

BAB. IV

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Taksonomi serta Laboratorium Mikrobiogenetika Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro. Penelitian dilakukan antara bulan Agustus 1997 sampai dengan Februari 1998.

A. Bahan Penelitian

1. Isolat murni kapang *Gliocladium sp* dan *Sclerotium rolfsii*, diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
2. Bibit tanaman kacang tanah
3. Serbuk gergaji
4. Dedak
5. Medium agar miring TEA (Tauge Ekstrak Agar)
6. Akuades

B. Alat Penelitian

Polybag berdiameter 18 cm dan tinggi 20 cm, Rumah plastik berukuran 120x60x40 cm, Tabung reaksi, Tabung erlenmeyer 100 ml, Jarum ose, Kompor bunsen, Autoklaf, Mikroskop cahaya.

C. Cara Kerja

Cara kerja dalam penelitian ini dibagi dalam beberapa tahap yaitu :

1. Perbanyak biakan kapang dalam media agar miring dan media campuran serbuk gergaji dan dedak
2. Perhitungan konidia kapang
3. Pengujian potensi *Gliocladium sp* sebagai agen pengendali hayati
4. Analisis data

C.1. Perbanyak biakan kapang dalam media agar miring dan media campuran serbuk gergaji dan dedak.

- Isolat murni kapang *Gliocladium sp* dan *Sclerotium rolfsii* diperbanyak dalam media agar miring TEA dengan cara memindahkan satu ose biakan kapang ke dalam media agar miring secara aseptik.
- Setelah biakan berumur ± 8 hari kemudian dipindahkan ke dalam medium campuran serbuk gergaji dan dedak.
- Pembuatan media campuran serbuk gergaji dan dedak :

Campuran dedak dan serbuk gergaji dengan perbandingan 1:1 direndam dalam air selama 24 jam, kemudian air kelebihannya diperas hingga bahan tidak menggumpal. Setelah itu dimasukkan ke dalam polybag, tiap-tiap polybag diisi dengan 1 kg campuran dedak dan serbuk gergaji. Tiap-tiap polybag dimasukkan ke dalam plastik dan selanjutnya

disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, setelah dingin siap diinokulasi. Pada tiap polybag diinokulasikan 10 butir sklerotia yang masak (berwarna coklat).

C.2. Perhitungan konidia kapang *Gliocladium sp*

- Sebelum dilakukan perhitungan konidia kapang, dibuat suspensi konidia kapang dari 0,25; 0,5; 1; 2; dan 4 tabung isolat. Suspensi konidia dibuat dengan cara menambahkan 50 ml akuades ke dalam tabung isolat kapang *Gliocladium sp*, kemudian konidia diluruhkan dengan menggunakan jarum ose secara aseptik.

- Diambil sedikit suspensi dengan menggunakan pipet dan dilakukan perhitungan konidia dengan menggunakan rumus dari Hadioetomo (1993):

$$Y = X \cdot 50 \cdot 10^3$$

Keterangan : Y = Jumlah konidia dalam 1 ml contoh

X = Jumlah konidia dalam 5 kotak ruang kecil (80 kotak)

- Setelah dilakukan perhitungan konidia didapatkan :

0,25 tabung isolat kapang = $0,58 \times 10^8$ konidia/ml

0,5 tabung isolat kapang = $1,14 \times 10^7$ konidia/ml

1,0 tabung isolat kapang = $2,21 \times 10^7$ konidia/ml

2,0 tabung isolat kapang = $3,57 \times 10^7$ konidia/ml

4,0 tabung isolat kapang = $4,68 \times 10^7$ konidia/ml

C.3. Pengujian potensi *Gliocladium sp* sebagai agen pengendali hayati

- Lima konsentrasi suspensi konidia kapang *Gliocladium sp* yang diambil berdasarkan hasil perhitungan konidia dengan ditambah satu kontrol diberikan pada medium dalam polybag (tiap konsentrasi diberikan pada 1 kg medium).
- Tiap konsentrasi dengan tiga kali pengulangan dan tiap pengulangan terdiri dari lima tanaman uji. Suspensi konidia diberikan pada hari ke-0, 7, dan 14 sebelum bibit tanaman ditanam.
- Pengamatan gejala busuk batang dan layu selama tiga bulan (1 bulan untuk uji pendahuluan dan 2 bulan untuk uji sesungguhnya) dengan frekuensi satu minggu sekali. Selama pengamatan, tanaman diberi pupuk NPK sebanyak 2 gram/1 kg medium dan disirami setiap pagi dan sore. Sebagai data penunjang dicatat juga faktor lingkungan yang berupa temperatur dan kelembaban udara pada saat pengamatan.

C.4. Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan faktorial. Data yang diperoleh untuk masing-masing seri perlakuan yaitu waktu pemberian konsentrasi suspensi konidia kapang *Gliocladium sp* (0,7, dan 14 hari sebelum bibit kacang tanah ditanam) dan konsentrasi suspensi konidia dianalisis dengan Anova. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan

dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan dengan menggunakan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha:0,05$)(Gaspersz, 1991).

D. Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah tanaman kacang tanah yang terinfeksi penyakit busuk batang dengan ciri-ciri pada pangkal batang busuk dan terdapat miselium kapang *S. rolfsii*.

