

### **III. TATA CARA PENELITIAN**

#### **A. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada Januari 2017 di *Green House* dan di Laboratorium Agrobioteknologi Fakultas pertanian di Desa Tamantirto, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta.

#### **B. Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : benih jagung manis varietas *Sweet Boy*, tanah pasir, bahan organik, polybag ukuran 12 kg. pupuk Sp-36, pupuk Urea, pupuk KCl, Larutan KOH 10%, Larutan HCl 1%, Larutan Acid Fusin, Aquadest dan Agar.

Alat yang digunakan adalah *Haemocytometer*, Penggaris, timbangan analitik, LAM, jarum ose, kaca preparat, mikroskop, tabung reaksi, pipet tetes, otoklaf, petridish dan bunsen.

#### **C. Metode Penelitian**

Penelitian eksperimen dilakukan dengan menggunakan metode percobaan yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan Faktor tunggal yaitu kombinasi pemberian MVA, Kotoran Walet, Kotoran Walet dan MVA serta berbagai dosis pupuk P terdiri dari 3 aras.

Perlakuan yang diujikan adalah komposisi media tanam yaitu A.Pupuk SP-36 100 % dosis anjuran + MVA , B. Pupuk SP-36 75% dosis anjuran + Kotoran Walet 25 % + MVA, C. Pupuk SP-36 75% dosis anjuran + Kotoran Walet 25 %, D. Pupuk SP-

36 50% dosis anjuran + Kotoran Walet 50 % + MVA dan E. Pupuk SP-36 50% dosis anjuran + Kotoran Walet 50 %.

Masing – masing perlakuan diulang 3 kali sehingga ada 15 unit setiap unit ada 3 korban sehingga terdapat 90 polibag tanaman.

#### **D. Cara Penelitian**

1. Sterilisasi alat dengan uap air panas bertekanan (*Autoclave*) dengan memasukan alat kedalam otoklaf dan ditutup rapat kemudian kompor dinyalakan hingga tekanan mencapai 1 atm (15 psi) selama 15 – 30 menit.
2. Pembuatan media Pikovskaya's agar dengan cara menimbang medium kemudian dilarutkan dalam penangas air untuk mempercepat kelarutan. Setelah larut, agar – agar ditambahkan ke larutan yang dijadikan larutan 1000 ml dengan menambahkan aquades. Ukur pH dengan mengatur pH sekitar 6,8 – 7,0 (pH netral). Larutan yang sudah diukur pH yang sesuai kemudian dimasukan pada wadah yang dikehendaki seperti tabung reaksi. Setelah dimasukan ke wadah, wadah disterilkan dengan otoklaf pada temperatur 121° C dengan tekanan 1 atm (selama 15 menit).
3. Melakukan Karakteristik kotoran Walet dengan cara *Plate count* dimedia Pikovskaya's dengan cara kerja isolasi dengan mecairkan medium dan menuang dalam cawan petri steril secara aseptik dan dibiarkan sampai padat. Kemudian membuat suspensi bakteri dengan mengambil 0,1 ml lalu menginokulasikan ke permukaan media padat dalam cawan petri dan meratakan suspensi bakteri dengan *drigalsky*. Setelah menginokulasi cawan petri diinkubasi secara terbalik pada suhu kamar. Diakhir inkubasi biasanya tumbuh koloni yang terpisah – pisah dengan zona jernih disekitarnya dan bakteri dapat diisolasi. Tiap koloni yang terpisah kemungkinan berasal satu sel

bakteri. Koloni yang berpisah tersebut diambil secara aseptik dengan ose satu koloni yang dikehendaki dan suspensikan dalam air steril. Kemudian diperiksa morfologi selnya dibawah mikroskop dengan pengecatan gram dan gambar. Setelah digambar dipindahkan masing – masing jenis hasil isolasi ke dalam media Pikovskaya's agar miring dan diinkubasikan pada temperatur kamar yang sesuai selama 24 – 48 jam. Setelah 24 – 48 jam hasil isolasi diuji kembali kemurniannya dengan pengecatan gram. Jika dari tiap tabung hanya terdapat satu macam jamur/bakteri, diisolasi tersebut telah berhasil. Koloni bakteri/ jamur yang telah murni selanjutnya dideterminasi dengan melakukan identifikasi serta klasifikasi.

4. Perbanyak Inokulum MVA dengan cara menyiapkan bahan yaitu tanah bekas tanaman jagung, benih jagung, dan polybag ukuran 1 kg. Setelah bahan sudah lengkap, tanah bekas tanaman jagung dimasukan ke dalam polybag ukuran 1 kg dan kemudian disiram air ke tanah hingga air keluar dari lubang polybag. Kemudian 2 benih jagung ditanam ke dalam polybag yang berisikan tanah bekas jagung yang sudah lembab. Perawatan yang dilakukan cukup menyiram tanaman jagung 2 hari satu 1 kali (lampiran 5a).

Setelah 2,5 bulan tanaman jagung dicabut dan dilakukan pengecekan infeksi dan spora dengan cara tanah dibongkar dan akar jagung dibersihkan dan dicuci. kemudian dirajang dengan ukuran 1 cm. Akar yang telah dipotong dimasukan dalam botol reaksi dan diberi KOH 10 % hingga semua akar tercelup dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu akar dibilas dengan air hingga bersih kemudian diberikan HCl 1 % hingga akar tercelup selama 1 jam, setelah itu larutan HCl dibuang dan diberi cat *Acid Fuhsin*

secukupnya selama 5 menit, 20 potongan akar diambil dan diatur di kaca preparat dan diamati dibawah mikroskop, lalu dihitung persentase infeksi dengan rumus :

$$\% \text{ infeksi} = \frac{\text{Jumlah akar terinfeksi} \times 100\%}{\text{Jumlah akar total}}$$

Bila infeksi jamur melebihi 80 %. maka ranjangan akar dicampur dengan media pot kemudian dikering anginkan  $\pm$  3 hari dan dapat digunakan sebagai *crude inoculum* sebanyak 40 gram/ lubang tanam sebelum benih tanam. Tetapi apabila infeksi mikoriza kurang 80 % dan jumlah spora yaitu  $\pm$  60 spora/ 100 gram tanah maka jumlah *crude inoculum* harus ditambah 2 -3 kali lipat.

#### 5. Uji perkecambahan

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 10 benih jagung manis secara acak kemudian benih disemai pada *petridish* yang sudah diberikan kertas saring yang telah dibasahi (lampiran 5b). Pengujian dilakukan 2 kali ulangan dan diamati selama 7 hari. Rumus daya kecambah :

$$DK = \frac{\text{Jumlah benih berkecambah}}{\text{jumlah kecambah}} \times 100 \%$$

Rerata hasil pengamatan uji perkecambahan pada varietas *sweet boy* yaitu 80 %.

#### 6. Penyiapan media tanam

Menyiapkan Kotoran Walet, tanah bekas jagung sebelumnya dengan kultur pot (tanah MVA), tanah pasir, kotoran Walet, lalu di campur dan memasukan ke polybag ukuran 35 x 35 cm (@ 12,56 kg tanah pasir, tanah MVA 40 gram, bahan organik 449 gram / tanaman dan kotoran Walet 1,9 gram (25%), 3,8 gram (50 %) ke setiap polybag) (lampiran halaman 5c dan 5d). Tanah yang diambil dari lahan pasir pantai Samas Bantul diayak dan dibersihkan dari kotoran kemudian tanah tersebut dimasukkan polybag

ukuran 38 x 32 cm setelah itu dicampur dengan tanah bekas jagung yang sesuai dengan ketentuan dari pengecekan infeksi MVA dan pengecekan spora maupun kotoran Walet sesuai dari perlakuan sebanyak ketentuan perlakuan.

7. Tiap polybag ditanami 2 benih jagung ke setiap polybag yang sudah di kecambahkan selama semalam (lampiran 5e).
8. Penyiraman dilakukan sehari sekali sampai tanaman berumur 7 minggu setelah tanam. Penyiraman dilakukan mencapai kapasitas lapang yaitu  $\pm 200$  ml.
9. Memberikan pupuk dasar pupuk urea 0,5 gram / tanaman) , KCl (0,3 gram / tanaman) dan SP – 36 sesuai perlakuan ( 100 % ( 3 gram / tanaman ) , 75 % ( 2,25 gram / tanaman) dan 50 % ( 1,5 gram / tanaman). Memberikan pupuk susulan pada 35 dan 45 HST dengan dosis pupuk urea (0,5 gram / tanaman) dan KCl (0,3 gram / tanaman (lampiran 5g).
10. Melakukan pengamatan tinggi tanaman, dan jumlah daun, setiap 1 minggu 1 kali (lampiran 5f dan lampiran 5i).
11. Panen dilakukan dengan memanen jagung pada umur 7 minggu setelah tanam.
12. Setelah panen maka dilakukan pengamatan panjang akar, bobot segar akar, bobot kering akar, bobot segar tanaman , bobot kering tajuk, luas daun, jumlah baris, diameter tongkol, bobot tongkol berkelobot, bobot tongkol ekonomis dan potensi hasil.

## E. Parameter

Parameter yang diamati yaitu :

### 1. Parameter yang diamati pada kotoran Walet, yaitu :

#### a. Karakteristik

Pengamatan mikrobiologi jamur dan bakteri pada kotoran walet pada awal dan akhir perlakuan. Adapun langkah pengamatannya adalah dengan mengambil satu gram kotoran walet kemudian di masukan pada 99 ml akuades, kemudian dilakukan pengenceran hingga  $10^{-9}$ . Variabel yang diamati adalah jumlah jamur maupun bakteri dari masing – masing perlakuan. Metode perhitungan jumlah mikroba dengan menggunakan metode *plate count* pada medium pikovskaya's dengan seri pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  ,  $10^{-9}$  dengan memenuhi syarat sebagai berikut :

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300 koloni (CFU/ml).
- b. Tidak ada koloni yang menutupi lebih dari setengah luas cawan (Spreader) perbandingan jumlah koloni dari pengenceran berturut – turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih kecil dari 2 maka hasilnya dirata – rata dan jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah jumlah dari hasil pengenceran sebelumnya.
- c. Jika ulangan telah memenuhi syarat maka hasilnya dirata – rata.

**2. Parameter yang diamati pada tanaman korban minggu 3, 6 dan 9 setelah tanam yaitu :**

a. Jumlah Spora MVA

Tanah 250 gram dicampurkan dengan 1 liter aquades dan tuang cairan ke saringan kasar 800 cuci saringan agar semua partikel kecil lolos saringan, ambil 1 ose pada larutan bening (tanpa lumpur) letakan ke kaca preparat dan amati di mikroskop.

b. Persentasi infeksi MVA (%)

Cara kerja infeksi MVA kepada setiap tanaman berbagai perlakuan adalah akar halus setiap tanaman jagung dipotong sekitar  $\pm 1$  cm sebanyak 20 potong kemudian dicuci bersih dengan air, setelah itu akar halus direndam dalam larutan KOH 10 % selama 24 jam. Setelah 24 jam. KOH dibilas dengan air steril (tanpa mengeluarkan akar dari tabung reaksi). Kemudian akar halus tersebut direndam menggunakan larutan HCl 1 % selama  $\pm 1$  jam. Setelah 1 jam. HCl dibuang (tanpa mengeluarkan akar dari tabung reaksi) kemudian direndam dengan larutan acid sebanyak 2 – 3 ml selama minimal 15 menit. Setelah 15 menit, larutan acid dibuang dan akar dicuci hingga tidak terlalu merah. Setelah dicuci, 10 akar disetiap perlakuan disusun diatas kaca preparat. Kemudian kaca preparat diamati di bawah mikroskop dan diklasifikasi.

c. Panjang akar (cm)

Ukur panjang beberapa akar dari pangkal akar sampai ujung akar setelah itu dirata – rata (lampiran 5j).

d. Berat Segar Akar (gram)

Setelah tanaman dicabut dan potong dari pangkal batang. Timbang akar sesudah dipotong tersebut.

e. Berat Kering Akar (gram)

Setelah akar diukur, akar dikeringkan bersama tajuk tanaman Jagung.

f. Berat Segar Tanaman (gram)

Berat segar ditimbang dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman jagung pada saat minggu ketiga berakhir dan dilanjutkan dengan pengeringan bisa dengan cara dioven maupun diangin-anginkan sampai kering.

g. Berat Kering Tanaman (gram)

Setelah dihitung berat segar dilanjutkan dengan pengeringan bisa dengan cara dioven maupun diangin-anginkan sampai kering. Jika pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman jagung sudah kering maka setelah itu ditimbang (lampiran 5k).

h. Luas Daun ( $\text{cm}^2$ )

Hitung luas permukaan daun dengan alat LAM ( *Leaf Area Meter*) (lampiran 5h).

**3. Parameter yang diamati pada tanaman jagung per minggu yaitu :**

a. Tinggi Tanaman (cm)

Tinggi Tanaman diukur dari pangkal batang sampai ujung daun tanaman jagung (kantupkan daun jagung). Pengamatan dilakukan seminggu sekali setelah tumbuh sampai menghasilkan yaitu minggu ke sembilan.



Pengamatan ini dilakukan agar mengetahui pertumbuhan tanaman jagung (lampiran 5i).

b. Jumlah Daun (helai)

Jumlah daun diamati setiap seminggu sekali sampai tanaman menghasilkan yaitu minggu ke sembilan.

**4. Parameter Komponen Hasil pada tanaman sample akhir :**

a. Jumlah baris pertongkol

Perhitungan jumlah baris tongkol dilakukan dengan cara menghitung jumlah tongkol pertanaman.

b. Diameter tongkol

Pengukuran diameter tongkol dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dan diukur bagian atas, tengah dan bawah kemudian dirata-rata .

c. Berat tongkol berkelobot.

Berat tongkol ditimbang bersama dengan kelobot tongkol (lampiran 5l).

d. Berat tongkol ekonomis

Berat tongkol ekonomis dilakukan dengan memotong atau membuang bagian yang tidak bernilai ekonomis kemudian dilakukan penimbangan (lampiran 5m).

## **F. Analisis Data**

Hasil pengamatan dianalisis menggunakan sidik ragam ( *Analisis of Variance* ) pada tingkat kesalahan 5 % . Apabila ada beda nyata antar perlakuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang berbeda dilakukan uji Duncan (DMRT) pada tingkat kesalahan 5 % .