

I. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di lahan penelitian UMY, Kasihan, Bantul Daerah Istimewa Yogyakarta. Waktu penelitian April sampai Agustus 2019.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan meliputi autoklaf, erlenmeyer, tabung reaksi, lampu bunsen, jarum ose, drigalski, mikro pipet, kompor, gelas ukur, pengaduk, timbangan analitik, petridish, botol suntik, ph stik, penggaris, oven dan alat tulis. Alat lain seperti keperluan selama penanaman padi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini: benih padi varietas Cempo merah, Inpari 23, Sintanur, Inpari 42 GSR. Pupuk yang digunakan adalah pupuk organik pupuk kandang. Bahan lain yaitu Tryptone, Yeast Extract, NaCl, agar, aquadest, kapas, karet, kertas payung dan plastik.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang dilakukan di lahan yang disusun dengan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan rancangan percobaan *Strip-Plot* Faktorial 3x4. Faktor I adalah Macam pengairan (A), terdiri atas 3 perlakuan, yaitu:

A1 = Pengairan konvensional.

A2 = Pengairan berselang, 10 hari penggenangan 5 hari kering.

A3 = Pengairan berselang, 7 hari penggenangan 3 hari kering.

Faktor II adalah Varietas Tanaman (V), terdiri atas 4 perlakuan, yaitu:

V1 = Cempo Merah,

V2 = Inpari 23,

V3 = Sintanur, dan

V4 = Inpari 42 GSR.

Jadi ada 4 kombinasi perlakuan. Penelitian terdiri atas 4 kombinasi perlakuan, sehingga keseluruhan ada 12 unit percobaan (*Layout* percobaan terdapat pada lampiran 5).

D. Cara Penelitian

1. Penyiapan Bahan Tanam

Penyiapan bahan tanam yaitu benih padi dilakukan dengan direndam selama 24 jam dan kemudian diperam selama 1 malam. Persiapan ini dilakukan selama 2 (dua) minggu sebelum penanaman. Setelah pemeraman, benih ditanam ke bak pembibitan (lampiran 15.c.1). Benih ditanam selama 14 hari (lampiran 1.c.2).

2. Penyiapan Lahan

Penyiapan lahan dilakukan 1 (satu) minggu sebelum penanaman dilakukan. Pengolahan tanah dilakukan dengan bantuan mesin yaitu dilakukan pembajakan dan digaru (lampiran 5.a.1). Kemudian setelah pengelolaan tanah selesai tanah dibuat bedengan atau blok sesuai perlakuan (lampiran 15.a.2). Saat proses pengolahan tanah dilakukan pemberian pupuk dasar yaitu pupuk kandang dengan dosis 10 ton/ha serta Urea dengan dosis 140 kg/ha dan SP36 dengan dosis 125 kg/ha (lampiran 14.b.1).

3. Penanaman

Penanaman dilakukan saat umur benih 14 hari (lampiran 15.c.3). Penanaman padi dilakukan dengan jarak tanam 25 cm x 25 cm dengan 3 bibit per lubang tanam (lampiran 15.c.4). Metode penanaman dilakukan dengan metode ubinan. Metode ubinan adalah salah satu metode dalam dunia pertanian untuk mengetahui perkiraan dari jumlah hasil yang akan didapat pada saat panen. Ubinan dapat diterapkan pada budidaya tanaman padi dengan cara sederhana, kita cukup mengukur beberapa meter untuk dijadikannya tolak ukur atau perwakilan dari jumlah hasil perpetak sawah yang ingin kita ketahui hasilnya (Sampul pertanian, 2016). Petakan yang digunakan dalam setiap satuan percobaan berukuran 2 m x 2,25 m (lampiran 6). Penanaman dilakukan pada kondisi air macak-macak. Penyulaman dilakukan pada 1 minggu setelah tanam (MST) dengan bibit yang umurnya sama. Varietas Cempo Merah, Inpari 23, Sintanur dan Inpari 42 GSR ditanam sesuai perlakuan.

4. Pemeliharaan

a. Pengairan

Penyiraman dengan air irigasi atau gembor. Pengairan dilakukan sesuai dengan perlakuan. Untuk cara konvensional, dilakukan penggenangan kurang lebih setinggi 5-10 cm secara terus-menerus pada semua fase pertumbuhan. Sedangkan perlakuan berselang, pemberian air secara berselang, yaitu penggenangan dilakukan pada awal tanam hingga 10 HST, kemudian dikeringkan selama 5 hari hingga retak-retak. Pada Pengairan Konvensional digenangi setinggi 10 cm sampai masa pengisian bulir padi dan 5 cm selama masa perkembangan bulir padi. Pada pengairan SRI digenangi dengan ketinggian air 5 cm hingga masa pengisian bulir padi. Kemudian selama masa perkembangan bulir digenangi 2 cm. Serta penggenangan dilakukan 7 HST dan dikeringkan 3 hari. Pengaturan air berselang terus dilakukan hingga memasuki fase pembungaan. Sejak fase keluar bunga hingga 10 hari sebelum panen, lahan terus digenangi setinggi sekitar 5 cm, kemudian setelah itu hingga saat panen dikeringkan untuk memudahkan pemanenan dan pemasakan gabah.

Penyiraman tanaman di persemaian padi disesuaikan dengan keadaan lahan. Jika tidak turun hujan selama lebih dari 3 hari baru dilakukan penyiraman. Penyiraman sampai kapasitas lapang. Penggenangan lahan sesuai dengan perlakuan.

b. Penyiangan Gulma dan Pengendalian Hama serta Penyakit

Pengendalian hama, penyakit dan gulma dilakukan dengan cara alami (mekanis). Pengendalian secara mekanis dilakukan dengan cara pengambilan hama, pencabutan gulma dan pencabutan tanaman yang terserang penyakit, dilakukan dengan mempertimbangkan berat serangan.

1) Gulma

Gulma merupakan rumput liar yang tumbuh di sekitar tanaman yang dibudidayakan. Tumbuhnya gulma pada area budidaya pertanian ini akan sangat mengganggu pertumbuhan tanaman. Sehingga apabila tidak segera dikendalikan akan berdampak pada rendahnya kualitas hasil

pertanian pada tanaman yang dibudidayakan. Gulma yang terdapat dilahan budidaya diantaranya:

- a) Teki ladang (*Cyperus rotundus*), bayam-bayaman (*Alternanthera*), semanggi (*Oxalis corniculata* L) dan krokot (*Portulaca oleracea*).
- b) Gulma yang ada dilahan budidaya dikendalikan dengan manual yaitu pencabutan menggunakan tangan dan alat penyiangan.
- c) Menurut Azzamy (2016) dalam jumlah banyak gulma dapat dikendalikan dengan menggunakan herbisida. Pemberian herbisida Setoff 20 WG merupakan salah satu herbisida yang dipergunakan untuk menanggulangi gulma di pertanaman padi sawah. Herbisida ini sudah terbukti dapat mengendalikan berbagai jenis gulma secara efektif seperti gulma-gulma yang sering terdapat pada padi sawah seperti enceng, wewehan, genjer, semanggi, jawan dan lainnya. Menurut Andriyani (2018) gulma dapat dikendalikan dengan pemberian mulsa biologis dengan jenis tanaman yang bisa digunakan sebagai mulsa alami adalah *Azolla pinata*. Tanaman ini berperan sebagai penutup lahan yang dapat mencegah gulma untuk tumbuh. Selain dapat digunakan sebagai pencegah perkembangbiakan gulma, *Azolla pinata* juga dapat dijadikan sebagai pupuk hijau yang menyuburkan tanah (Andriyani, 2018).

2) Hama

Pengendalian hama yang terdapat pada budidaya tanaman padi seperti:

- a) Hama burung yang menyerang saat padi tua atau menjelang panen dengan memakan buah atau butir padi dikendalikan dengan memasang jaring (Farming.id, 2017).
- b) Hama tikus yang menyerang batang tanaman padi sehingga batang tanaman putus dan tumbang dikendalikan dengan perbaikan pematang serta pembuatan genangan air sekitar sawah untuk menjebak tikus tersebut.
- c) Keong mas atau *Pomacea canaliculata* merupakan salah satu hama yang selalu menyerang tanaman padi di sentra-sentra produksi

pangan. Umumnya keong mas merusak tanaman padi yang baru ditanam dengan cara memarut jaringan tanaman lalu memakannya. Selanjutnya, bekas potongan daun dan batang yang tersisa akan terlihat mengambang. Serangan parah dapat mengakibatkan tanaman padi yang baru di tanam menjadi habis total. Hama ini dikendalikan dengan pemungutan dan pemusnahan telur keong yang menempel pada pangkal batang dan daun padi serta pemungutan keong dari lahan budidaya (Lisa, 2018).

3) Penyakit

- a) Bercak daun disebabkan oleh serangan jamur *Helminthosporium oryzae*. Jamur ini menyerang tanaman padi dari biji yang baru kecambah, pelepah daun, malai, dan buah yang baru tumbuh. Serangan jamur ini mempunyai gejala seperti biji padi busuk saat berkecambah, dan kemudian mati, tanaman padi dewasa busuk dan kering, dan biji bercak-bercak tetapi tetap berisi. Pengendaliannya dilakukan pencabutan atau pemusnahan bagian tanaman padi yang terserang.
- b) Penyakit *Blas* disebabkan oleh jamur *Pyricularia grisea* dengan gejala berupa bercak coklat dengan bentuk belahan ketupat. Penyakit ini menurunkan hasil padi karena dapat menyebabkan leher malai menjadi busuk dan banyak terbentuk bulir hampa. Pengendaliannya dilakukan pencabutan atau pemusnahan bagian tanaman padi yang terserang.
- c) Hawar daun merupakan bakteri yang tersebar luas dan dapat menurunkan hasil panen yang cukup signifikan. Penyakit ini disebabkan bakteri *Xanthomonas campestris pv oryzae*. Daun-daun yang terserang akan berwarna hijau kelabu, melipat dan menggulung. Dalam keadaan parah mampu menyebabkan daun menggulung, layu, dan bias mati. Pengendaliannya dilakukan pencabutan atau pemusnahan bagian tanaman padi yang terserang. Pengendalian penyakit hawa daun bisa dengan pengaturan air yang cukup.

c. Pemupukan

Pemberian pupuk dilakukan saat pengolahan tanah dan pemupukan susulan. Pemberian pupuk susulan 1 dilakukan pada minggu kedua yaitu 14HST dan pupuk susulan 2 diberikan pada minggu kedelapan. Pupuk susulan 1 yaitu Urea dengan dosis 140 kg/ha dan KCl dengan dosis 100 kg/ha. Pupuk susulan 2 yaitu KCl. Sebelum dilakukannya pemupukan dilakukan pengambilan sampel tanah pada lahan disetiap bloknya. Pengambilan sampel tanah sebelum pemupukan adalah untuk dilakukannya pengujian ada tidaknya *Rhizobacteri* pada tanah di lahan tersebut. Pemberian pupuk diberikan sesuai kebutuhan tanaman padi (lampiran 7).

5. Pemanenan

Padi dapat dipanen setelah tanaman siap panen yaitu setelah tanaman berumur 115 hari. Kriteria tanaman yang sudah siap dipanen yaitu: malai berwarna kuning kecoklatan dan sudah kering, namun belum banyak gabah yang rontok.

6. Pengamatan *Rhizobacteri*

Pengamatan mulai dilakukan sebelum penanaman padi dimulai, dilakukan pengambilan sampel tanah saat persemaian dan bibit persemaian untuk diuji populasi mikroba *Rhizobacteri*. Setelah padi mulai ditanam dilakukan pengambilan sampel untuk diuji setiap 4, 10 dan 16 minggu. Proses pengamatan dilakukan dengan:

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang terbuat dari logam dan gelas dicuci bersih kemudian setelah dibungkus menggunakan kertas payung (lampiran 16.a). Seluruh alat disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121⁰C tekanan 1 atm selama 30 menit (lampiran 16.b).

b. Pembuatan Medium

Medium pengujian yang digunakan yaitu LB (*Luria Bertani*) sesuai kebutuhan pengamatan (komposisi media *Luria Bertani* pada lampiran 8). Pembuatan medium dengan mencampurkan semua bahan kedalam gelas ukur kemudian dipanaskan untuk memudahkan pencampuran semua bahan

(lampiran 16.c). Lalu dilakukan pengecekan pH pada media LB (lampiran 16.d). Lalu, media dituang kedalam erlenmeyer kemudian ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam autoklaf pada temperature 121°C tekanan 1 atm selama 15-20 menit.

c. Isolasi *Rhizobacteri*

Isolasi mikroba dilakukan pada saat persemaian yaitu sebelum penanaman pada lahan percobaan dan setiap 4, 10 dan 16 minggu sekali selama penanaman. Dilakukan dengan menyemprot akar tanaman padi dengan aquadest dan ditampung pada petridish. Lalu diambil 1 ml untuk diencerkan pada botol suntik (10^{-2} ; 10^{-4} ; 10^{-6}) dan 2 tabung reaksi (10^{-7} ; 10^{-8}), sehingga didapat seri pengenceran hingga 10^{-8} (lampiran 16.f). Setiap 0,1 ml dari seri 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} diinokulasikan dengan metode 25 permukaan atau surface *plating* method pada media LBA + NaCl 0,2 M dengan 3 ulangan. Dilakukan inkubasi selama 2 hari dengan cara petridish dibungkus kertas payung (lampiran 16.g). Semua isolat bakteri yang diperoleh kemudian dihitung koloninya (lampiran 16.h). Selain itu, dilakukan pengujian awal pada tanah di lahan percobaan sebelum pemupukan untuk mengetahui ada tidaknya *Rhizobacteri* pada tanah tersebut.

d. Identifikasi *Rhizobacteri*

Diawali dengan peremajaan isolat *Rhizobacteri* pada media LBA miring, setiap isolat yang ada diinokulasi pada LBA miring dan diinkubasi selama 48 jam.

Identifikasi sel isolat *Rhizobacteri* (pengecatan gram) dilakukan dengan mengambil dari masing-masing isolat tunggal sebanyak 1 ose (lampiran 16.i). Lalu isolat diinokulasi pada media LBC serta diinkubasi selama 48 jam (lampiran 16.j). Setelah 48 jam, ambil kultur sebanyak 1 ose dan dimasukkan ke dalam aquades steril 9 ml pada tabung reaksi dan kemudian dilakukan cat gram (lampiran 16.m). Cat gram diawali dengan membuat tanda pada kaca preparat untuk isolat MB dan isolat MD serta memberi lingkaran pada belakang kaca, kemudian kaca preparat disemprot alkohol dan dikeringkan di atas Bunsen. Setelah itu, tepat di tengah

lingkaran yang dibuat, teteskan aquades yang telah diberi isolat. Kemudian dikeringanginkan, diberi larutan cat gram A selama 1 menit, dicuci dan dikeringkan, selanjutnya cat gram B selama 2 menit, dicuci dan dikeringkan, selanjutnya larutan cat gram C selama 30 detik, dicuci dan dikeringkan. Terakhir ditetesi cat gram D selama 2 menit, dicuci, dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop (lampiran 16.k). Akan diperoleh hasil karakterisasi dan identifikasi dari isolat (lampiran 16.l dan 16.n)

E. Parameter yang Diamati

1. Dinamika populasi *Rhizobacteri* (CFU/ml)

Pengamatan dilakukan saat persemaian sebelum penanaman pada lahan percobaan dan selama waktu tanam yaitu minggu ke 4, 10 dan 16 selama masa tanam. Untuk mengetahui dinamika populasi *Rhizobacteri* selama pertumbuhan dengan cara sebagai berikut: akar tanaman sampel disemprot dengan aquadest dan ditampung pada petri kemudian diambil 1 ml untuk diencerkan pada botol suntik (10^{-2} ; 10^{-4} ; 10^{-6}) dan 2 tabung reaksi (10^{-7} ; 10^{-8}), sehingga didapat seri pengenceran hingga 10^{-8} . Setiap 0,1 ml dari seri 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} diinokulasikan dengan metode 25 permukaan atau surface plating method pada media LBA dengan 3 ulangan. Jumlah bakteri per ml dapat ditentukan dengan menghitung koloni yang tumbuh dari masing-masing pengenceran (10^{-7} ; 10^{-8} ; 10^{-9}). Penentuan jumlah jumlah bakteri per mililiter dengan menggunakan cara TPC harus memenuhi syarat sebagai berikut:

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30 – 300 koloni
- b. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri (*Spreader*)
- c. Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih kecil dari 2 maka hasilnya diratarata, dan jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya
- d. Jika dengan ulangan setelah memenuhi syarat hasilnya dirata-rata (Agung_Astuti dkk., 2014).

2. Perkembangan Akar

a. Panjang akar (cm)

Pengukuran panjang akar tanaman menggunakan penggaris dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang dan hasilnya dinyatakan dalam satuan cm. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke 4, 10 dan 16 setelah tanam.

b. Proliferasi

Proliferasi akar pada pengamatan ini bertujuan untuk mengamati percabangan perakaran tanaman padi. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke 4, 10 dan 16 setelah tanam. Skoring proliferasi dapat dilihat di tabel 1.

Tabel 1. Skoring Proliferasi Akar

Skoring	Keterangan	Harkat
++++	memiliki percabangan rumit serta banyak akar horizontal dan vertikal	4
+++	memiliki percabangan akar banyak	3
++	memiliki percabangan sedang	2
+	memiliki percabangan akar sedikit	1
-	tidak memiliki percabangan	0

c. Berat segar akar (gram)

Berat segar akar diperoleh dengan membersihkan akar dari kotoran tanah yang menempel pada akar lalu ditimbang dengan menggunakan timbangan. Berat segar akar dilakukan sewaktu pencabutan tanaman.

d. Berat kering akar (gram)

Penimbangan bobot kering akar tanaman setelah pengovenan pada suhu 80°C selama 24 jam atau sampai konstan. Kemudian dirata-rata untuk diperoleh berat kering akar.

3. Bobot gabah per rumpun padi (gram)

Bobot gabah/rumpun dilakukan dengan pengambilan sampel tanaman pada setiap petakan dan dilakukan penimbangan menggunakan timbangan analitik yang dinyatakan dalam satuan gram. Pengamatan bobot gabah/rumpun dilakukan setelah dikeringkan oleh cahaya matahari selama ± 3 hari hingga kadar air 14%.

$$A=B \times \frac{100-Ka}{100-14}$$

Ket:

A = bobot gabah kering pada kadar air 14%

B = bobot gabah kering pada kadar air terukur

Ka = kadar air gabah

F. Analisis Data

Hasil pengamatan selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam dengan jenjang nyata 95 % (alpha 5 %), untuk mengetahui apakah ada beda nyata antar perlakuan. Jika terdapat beda nyata diuji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test* = DMRT), dengan jenjang nyata 95 % (alpha 5 %). Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.