

### **III. BAHAN DAN METODE**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman Bidang Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan dari bulan April sampai Agustus 2013.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jeruk yang dibeli dari pasar tradisional dan pasar modern di Bandar Lampung, aquades, alkohol 70%, dan media PSA (*Potato Sucrose Agar*). Alat-alat yang digunakan adalah mikroskop, *cover glass*, preparat, air steril, cawan petri, gelas piala, *Laminar Air Flow* (LAF), jarum preparat, autoklaf, nampan plastik, toples plastik dengan tinggi 6 cm dan diameter 10,5 cm, kertas merang, *hand sprayer*, aluminium foil, plastik tahan panas, plastik *wrap*, tisu, label, dan bunsen.

#### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini berupa survei terhadap buah jeruk yang berasal dari beberapa pasar tradisional dan beberapa pasar modern di Bandar Lampung. Jenis buah jeruk yang diambil dari pasar tradisional maupun pasar modern adalah jeruk lokal, yaitu jeruk siam atau biasa juga disebut jeruk medan. Setiap pasar diambil dua kali

sampel buah, sehingga total pengambilan sebanyak empat kali dengan urutan pengambilan pertama di pasar tradisional, pengambilan kedua di pasar modern, pengambilan ketiga di pasar tradisional, dan pengambilan keempat di pasar modern, dengan jarak pengambilan 25 hari. Setelah sampel didapat, pada hari itu juga buah langsung diinkubasi. Penelitian ini meliputi inkubasi dan isolasi. Inkubasi dilakukan pada semua sampel buah jeruk yang telah diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern, sedangkan isolasi dilakukan apabila ada gejala pada sampel buah yang tidak menunjukkan tanda penyakit.

Sampel buah jeruk diambil dari beberapa pasar tradisional dan pasar modern di Bandar Lampung. Dari 20 kecamatan diambil 10 kecamatan secara acak (diundi), 5 kecamatan untuk pengambilan sampel di pasar tradisional dan 5 kecamatan lainnya untuk pengambilan sampel di pasar modern. Sampel dari pasar tradisional diambil dari pedagang yang terbesar. Dari masing-masing pasar diambil buah jeruk sebanyak  $\frac{1}{2}$  kg (lebih kurang 4 buah), kemudian semua sampel buah jeruk diinkubasi. Semua sampel buah yang diinkubasi tidak diberikan perlakuan, hal ini bertujuan untuk mendapatkan hasil apa adanya.

### **3.3.1 Pelaksanaan di laboratorium**

Sampel buah jeruk yang telah didapat dari pasar tradisional maupun pasar modern untuk metode inkubasi di wadah toples yaitu buah dimasukkan ke dalam wadah berupa toples plastik berukuran tinggi 6 cm dengan diameter 10,5 cm yang didalamnya telah diisi dengan kertas merang yang dilembabkan, kemudian toples ditutup rapat. Tiap 1 toples plastik diisi dengan 1 buah jeruk. Buah jeruk diinkubasi selama 21 hari, sedangkan buah jeruk yang tidak menunjukkan adanya

tanda berupa struktur jamur diisolasi dalam cawan petri yang telah berisi media PSA. Adapun langkah isolasi bagian buah jeruk yaitu, kulit buah jeruk dipotong antara bagian yang sehat dan sakit. Potongan kulit buah direndam dalam aquades selama 1 menit, NaClO 1 menit, dan kembali direndam dalam aquades selama 1 menit secara berurutan. Potongan kulit buah jeruk diletakkan di atas tisu dulu untuk menyerap air, kemudian potongan kulit buah diletakkan di atas media PSA pada bagian tengah cawan dengan menggunakan pinset. Isolasi dilakukan di dalam ruangan steril (*Laminar Air Flow*). Hasil isolasi kemudian diinkubasi selama kurang lebih 7 hari di dalam laboratorium.

### **3.3.2 Pengamatan dan identifikasi**

Identifikasi mengacu pada buku Alexopoulos dan Mims (1979). Identifikasi jamur dilakukan dengan mengamati beberapa karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis yaitu meliputi pengamatan gejala yang muncul pada buah yang telah diinkubasi dalam wadah toples plastik selama 21 hari, diamati warna koloni, tekstur koloni, bentuk koloni, dan bentuk tepi koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi: struktur hifa, bentuk spora dan konidia. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat jamur. Jamur yang tumbuh pada buah jeruk yang telah diinkubasi maupun jamur yang tumbuh hasil isolasi diambil sebagian menggunakan jarum dan diletakkan diatas kaca preparat, kemudian ditetesi air steril. Setelah itu, preparat ditutup dengan gelas penutup dan diamati dengan perbesaran terkecil sampai terbesar menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan sampel buah jeruk yang diinkubasi dalam toples plastik dilakukan sejak hari ke 7 sampai hari ke 21,

sedangkan pengamatan inkubasi di media PSA dilakukan sejak hari ke-1 sampai hari ke-7.