

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Desa Rimbo Panjang Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar dan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Riau Pekanbaru dari bulan April sampai bulan Juli 2006.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA), akuades steril, alkohol 70 %, *lactophenol*, isolat *T. paradoxa* koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan, *aluminium foil*, tissue, kapas, kertas saring whatman, plastik kaca, minyak imersi dan xylol.

Alat yang digunakan berupa jarum inokulasi, cawan petri, erlenmeyer 250 ml, oven, otoklaf, *object glass*, *cover glass*, batang pengaduk, kuas lukis, *hand sprayer*, *orbital shaker*, tabung reaksi, *laminar air flow cabinet*, timbangan analitik, gelas ukur, mikroskop, kompor gas, lampu bunsen, inkubator, *automatic mixer* dan bor tanah.

3.3. Metodologi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium dengan pengambilan sampel secara *purposive sampling* yaitu 10 % dari 150 ha lahan petani (15 ha). Pada masing-masing tersebut diambil sebanyak 5 petak sampel dengan ukuran 3 x 3 meter. Tanah sampel pada masing-masing lahan diambil secara diagonal sebanyak 5 titik. Data yang diperoleh akan dianalisis statistik deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.



3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Di Lapangan

3.4.1.1. Peninjauan Lokasi Penentuan Lokasi

Peninjauan lokasi dilakukan pada beberapa tempat, untuk mengetahui luasnya lahan nenas, jarak tanam dan drynase yang ada di Desa Rimbo Panjang Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. Lokasi dipilih 10 (sepuluh) lahan petani dengan luas lahan dan jumlah populasi tanaman nenas yang beragam.

3.4.1.2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel mikroorganisme rizosfir dilapangan dilakukan dengan menggunakan alat bor tanah yang berdiameter 4,5 cm pada setiap petak sampel, dengan cara memasukan ke dalam tanah sedalan 10 cm. Tanah sampel yang sudah diambil diberi label sesuai lahan pengambilan sampel untuk dibawa ke laboratorium.

3.4.2. Di Laboratorium

3.4.2.1. Persiapan Isolasi dan Isolasi Jamur

Sampel tanah yang telah diambil dari setiap petak sampel dikering anginkan, kemudian diayak. Hasil ayakan diambil 10 gram disuspensikan kedalam 90 ml akuades steril, diaduk menggunakan *orbital shaker* sampai homogen. Setiap suspensi sampel diencerkan secara bertingkat sampai tingkat pengenceran 10^{-6} .

Suspensi tanah yang telah di encerkan sampai 10^{-6} dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 1 ml yang sudah terisi 10 ml medium PDA cair, kemudian dikocok sampai homogen, inkubasi pada suhu kamar selama empat



hari, amati koloni jamur yang muncul dan di isolasi kembali pada medium PDA sampai diperoleh biakan murni. Untuk penyimpanan biakan murni di remajakan pada medium PDA miring menggunakan tabung reaksi.

3.4.2.2. Identifikasi Jamur

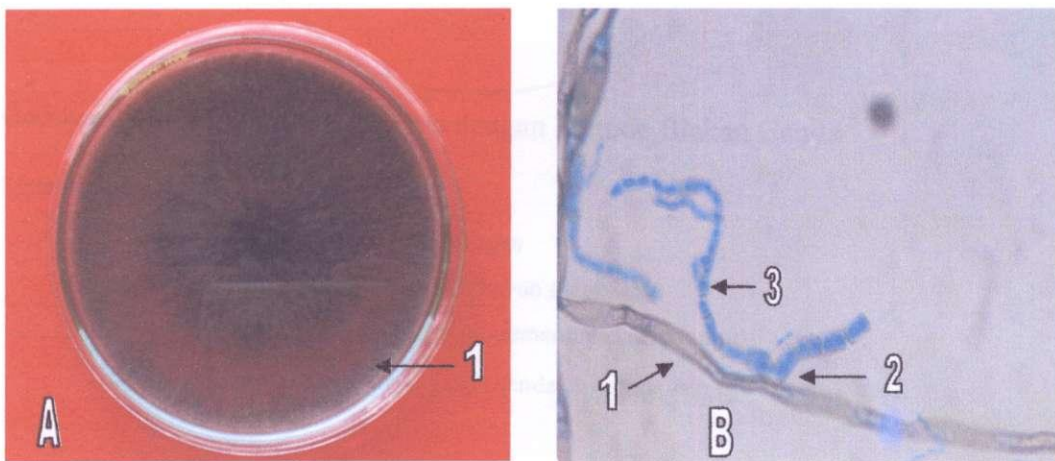
Isolat jamur yang telah berumur 3 hari setelah inkubasi diidentifikasi secara makroskopis. Identifikasi makroskopis dilakukan secara visual. Sedangkan identifikasi mikroskopis dilakukan pada umur 7 hari setelah inkubasi (hsi) menggunakan metode preparat basah dengan cara; meletakkan miselium pada objek yang telah di tetesi akuades dan *lactophenol*, ditutup dengan kaca penutup. Kemudian diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran rendah (10 x 10), pembesaran sedang (10 x 40), dan pembesaran tinggi (10 x 100), pengamatan berdasarkan buku pedoman '*Illustrated Genera of Imperfect Fungi*' (Barnet dan Hunter, 1972) dan *A Revision of the Genus Trichoderma* (Rifai, 1969).

3.4.2.3. Penyiapan Jamur *Thielaviopsis paradoxa*

Isolat yang telah tersedia dalam tabung reaksi di remajakan pada medium PDA yang akan digunakan sebagai bahan untuk uji indikasi antagonis terhadap jamur rizosfir tanaman nenas. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *T. paradoxa* dapat dilihat pada Tabel 1. dan Gambar 10.

Tabel 1. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis *T. paradoxa*.

Karakteristik	Hasil Pengamatan	
Morfologi	Makroskopis	Mikroskopis
Warna Miselium	Putih kemudian menjadi hitam	
Arah Pertumbuhan Miselium	Kesamping	
Bentuk Miselium	Halus dan bercabang	
Hifa		Berwarna coklat muda dan bersekat
Konidiofor		Tipis dan tidak bercabang
Bentuk Konidia		Memanjang, berantai dan tidak bersekat
Warna Konidia		Hialin

Gambar 10. Foto Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis *T. paradoxa*

A = Makroskopis

B = Mikroskopis

1 = Hifa

2 = Konidiofor

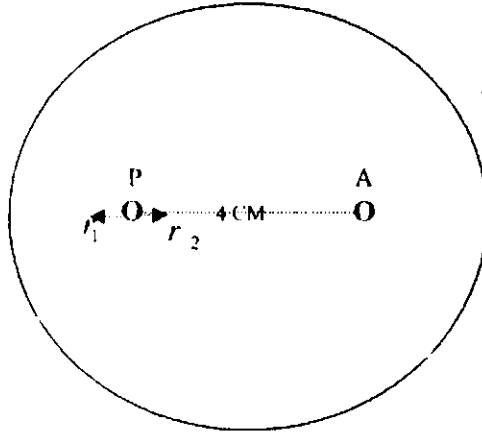
3 = Konidia

3.4.2.4. Uji Indikasi Antagonis Jamur Rizosfir Tanaman Nenas

3.4.2.4.1. Pada Media PDA

Pengujian antagonis mikroorganisme rizosfir terhadap *T. paradoxa* menggunakan metode biakan ganda menurut (Sinaga, 1995 dalam Elfina, 2001). Potongan biakan jamur antagonis dan jamur patogen berumur 7 hari setelah inkubasi yang berdiameter 0,5 cm dibiakkan secara bersama-sama dalam cawan

petri yang berisi media PDA dengan jarak antara kedua patogen tersebut 4 cm (Gambar.11). Biakan tersebut diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar (28°C - 30°C).



Gambar 11. Uji Indikasi Antagonis dengan Metode Biakan Ganda

Keterangan :

P : Potongan biakan koloni patogen

A : Potongan biakan koloni cendawan antagonis

r_1 : Jari-jari koloni patogen yang memenuhi cendawan uji

r_2 : Jari-jari koloni patogen yang mendekati cendawan uji

3.5. Pengamatan

3.5.1. Identifikasi Jamur Rizosfir

3.5.1.1. Karakteristik Makroskopis

Pengamatan makroskopis dilakukan secara visual meliputi:

3.5.1.1.1. Warna miselium

Karakteristik warna miselium dilakukan 5-7 hari setelah inkubasi.

3.5.1.1.2. Arah pertumbuhan miselium

Karakteristik arah pertumbuhan miselium diamati apakah ke atas atau ke samping, dilakukan 5-7 hari setelah inkubasi.

3.5.1.1.3. Bentuk miselium

Bentuk miselium diamati apakah miselium halus atau kasar dan bentuknya seperti benang wol, konsentris. Dilakukan 5-7 hari setelah inkubasi.

3.5.1.2. Karakteristik Mikroskopis

3.5.1.2.1. Warna Hifa

Karakteristik warna hifa apakah hialin atau berwarna dan memiliki sekat atau tidak.

3.5.1.2.2. Konidiofor

Konidiofor diamati apakah bercabang atau tidak

3.5.1.2.3. Konidia

3.5.1.2.3.1. Bentuk konidia

Bentuk konidia apakah bulat, lonjong, ellips atau memanjang

3.5.1.2.3.2. Warna konidia

Warna konidia diamati apakah terang, hijau pucat, gelap dan hitam.

3.5.2. Kemampuan Menghambat Jamur Rizosfir Terhadap Pertumbuhan Patogen *Thilaviopsis paradoxa* (%)

Kemampuan menghambat jamur antagonis mikroorganisme rizosfir terhadap pathogen dihitung berdasarkan rumus (Fokkema, 1973 dalam Elfina, 2001) dengan rumus :

$$P = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100\%$$

Dimana :

P= Kemampuan menghambat cendawan antagonis

r_1 = Jari-jari koloni patogen yang memenuhi cendawan uji

r_2 = Jari-jari koloni patogen yang mendekati cendawan uji



3.5.3. Pengamatan tambahan

3.5.3.1. pH tanah

Sampel tanah yang telah diambil dari masing-masing lahan dikering anginkan, kemudian diambil 10 gram tanah, masukan kedalam tabung film dan tambahkan 10 ml H₂O (pH H₂O 1 : 1), aduk menggunakan mesi pengaduk selama ± 30 menit, kemudian didiamkan paling lama 1 jam, ukur dengan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan penyanggah (bufler pH 4 dan pH 7) atau kertas lakmus. Data dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.5.3.2. Kuisisioner

Pengisian lembaran kuisisioner oleh petani melalui wawancara langsung dengan menggunakan daftar pertanyaan (kuisisioner) yang telah dipersiapkan sebelumnya, meliputi luas lahan, jarak tanam, umur tanaman, varietas, cara pemupukan, pengendalian yang telah dilakukan dan saluran drainase. Kuisisioner dapat dilihat pada Lampiran 3.