

III. BAHAN DAN METODE

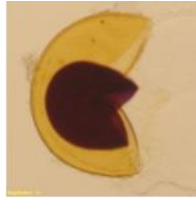

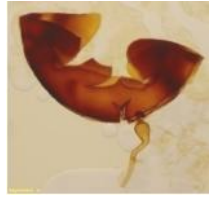
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Desember 2010 – April 2011 di rumah kaca dan Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain cangkul, mistar, alat tulis, mikroskop majemuk, mikroskop stereo, saringan, cawan petri, tabung reaksi, spidol, timbangan, dan oven. Bahan-bahan yang digunakan antara lain polibag, plastik, bahan organik, pupuk Majemuk NPKMg, 3 jenis fungi mikoriza arbuskular yaitu *Glomus* sp., *Entrophospora* sp., dan *Gigaspora* sp. (deskripsi dari ketiga jenis FMA dapat dilihat pada Tabel 1.), top soil, air, pasir, larutan KOH 10%, *glycerol*, *trypan blue*, HCL 1%, dan benih berkecambah kelapa sawit (*germinated seed*) jenis Tenera (D x P).

Tabel 1. Deskripsi 3 jenis FMA yang digunakan dalam penelitian.

Deskripsi	<i>Entrophospora</i> sp.	<i>Glomus</i> sp.	<i>Gigaspora</i> sp.
Ciri-ciri spora: Ukuran Warna Bentuk	Kecil Kuning Bulat	Kecil Kuning Bulat	Besar (<i>Gigaspora</i>) Kuning Bulat
Reaksi terhadap Melzer	Bagian tengah spora berwarna lebih gelap dari pada bagian tepi	Tidak berubah warna	Seluruh bagian spora berubah warna menjadi gelap
Asal	Kebun kelapa sawit, Simpang Sribawono, Lampung Timur	Kebun kelapa sawit, Sumatra Utara, Gunung Para B	Kebun Jarak Jawa Timur, Bali, daerah Glundengan
Media Perbanyakan	Pasir sungai	Pasir sungai	Pasir sungai : zeolit P-3
Tanaman inang	Setaria	Jagung	Rumput gajah
Gambar Reaksi terhadap Melzer			

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis maka penelitian ini disusun dalam rancangan perlakuan faktorial (4x2) dengan lima ulangan. Faktor pertama adalah tiga jenis fungi mikoriza arbuskular yaitu *Entrophospora* sp. (m1), *Glomus* sp. (m2), *Gigaspora* sp. (m3), dan tanpa FMA (m0) dan faktor kedua adalah media yang disterilisasi (t1) dan media yang tidak di sterilisasi (t0).

Jumlah tanaman per satuan percobaan adalah 1 tanaman dengan total pengamatan adalah 40 tanaman. Perlakuan diterapkan pada petak percobaan dalam rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS). Pengelompokkan didasarkan pada sinar matahari yang masuk ke rumah kaca. Tata letak percobaan seperti tertera pada Gambar 1.

Dalam penelitian ini homogenitas ragam antar perlakuan diuji dengan menggunakan Uji Barlett dan kemenambahan data diuji dengan Uji Tukey. Jika kedua uji tersebut tidak nyata selanjutnya data dianalisis ragam dan pemisahan nilai tengah dilakukan dengan menggunakan uji BNJ pada taraf nyata 5%.

Ulangan 1	m3t0	m1t1	m2t0	m0t0	m1t0	m3t1	m0t1	m2t1
Ulangan 2	m1t0	m3t1	m2t1	m1t0	m0t1	m3t0	m2t0	m0t0
Ulangan 3	m1t0	m0t1	m2t1	m2t0	m1t1	m3t1	m3t0	m0t0
Ulangan 4	m1t0	m0t1	m1t1	m2t1	m3t0	m3t1	m2t0	m0t0
Ulangan 5	m1t1	m0t0	m1t0	m3t1	m2t0	m1t1	m3t0	m0t1

Keterangan:

m0	: Tanpa Mikoriza	m1	: Mikoriza Jenis <i>Entrophospora</i> sp
m2	: Mikoriza Jenis <i>Glomus</i> sp.	m3	: Mikoriza Jenis <i>Gigaspora</i> sp.
t0	: Media tidak steril	t1	: Media steril

Gambar 1. Tata letak percobaan di rumah kaca.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyemaian Benih

Benih dipilih berdasarkan ukuran yang seragam. Benih disemai di dalam polibag kecil berisi media top soil, pasir, dan bahan organik dengan perbandingan (4:2:1=V:V:V) yang telah disterilkan. Setelah itu benih dirawat dengan melakukan penyiraman menggunakan *hand sprayer*. Penyemaian benih dilakukan selama 2 bulan sebelum dipindahkan ke polibag yang berukuran besar.

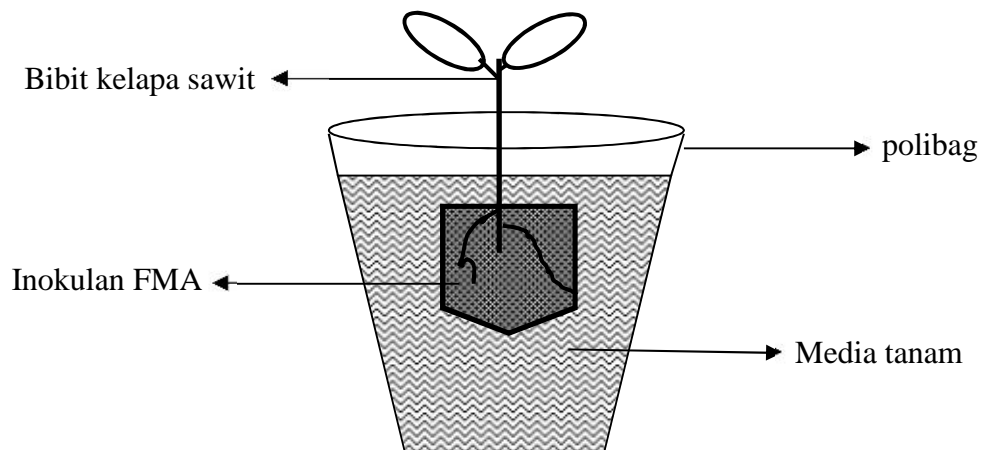
3.4.2 Persiapan Media Tanam

Media yang digunakan adalah tanah top soil dan pasir. Tanah yang telah dikumpulkan lalu diayak agar hanya butiran halus yang terpakai. Sebagian tanah yang telah halus disterilkan dengan cara dikukus selama 1 jam sebanyak tiga kali dengan tujuan untuk mematikan mikroorganisme yang ada di dalam tanah tersebut dan sebagiannya lagi tidak disterilkan. Pasir juga disterilkan dengan cara yang sama.

3.4.3 Penanaman dan Pemberian Mikoriza

Dalam penanaman ada dua macam campuran media yang pertama adalah tanah dan pasir tidak steril dengan perbandingan (2:1=V:V) dan dimasukkan kedalam polibag lebih kurang 3 kg media/polibag. Campuran media yang kedua adalah tanah dan pasir yang steril dengan perbandingan (2:1=V:V) dan dimasukkan kedalam polibag lebih kurang 3 kg media/polibag. Setelah itu bibit ditransplanting dari polibag kecil ke polibag besar dan ditanam di masing-masing polibag sebanyak satu bibit. Sebelum bibit ditanam, pada lubang tanam diberikan

inokulan mikoriza sebanyak 500 spora/polibag (Gambar 2). Polibag yang sudah ditanami kemudian disusun di rumah plastik menurut rancangan kelompok teracak sempurna sesuai tata letak percobaan.



Gambar 2. Teknik inokulasi FMA dan penanaman.

3.4.4 Pemupukan

Bibit kelapa sawit dipupuk dengan menggunakan pupuk majemuk NPK 15:15:15.

Dosis yang digunakan sesuai dengan dosis anjuran yang dapat dilihat pada Tabel

2.

Tabel 2. Pemupukan bibit kelapa sawit pada pembibitan utama.

Umur (minggu setelah semai)	Dosis pupuk NPK 15:15:15 (g/polibag)
14	2,5
16	2,5
18	5,6
20	5,6

3.4.5 Perawatan

Bibit kelapa sawit disiram setiap hari. Pengendalian gulma, hama dan penyakit

dilakukan secara manual.

3.4.6 Akhir penelitian dan pengamatan

Pemeliharaan diakhiri setelah tanaman berumur 5 bulan setelah transplanting.

Untuk menguji kesahihan kerangka pemikiran dan hipotesis dilakukan

pengamatan terhadap peubah-peubah sebagai berikut:

1. Tinggi tanaman. Pengamatan dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman dari permukaan tanah sampai ujung daun tertinggi.
2. Jumlah daun. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung semua daun yang telah terbuka sempurna pada satu tanaman.
3. Bobot basah tajuk. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan antara tajuk tanaman dengan akar, kemudian tajuk dibersihkan dan ditimbang.
4. Bobot basah akar. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan antara tajuk tanaman dengan akar, kemudian akar dibersihkan dan ditimbang.
5. Bobot kering tajuk. Pengamatan dilakukan dengan cara mengeringkan tajuk tanaman dengan oven pada suhu 60°C sampai bobotnya konstan, lalu ditimbang.
6. Bobot kering akar. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan akar dari tajuk tanaman, dibersihkan dengan air keran lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C sampai bobotnya konstan, lalu ditimbang.

7. Persen infeksi akar oleh fungi mikoriza arbuskular. Sampel akar sekunder diambil secara acak ± 20 helai/sampel kemudian dicuci bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah berisi sampel akar diisi dengan larutan KOH 10% sampai seluruh akar terendam dan dikukus di *water bath* selama ± 30 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Larutan KOH kemudian dibuang, dan akar dicuci bersih dengan air. Sampel akar kemudian direndam larutan HCl 1% dan dikukus di *water bath* selama ± 30 menit. Setelah itu, larutan HCl dibuang dan akar siap untuk diwarnai dengan merendamnya dalam larutan *Trypan blue* 0,05% (0,5 gram *Trypan blue* dalam 450 ml *glycerol* + 50 ml HCl 1% + 500 ml aquades) dan dikukus di *water bath* selama ± 30 menit. Akar yang sudah diwarnai dipotong-potong sepanjang ± 2 cm, kemudian diletakkan di atas preparat untuk diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Rumus yang digunakan untuk menghitung persen infeksi akar oleh fungi mikoriza arbuskular adalah sebagai berikut:

$$\text{infeksi akar (\%)} = \frac{\sum p}{t} \frac{y}{p} \frac{te}{F} \times 100\%$$

8. Jumlah akar primer dan sekunder. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan akar primer dan sekunder kemudian dihitung jumlah masing-masing akarnya, baik akar primer maupun akar sekunder.

9. Bobot kering akar primer dan akar sekunder. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan akar primer dan sekunder yang sudah dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C sampai bobotnya konstan, kemudian ditimbang.

10. Volume akar. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan akar dengan tajuk, kemudian akar dibersihkan dengan air. Akar yang telah dibersihkan dimasukkan kedalam gelas ukur yang sudah terisi air dengan volume yang telah dicatat, kemudian diukur kenaikan jumlah air setelah akar dimasukkan. Selisih antara volume awal dengan volume merupakan volume akar.