

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan rumah setengah bayangan Fakultas Pertanian Universitas Riau Kampus Bina Widya Jalan H.R Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru Panam, Kecamatan Tampan, Pekanbaru. Penelitian ini akan berlangsung selama kurang lebih 4 bulan yaitu Desember 2009 sampai dengan Maret 2010.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai yang terdiri dari 5 varietas benih kedelai yaitu varietas Malabar, Kipas Putih, Slamet, Willis dan Anjasmoro. PDA (Potato Dextrose Agar) DIFCO, tanah, Alkohol 70%, Aquades steril, aluminium foil, kantong plastik transparan, tissue gulung, kain kasa dan kapas.

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, gelas ukur, gelas piala, gelas erlenmeyer, mikroskop stereo binokuler, batang pengaduk, jarum ose, pinset, lampu bunzen, ruang isolasi, *Electric Soil Sterilizer*, *autoclave*, ruang isolasi, pisau, gelas objek, gelas penutup, timbangan digital, inkubator dan bak persemaian (*seed bed*) ukuran 40×25×10 cm, gunting, dan ayakan tanah dengan ukuran diameter 0,5 mm.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuannya adalah beberapa varietas kedelai yaitu :

V1 = Varietas Malabar

V2 = Varietas Kipas Putih

V3 = Varietas Slamet

V4 = Varietas Willis

V5 = Varietas Anjasmoro



Penelitian ini terdiri dari dua pengujian yaitu Uji kesehatan benih dan Uji daya kecambah benih. Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Data identifikasi jamur patogen pada benih dan bibit kedelai, dianalisis dengan statistik deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.
- b) Data persentase serangan jamur patogen pada benih, persentase serangan jamur patogen pada bibit dan daya kecambahnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam atau analysis of variance (ANOVA) dengan model linear sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \sigma_i + \epsilon_{ij}$$

Dimana:

Y_{ij} = Hasil pengamatan dari varietas benih kedelai ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum (mean)

σ_i = Pengaruh dari varietas benih kedelai ke-i

ϵ_{ij} = Galat dari varietas benih kedelai ke-I dan ulangan ke-j (Sudjana, 1991).

Hasil sidik ragam dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) taraf 5 %.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel Benih

Sampel benih yang akan digunakan dalam penelitian ini berasal Balai Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura, Kecamatan Batusangkar, Sumatera Barat. Sampel benih yang akan digunakan sebanyak 5 varietas yaitu varietas Malabar, Kipas Putih, Slamet, Willis dan Anjasmoro. Sampel benih berasal dari Balai Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan Dan Hortikultura, Depok. Sampel benih kedelai yang akan digunakan adalah sebanyak 1 kg per varietas. Kemudian sampel benih ini dibawa ke Laboratorium untuk diteliti.



3.5. Pengujian Kesehatan Benih Dan Daya Kecambah Pada Medium Tanah

Pengujian kesehatan benih dan daya kecambah pada penelitian ini menggunakan 2 jenis medium, yaitu Medium Potato Dextrose Agar (PDA) dan medium tanah. Benih yang digunakan berjumlah 200 benih untuk tiap ulangan, kemudian dari 200 benih ini dibagi menjadi 2 bagian yaitu 100 benih untuk pengujian pada medium PDA, dan 100 benih untuk pengujian pada medium tanah. Benih yang digunakan untuk kedua jenis medium tersebut diambil secara acak dari kelima kantong plastik benih kedelai.

3.5.1. Pada Medium Potato Dextrose Agar (PDA)

Benih sebanyak 100 benih dicuci dengan air mengalir. Benih direndam dalam larutan alkohol 70% selama 3 menit, lalu direndam ke dalam larutan aquades steril sebanyak 2 kali. Kemudian benih tersebut disusun secara teratur di dalam cawan petri yang telah berisi medium PDA sebanyak 20 ml yang telah disterilkan terlebih dahulu. Pada cawan petri yang telah berisi medium PDA steril ditanamkan sebanyak 10 benih kedelai. Kemudian benih tersebut diinkubasi di dalam inkubator selama 7 hari pada suhu kamar ($30-32^{\circ}\text{C}$). Pada hari terakhir dilakukan pengamatan terhadap jamur patogen pada benih kedelai secara makroskopis dan mikroskopis.

3.5.2. Pada Medium Tanah

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah lapisan atas (top soil) yang diambil dari Kebun Percobaan Organik (KPO) Fakultas Pertanian Universitas Riau. Tanah yang telah diambil tersebut dibersihkan dari sisa-sisa kotoran, tumbuhan dan batuan. Kemudian tanah tersebut disterilkan dengan Electric Soil Sterilizer selama 1 jam 30 menit dengan suhu 110°C , kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik tertutup dan diinkubasi selama 1 minggu. Tanah ini selanjutnya dimasukkan ke dalam bak persemaian (*seed bed*) setinggi 8 cm dan disiramkan air hingga lembab, kemudian benih kedelai ditanam sebanyak 50 benih secara teratur ke dalam bak persemaian (*seed bed*) dan disusun secara teratur dengan lubang tanam sedalam ± 1



cm. Kemudian dilakukan penyiraman setiap pagi dan sore hari selama lebih kurang 21 hari sampai benih berkecambah. Pengujian pada medium ini dilakukan dalam rumah setengah bayangan.

3.6. Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.6.1. Identifikasi Jamur Patogen Pada Benih Dan Kecambah

Tujuan dari identifikasi jamur patogen pada benih kedelai adalah untuk mengetahui jenis-jenis jamur patogen yang menyerang benih kedelai atau patogen yang terbawa oleh benih kedelai. Pengamatan pada medium PDA ini dilakukan secara :

a). Makroskopis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan melihat langsung jamur-jamur pada benih kedelai yang telah diinkubasi selama 7 hari yaitu dengan melihat warna miselium, arah pertumbuhan miselium (ke atas atau ke samping), bentuk miselium (kasar atau halus).

b). Mikroskopis

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler yaitu dengan melihat warna hifa (hialin atau berwarna dan memiliki sekat atau tidak), dan bentuk konidia jamur patogen. Untuk memudahkan identifikasi terhadap jamur patogen ini dipergunakan buku identifikasi (**Barnet, 1958**). Sedangkan untuk mengidentifikasi jamur patogen berdasarkan pada gejala yang ditimbulkan pada bibit yang tumbuh di medium tanah dipergunakan buku panduan Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia (**Semangun, 2004**).

Untuk lebih memastikan jamur patogen sesuai dengan gejala yang ditemukan di lapangan, maka dilakukan penanaman jaringan tanaman yang terinfeksi dengan metode inkubasi pada medium agar (PDA). Caranya adalah:



1). Bagian tanaman yang sakit dipotong dengan menyertakan bagian yang sehat sebesar 1×1 cm dengan menggunakan gunting steril. 2). Bagian tanaman tersebut kemudian dicuci dengan air mengalir lalu direndam ke dalam larutan alkohol 70% selama 3 menit, lalu dipindah rendamkan ke dalam larutan aquades steril sebanyak 2 kali, masing-masingnya selama 3 menit. 3). Kemudian PDA steril sebanyak 20 ml dituangkan ke dalam petridish. 4). Lalu bagian tanaman yang telah dipotong disusun pada medium PDA dan diinkubasi selama 7 hari. 6). Jamur-jamur yang tumbuh diperiksa dengan mikroskop dengan melihat bentuk miselia dan konidianya.

3.6.2. Persentase Serangan Jamur Patogen Pada Benih (%)

Pengamatan dilakukan pada hari ke-7 setelah benih diinkubasi pada medium PDA. Persentase serangan dari masing-masing jamur patogen dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase serangan} = \frac{\text{Jumlah benih yang terinfeksi oleh satu jenis jamur}}{\text{Jumlah benih yang diamati dari tiap varietas}} \times 100\%$$

3.6.3. Persentase Serangan Jamur Pada Bibit (%)

Pengamatan dilakukan berdasarkan gejala penyakit pada bibit yang tumbuh pada medium tanah. Pengamatan dilakukan pada kedelai yang berumur 3 minggu setelah

$$\text{Persentase Serangan} = \frac{\text{jumlah bibit yang bergejala}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100\%$$

3.6.4. Persentase Kecambah Normal (%)

Pengujian kecambah ini bertujuan untuk menentukan persentase daya kecambah (viabilitas) benih. Pengamatan ini dilakukan mulai hari ke-4 setelah benih dikecambahkan sampai tidak ada lagi benih yang berkecambah dengan interval pengamatan 2 hari sekali. Cara pengamatan yaitu dengan menjumlahkan benih yang telah berkecambah normal untuk satu varietas, kemudian ditentukan persentasenya dengan rumus :

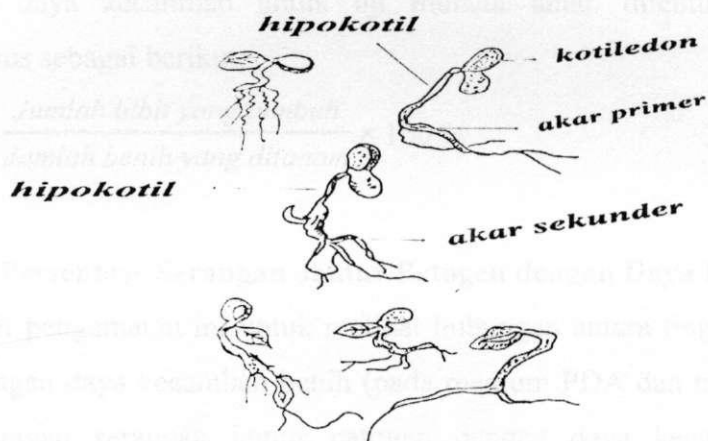


3.6.5. Persentase Kecambah Abnormal Pada PDA (%)

Pengamatan ini bertujuan untuk menentukan persentase daya kecambah abnormal. Cara pengamatannya yaitu dengan menjumlahkan benih yang berkecambah abnormal untuk satu varietas, kemudian ditentukan varietasnya dengan rumus :

$$\text{Daya Kecambah} = \frac{\text{jumlah benih yang berkecambah abnormal}}{\text{jumlah benih yang berkecambah}} \times 100\%$$

Kriteria kecambah abnormal pada kedelai dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2. Kecambah Kedelai Abnormal (Kamil, 1982)

Keterangan :

Akar : Tak ada akar primer atau akar-akar sekunder yang tumbuh baik

Hipokotil : 1). Pecah dalam yang terbuka memanjang masuk ke dalam jaringan pengangkut. 2). Cacat, berkeriput dan membengkak atau memendek.

Kotiledon : Kedua-duanya hilang dan bibit (kecambah) lemah sehingga tidak vigorous.

Epikotil : 1). Tak ada daun primer atau tunas ujung (terminal bud). 2) Ada satu atau dua daun primer, tetapi tak ada tunas ujung. 3). Epikotil membusuk, menyebabkan pembusukan menyebar dari kotiledon yang busuk, dan bibit juga lemah.

3.6.6. Uji Muncul Tanah (%)

Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk menentukan kekuatan tumbuh (vigor) benih pada medium tanah. Pengamatan dilakukan mulai hari ke-4 setelah benih ditanam dengan cara menghitung jumlah bibit yang muncul di atas permukaan tanah, dengan panjang 2,0 cm-2,5 cm. Pengamatan selanjutnya dilakukan dua hari sekali sampai tidak ada lagi benih yang tumbuh.

Persentase daya kecambah untuk uji muncul tanah ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Daya kecambah} = \frac{\text{Jumlah bibit yang tumbuh}}{\text{Jumlah benih yang ditanam}} \times 100 \%$$

3.6.7. Hubungan Persentase Serangan Jamur Patogen dengan Daya Kecambah

Tujuan dari pengamatan ini untuk melihat hubungan antara tingkat serangan jamur patogen dengan daya kecambah benih (pada medium PDA dan tanah). Dalam menentukan hubungan serangan jamur patogen dengan daya kecambah benih ditentukan dengan rumus (Walpole dan Raymond, 1986) sebagai berikut:

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_x^2 S_y^2}}$$

Dimana:

- r = Koefisien korelasi
- S_{xy} = Ragam antara persentase serangan masing-masing jamur patogen dengan daya kecambah
- S_x = Persentase serangan masing-masing jamur patogen
- S_y = Daya kecambah

