

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Rumah Kaca, Laboratorium Produksi Tanaman, dan Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung mulai bulan Februari sampai dengan Juli 2011

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: polibag, cangkul, ember, oven, timbangan, alat tulis, label, mikroskop, cawan petri, *hand sprayer*, pinset, dan gelas preparat.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah lima jenis mikoriza yaitu *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 2, *Glomus* sp. 3, *Entrophospora* sp. 1, *Entrphospora* sp. 2 (deskripsi masing-masing FMA dapat dilihat pada Tabel 41), aquades, air, larutan HCl 1%, larutan KOH 10%. larutan *trypan blue*, dan gliserol.

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis maka rancangan perlakuan yang digunakan adalah faktorial (6x2) dengan 5 ulangan. Jenis FMA adalah faktor pertama yang terdiri atas 6 taraf yaitu tanpa FMA sebagai kontrol (m_0), *Glomus* sp. 1 (m_1), *Glomus* sp. 2 (m_2), *Glomus* sp. 3 (m_3), *Entrophospora* sp. 1 (m_4), dan *Entrophospora* sp. 2 (m_5). Dosis pupuk NPK sebagai faktor kedua terdiri atas setengah dosis pupuk anjuran (p_1) dan sesuai dengan dosis pupuk anjuran (p_2). Perlakuan diterapkan pada petak percobaan dalam rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS). Jumlah tanaman per satuan percobaan adalah 1 tanaman dengan total pengamatan adalah 60 tanaman.

Kehomogenan ragam antarperlakuan diuji dengan uji Bartlett dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat sifat kemenambahan data. Bila kedua uji tidak nyata, data dianalisis ragam. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji BNJ pada taraf nyata 5%.

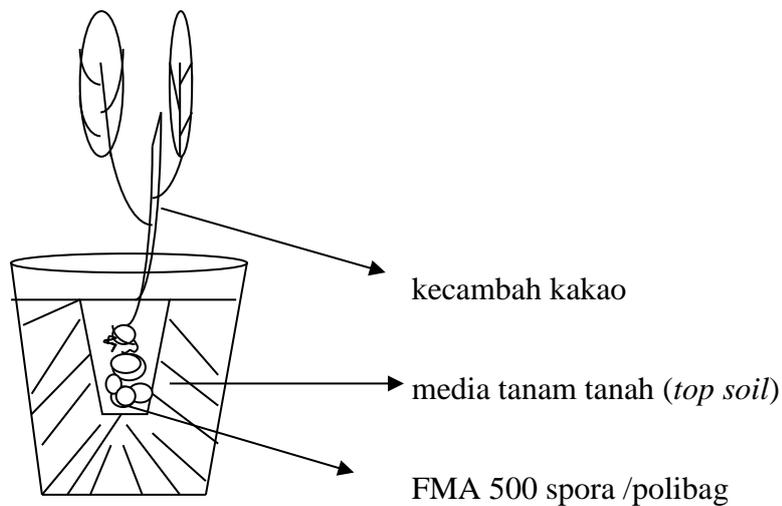
3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Media tanam

Media tanam yang digunakan untuk mengisi polibag berupa tanah lapisan atas (*top soil*) yang di saring untuk mendapatkan ukuran yang sama.

3.4.2 Penanaman Benih Kakao

Benih kakao ditanam pada polibag 2 kg yang telah diisi dengan tanah yang telah disaring. Jumlah polibag untuk seluruh perlakuan adalah 60 buah. Sebelum dilakukan penanaman, terlebih dahulu dilakukan penyemaian benih kakao dengan jarak tanam 10 x 10 cm pada bak semai selama 3 minggu dengan menggunakan media tanam berupa pasir steril lalu dipindahkan ke polibag dengan cara membuat lubang tanam di tengah polibag, kemudian pemberian inokulum FMA 500 spora/polibag sesuai dengan jenis FMA nya yang diberikan di dasar lubang tanam. Setelah itu, di atas inokulum FMA diletakkan bibit kakao yang telah tumbuh dari media persemaian dengan melakukan transplanting, selanjutnya bibit kakao ditutup tanah (Gambar 1).



Gambar 1. Penanaman bibit kakao dan inokulasi FMA pada saat tanam.

3.4.3 Pemupukan

Pemupukan NPK sesuai dosis anjuran dan setelah anjuran diaplikasikan sebanyak 4 kali dimulai pada 2 minggu setelah transplanting dan kemudian dilakukan pemupukan kembali 4, 8, dan 12 minggu berikutnya. Pemupukan dilakukan dengan cara membuat lubang pupuk di sekitar tanaman, pupuk kemudian dimasukkan ke dalam lubang pupuk lalu ditutup kembali. Dosis pupuk NPK tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Dosis pupuk NPK yang digunakan selama penelitian.

Dosis Pupuk NPK	Minggu setelah transplanting			
	2	4	8	12
(p2) Sesuai anjuran	1 g	2 g	4 g	8 g
(p1) ½ anjuran	0,5 g	1 g	2 g	4 g

3.4.4 Pemeliharaan

Pemeliharaan kakao meliputi penyiraman, penyiangan gulma, pengendalian hama penyakit, dan pemupukan. Penyiraman dilakukan secara teratur untuk menjaga kelembaban tanah dan memenuhi kebutuhan tanaman akan air agar tidak mengalami kekeringan. Penyiangan gulma dilakukan secara manual dengan cara mencabut gulma yang tumbuh di dalam polibag yang menjadi pesaing bagi tanaman yang dapat mengganggu pertumbuhan kakao.

3.5 Pengamatan

Untuk menguji keabsahan kerangka pemikiran dilakukan pengamatan tanaman terhadap peubah-peubah sebagai berikut, setelah tanaman berumur 4 bulan setelah transplanting.

(1) Tinggi tanaman

Pengukuran tinggi tanaman dimulai dari tumbuhnya kotiledon pada batang tanaman kakao sampai titik tumbuh batang kakao dengan satuan cm.

(2) Jumlah daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan dengan menghitung setiap daun yang sudah membuka sempurna pada setiap sampel tanaman dengan satuan helai.

(3) Diameter batang

Pengamatan diameter batang dilakukan 5 cm di atas permukaan tanah pada bagian batang utama kakao dengan cara menggunakan jangka sorong dengan satuan cm.

(4) Bobot basah tajuk

Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang bagian tajuk hingga leher akar yang masih segar dengan satuan g.

(5) Bobot kering tajuk

Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang batang dan daun tanaman setelah dikeringkan dalam oven dengan suhu 70 °C selama 48 jam hingga bobotnya konstan dengan satuan g.

(6) Bobot basah akar

Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang akar yaitu bagian leher akar hingga ujung akar yang masih segar dengan satuan g.

(7) Bobot kering akar

Pengamatan dilakukan dengan menimbang akar tanaman yang telah dioven dengan suhu 70 °C selama 48 jam hingga bobotnya konstan dengan satuan g.

(8) Volume akar

Pengamatan dilakukan dengan cara memasukkan akar ke dalam gelas ukur yang telah terisi air. Selisih volume air setelah akar dimasukan merupakan volume akar dengan satuan ml.

(9) Panjang akar primer

Pengamatan dilakukan dengan mengukur panjang akar primer menggunakan mistar yang dimulai dari leher akar sampai ujung akar primer dengan satuan cm.

(10) Jumlah akar sekunder

Pengamatan dilakukan dengan menghitung seluruh akar sekunder yang tumbuh pada akar primer dengan satuan helai.

(11) Rasio tajuk dengan akar

Pengamatan dilakukan setelah panen dengan terlebih dahulu dilakukan pengamatan bobot kering tajuk dan bobot kering akar. Rasio akar dengan tajuk dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rasio tajuk dengan akar} = \frac{\text{Berat kering tajuk tanama}}{\text{Berat kering akar tanaman}}$$

(12) Persentase infeksi akar oleh FMA

Persentase infeksi akar dihitung dengan cara mengambil sampel akar secara acak pada setiap perlakuan. Akar dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah berisi akar diisi dengan larutan KOH 10 % sampai seluruh akar terendam dan dikukus selama ± 30 menit pada suhu 80 °C untuk membersihkan akar dari sitoplasma.

Kemudian larutan KOH dibuang dan akar dicuci kembali dengan air sampai bersih. Sampel akar yang telah dicuci bersih tersebut kemudian direndam dalam larutan HCl 1 % selama satu hari. Setelah itu larutan HCl dibuang dan akar dapat diwarnai dengan merendamnya dalam larutan Trypan blue 0.05 % (0.5 g *Trypan blue* dalam 450 ml *glycerol* + 50 ml HCl 1% + 500 ml aquades) selama satu hari. Akar yang sudah diwarnai dipotong-potong sepanjang ± 2 cm, kemudian diletakkan di atas preparat dan diamati di bawah mikroskop majemuk dengan pembesaran 100 kali.

Rumus yang digunakan untuk menghitung % infeksi akar oleh FMA adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ infeksi akar} = \frac{\sum \text{bagian akar yang terinfeksi}}{\text{Total pengamatan}} \times 100 \%$$