibit (cm)

Pengukuran pertama dilakukan 2 minggu setelah tanam (2 MST), tinggi bibit diukur setiap 2 minggu sampai bibit berumur 3 bulan, tinggi bibit diukur 2 cm dari leher akar sampai titik tumbuh tertinggi dan tempat pengukuran ditandai.

3.5.1.4. Ratio Tajuk Akar

Pengamatan Ratio Tajuk Akar dilakukan dengan cara memisahkan bagian tajuk dan akar kemudian dimasukkan kedalam amplop dengan ukuran 37,5 cm x 27,5 cm, selanjutnya amplop tersebut dimasukkan ke dalam oven pengeringan selama 2 hari dengan suhu 70°C, setelah itu dilakukan penimbangan berat kering bagian tajuk dan akar tanaman dengan menggunakan timbangan analitik. Nilai Ratio Tajuk Akar dapat diperoleh dengan rumus :

$$\text{Ratio Tajuk Akar} = \frac{\text{Berat Kering Tajuk Tanaman}}{\text{Berat Kering Akar Tanaman}}$$

3.5.1.5. Indeks Mutu Bibit

Indeks mutu bibit diukur dengan rumus Dickson *et al*, 1960.

$$\text{Indeks Mutu Bibit (q)} = \frac{\text{BeratKeringTotal(g)}}{\text{Tinggi(cm)Diameter(mm)} + \text{BeratKeringTajuk(g)/BeratKeringAkar(g)}} \times 100\%$$

Bibit baik dan mampu bertahan di lapangan jika memiliki nilai $q > 0,09$.

3.6. Pengamatan Pendukung

3.6.1. Pengukuran Suhu Tanah dalam *Polybag* (°C)

Pengukuran suhu tanah dilakukan pada medium tanam pada masing-masing perlakuan. Pengukuran suhu ini dilakukan dengan cara menancapkan bagian ujung termometer ke dalam tanah sedalam 10 cm. Termometer tersebut dibiarkan selama 10 menit. Pengukuran dilakukan setiap hari pada pagi pukul 07.00 WIB, siang pukul 12.00 WIB dan sore pada pukul 17.00 WIB. Setelah didapatkan hasilnya untuk masing-masing waktu kemudian dijumlahkan dan dicari suhu rata-rata harinya dengan rumus:

$$T(^{\circ}\text{C}) = \frac{2 \times T \text{ pagi} + T \text{ siang} + T \text{ sore}}{4}$$

Hasil pengamatan suhu tanah dalam *polybag* dapat dilihat pada Lampiran 5a.

3.6.2. Pengukuran Suhu dalam Naungan (°C)

Pengukuran suhu didalam naungan dilakukan dengan menggunakan termometer yang gantungkan di dalam naungan. Pengukuran suhu ruang naungan dilakukan setiap hari yaitu pukul 07.00 WIB, siang pukul 12.00 WIB dan sore pukul 17.00 WIB. Kemudian dijumlahkan dan dicari suhu rata-rata harinya dengan rumus:

$$T(^{\circ}\text{C}) = \frac{2 \times T \text{ pagi} + T \text{ siang} + T \text{ sore}}{4}$$

Hasil pengamatan suhu tanah dalam naungan dapat dilihat pada Lampiran 5b.

3.6.3. Pengukuran pH Tanah dalam *Polybag*

Pengukuran pH tanah dalam *polybag* dilakukan sebanyak empat kali yaitu diawal, setelah inkubasi *drag* saat sebelum tanam, dan pada akhir penelitian dengan mengambil sampel tanah sebanyak 10 g. Selanjutnya sampel tanah tersebut diukur pH di Laboratorium Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru. Hasil pengamatan pH tanah dapat dilihat pada Lampiran 6.