

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan Mei - Juli 2014.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan meliputi empat varietas biji kacang tanah (varietas Kelinci I, Hypoma I, Talam I dan K/SR I), air, alkohol 70%, NaOCl (klorok) 5%, dan *Potato Sucrose Agar* (PSA) dengan komposisi kentang 200 gr, gula pasir 20 gr, Agar 20 gr, Aquades 1000 ml. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, labu *erlenmeyer*, gelas piala, corong, pinset, oven, autoklaf, bunsen, mikroskop, buku panduan identifikasi jamur, jarum ose, label, *haemocytometer*, nampan, dan kertas saring.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah faktorial dalam rancangan acak lengkap (RAL). Sebagai faktor pertama adalah varietas kacang

tanah yaitu empat varietas dan faktor kedua adalah asal isolat yang terdiri atas isolat Mesuji, isolat Lampung Tengah, dan isolat Lampung Timur.

Masing-masing kombinasi diulang tiga kali. Data hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam dan perbedaan nilai tengah di uji dengan BNT (5%).

3.3.2 Pembuatan isolat *A. flavus*

A. flavus diisolasi dari biji kacang tanah yang diambil dari petani di tiga kabupaten di Lampung yaitu Lampung Tengah, Bandar Lampung, dan Mesuji. Isolasi dilakukan dengan cara masing-masing biji diinkubasi di dalam cawan petri yang telah dilapisi tiga lembar kertas saring yang dilembabkan dengan menambahkan air sebanyak 5 ml. Jamur *A. flavus* yang tumbuh kemudian dipindahkan ke media PSA untuk dimurnikan. Jamur *A. flavus* yang tumbuh kemudian diidentifikasi berdasarkan buku determinasi jamur oleh Barnett dan Hunter (1997).

3.3.3 Inokulasi *A. flavus* pada Biji Kacang Tanah

Jamur *A. flavus* pada media PSA (*Potato Sucrose Agar*) yang telah dibiakkan selama 8 hari, dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi 100 ml aquades dan diaduk sampai rata. Setelah itu dihitung kerapatan spora jamur tersebut.

Kerapatan spora dari biakan *A. flavus* yang digunakan (Lampung Tengah, isolat Bandar Lampung, dan isolat Mesuji) masing-masing $\pm 5 \times 10^5$ spora/ml. Biji kacang tanah yang berasal dari Balai Penelitian Kacang-Kacangan dan Ubi-Ubian (Balitkabi) di Malang, Jawa Timur, dicuci menggunakan klorok (NaOCl) 0,5% selama 1 menit. Setelah dicuci menggunakan klorok, biji kacang tanah tersebut

dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* berisi jamur *A. flavus* kemudian diaduk hingga rata sampai spora jamur menempel pada biji kacang tanah.

3.3.4. Inkubasi Biji

Biji kacang tanah yang telah diinokulasi kemudian diletakkan pada cawan petri yang berisi tiga lapis kertas saring yang telah dilembabkan dengan menambahkan 5 ml air. Masing-masing cawan yang telah diberi label diisi 5 butir biji kacang tanah dan diinkubasi pada suhu ruang.

3.4 Variabel Pengamatan

Peubah yang diamati adalah daya berkecambah dan keterjadian penyakit biji kacang tanah yang dihitung dengan rumus (Sutopo, 1985):

$$\text{Daya berkecambah} = \frac{\text{Jumlah biji yang berkecambah}}{\text{Jumlah semua biji yang di amati}} \times 100\%$$

Keterjadian penyakit dihitung menggunakan rumus dari (Mehrotra, 1980):

$$\text{Keterjadian penyakit} = \frac{\text{Jumlah biji yang terinfeksi}}{\text{Jumlah semua biji yang diamati}} \times 100\%$$

3.5 Kriteria Ketahanan Varietas Kacang Tanah terhadap Infeksi *A. flavus*

Ketahanan setiap varietas yang diuji menggunakan tingkat ketahanan benih kacang tanah menurut Astiko *et al.* (2009) (Tabel 2).

Tabel 1. Penilaian Tingkat Ketahanan Varietas Kacang Tanah.

Intensitas Keterjadian Penyakit (%)	Tingkat Ketahanan
0-20	Tinggi
> 20-30	Sedang
>30	Rendah