

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari Bulan Desember 2011 sampai dengan September 2012 di rumah kaca dan Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan adalah *autoclave*, bak semai, cangkul, ember, gunting, pisau, timbangan, plastik meteran, gelas ukur, kotak pengomposan, tongkat kayu, gembor, sarung tangan, oven, nampan, mikroskop majemuk, preparat, cawan petri, oven, ayakan tanah, dan alat tulis.

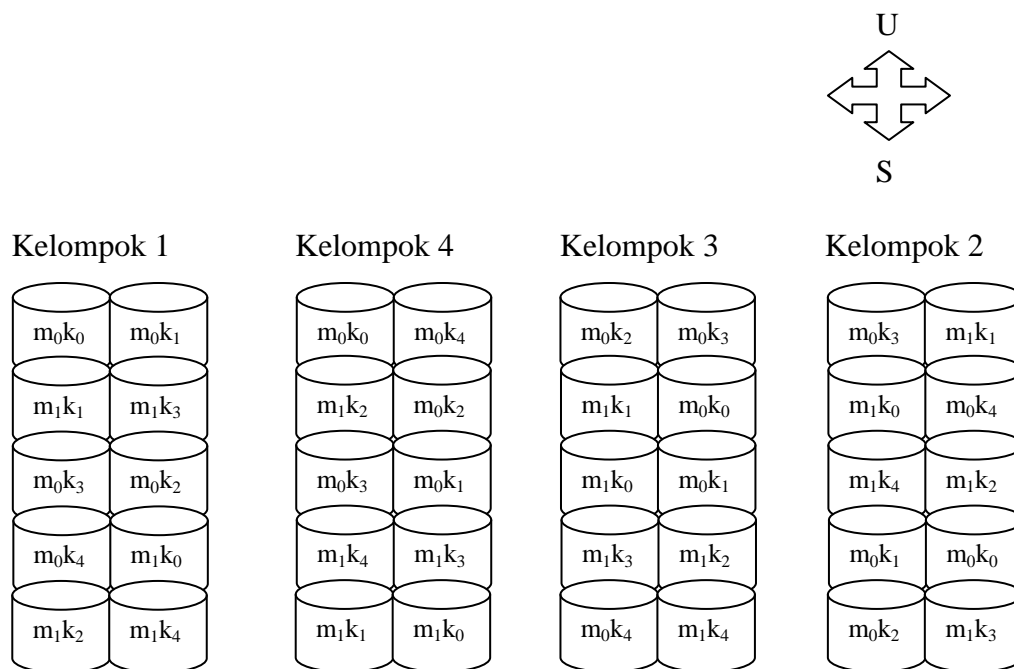
Bahan-bahan yang digunakan adalah tanah; pasir; *polybag* dengan ukuran 12 x 19 cm (posisi terisi); kulit buah kakao; inokulum FMA (campuran spesies *Glomus* sp., *Gigaspora* sp., dan *Entrophospora* sp.); HCl 1%; KOH 10%; *Trypan Blue* 0,5%; EM4; gula merah; dan air.

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan menguji hipotesis, perlakuan disusun secara faktorial (2 x 5). Faktor pertama adalah pemberian

mikoriza dengan 2 taraf, yaitu m_0 (tanpa mikoriza) dan m_1 (campuran FMA jenis *Glomus* sp., *Gigaspora* sp., dan *Entrophospora* sp.). Faktor kedua adalah perbandingan volume tanah pasir (1 : 1) dan kompos kulit buah kakao dengan 5 taraf, yaitu k_0 (0% KKBK), k_1 (5 % KKBK), k_2 (10 % KKBK), k_3 (15% KKBK), dan k_4 (20 % KKBK).

Perlakuan diterapkan ke dalam satuan percobaan menurut rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS) dengan empat ulangan dan setiap satuan percobaan terdiri atas dua *polybag* yang masing-masing berisi satu bibit kakao (Gambar 3). Homogenitas ragam data yang diperoleh diuji dengan Uji Bartlett, sedangkan untuk sifat kemenambahan data diuji dengan Uji Tukey. Bila kedua uji tidak nyata, data dianalisis ragam. Pemisahan nilai tengah pada faktor pemberian FMA dilakukan dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Sedangkan untuk faktor dosis kompos kulit buah kakao dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal pada taraf 5%.



Gambar 3. Tata letak satuan percobaan pada meja Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Keterangan :

1. m_0 : tanpa FMA
2. m_1 : diberi FMA
3. k_0 : tanpa kompos
4. k_1 : kompos 5 % (v/v) KKBK
5. k_2 : kompos 10 % (v/v) KKBK
6. k_3 : kompos 15 % (v/v) KKBK
7. k_4 : kompos 20 % (v/v) KKBK

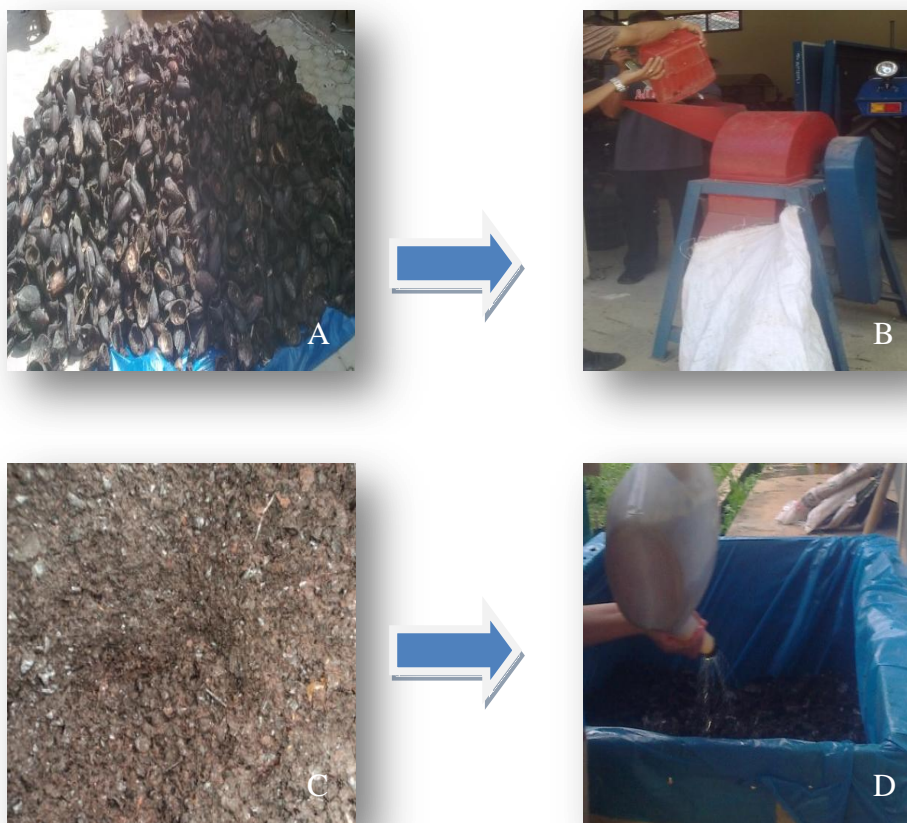
3.4 Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan kompos kulit buah kakao

Limbah kakao dipotong – potong hingga homogen berukuran lebih kurang 2-5 cm^2 . Selanjutnya, limbah kakao sebanyak 300 kg disiram dengan 80 ml EM4 yang telah dilarutkan dengan gula merah 300 gram dalam 20 liter air.

Kemudian adonan tersebut ditutup dengan plastik (Gambar 4). Adonan disimpan di ruang terbuka, tetapi tidak boleh terkena sinar matahari. Kompos

telah matang setelah 2 bulan dengan kandungan N – total 0,61%, P – total 2,96%, C – organik 10,03, pH 7,22, dan C/N rasio 16,61.



Gambar 4. Proses pembuatan kompos kulit buah kakao. (A) kulit kakao utuh, (B) pencacahan kulit kakao menggunakan mesin pencacah, (C) hasil cacahan, (D) proses awal pengomposan dalam kotak dan disiram dengan larutan EM4.

2. Persiapan bak penyemaian

Media tanam yang digunakan dalam bak penyemaian adalah pasir. Sebelum digunakan, pasir tersebut perlu disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi dilakukan untuk mengendalikan fungsi mikoriza arbuskular yang terdapat di dalam media pasir. Kemudian pasir dimasukkan ke dalam bak penyemaian.

3. Penyemaian benih

Sebelum benih disemai, dibuat terlebih dahulu lubang semai dengan menggunakan jari tangan. Lalu benih kakao disemai di bak semai yang telah disiapkan sebelumnya (Gambar 5). Setelah itu, benih ditutup kembali dengan pasir yang ditaburkan di atasnya secara tipis. Penyiraman dilakukan 2 kali sehari dengan menggunakan *hand sprayer*. Benih berada di persemaian selama 14 hari setelah semai.



Gambar 5. Proses penyemaian benih kakao pada bak semai dengan media pasir.

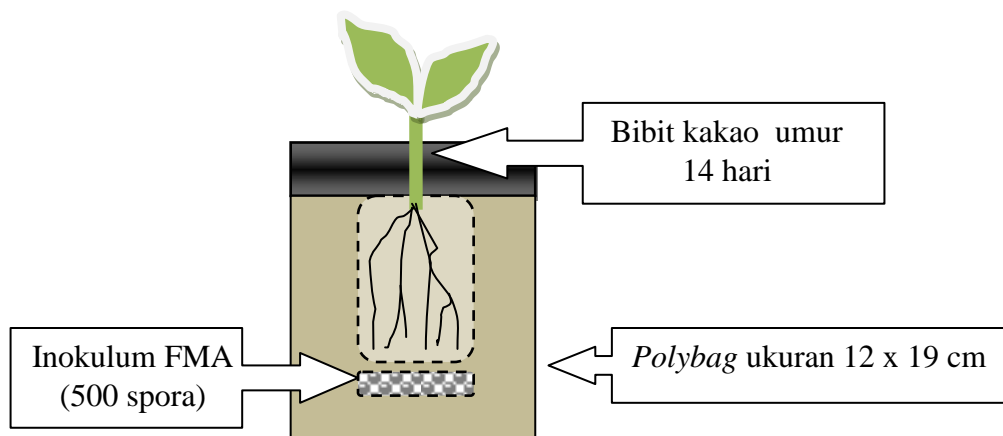
4. Penanaman bibit dan aplikasi kompos dan FMA dalam *polybag*

Setelah bibit berumur 14 hari, bibit dipindahkan ke *polybag* yang telah disiapkan. Sebelum dilakukan penanaman di *polybag*, dilakukan seleksi bibit yang sehat (Gambar 6). Sebelum media dimasukkan ke dalam *polybag*, terlebih dahulu dibuat adonan media tanah pasir (1 : 1) dan kompos dalam bak besar sesuai dengan perlakuan. Pada perlakuan k_0 (tanpa kompos), maka perbandingan tanah pasir : kompos adalah 1 : 0. Pada perlakuan k_1 (5 % [v/v]), maka perbandingan tanah pasir : kompos adalah 19 : 1. Pada perlakuan k_2 (10

% [v/v]), maka perbandingan tanah pasir : kompos adalah 9 : 1. Pada perlakuan k_3 (15 % [v/v]), maka perbandingan tanah pasir : kompos adalah 17 : 3. Sedangkan pada perlakuan k_4 (20 % [v/v]), maka perbandingan tanah pasir : kompos adalah 4 : 1. Kemudian media tersebut dicampur hingga merata (homogen). Setelah itu, media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam *polybag*. Selanjutnya dibuat lubang tanam dengan ukuran panjang, lebar, dan tinggi sekitar 10 cm. Dilanjutkan dengan pemberian mikoriza dengan dosis 500 spora per *polybag*. Setelah itu, bibit diambil dari bak semai dan dipindahkan ke dalam *polybag*. Bibit ditanam dengan posisi tegak, kemudian ditutup kembali dengan tanah dan agak sedikit ditekan (Gambar 7). *Polybag* yang sudah ditanami disusun di rumah kaca mengikuti tata letak percobaan seperti pada Gambar 3.



Gambar 6. Proses seleksi bibit sehat dan seragam. (A) bibit kakao yang berumur 2 minggu, (B) nampan berisi air yang akan menjadi tempat bibit yang terpilih untuk dipindah tanam, (C) bibit yang sehat dan seragam.



Gambar 7. Cara inokulasi FMA pada akar bibit kakao.

5. Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi penyiraman, penyiangan gulma, dan pemupukan.

Penyiraman dilakukan sebanyak 2 kali sehari. Penyiangan gulma dilakukan dengan mencabut gulma yang ada di dalam *polybag*, sedangkan pemupukan dilakukan saat tanaman berumur 1 bulan dengan memberi pupuk NPK dengan dosis 1 g/bibit dan dilakukan setiap 1 bulan sekali setelah *transplanting*.

3.5 Pengamatan

Untuk menguji keabsahan kerangka pemikiran dan hipotesis dilakukan pengamatan terhadap peubah-peubah sebagai berikut:

1. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman diukur dari pangkal batang hingga daun tertinggi dan pelaksanaannya mulai dilakukan saat bibit berumur 4 minggu setelah *transplanting* sampai akhir penelitian (bibit berumur 4 bulan) dengan periode waktu 1 bulan antar pengukuran.

2. Jumlah Daun

Daun yang dihitung adalah daun yang sudah membuka secara sempurna pada setiap perlakuan dan penghitungan mulai dilakukan saat bibit berumur 4 minggu setelah *transplanting* sampai akhir penelitian (bibit berumur 4 bulan) dengan periode waktu 1 bulan antar pengukuran.

3. Diameter Batang

Diameter batang diukur pada ketinggian 5 cm dari pangkal batang dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran diameter batang dilakukan saat bibit berumur 4 minggu setelah *transplanting* sampai akhir penelitian (bibit berumur 4 bulan) dengan periode waktu 1 bulan antar pengukuran.

4. Tingkat Kehijauan Daun

Tingkat kehijauan daun diukur pada daun ke-3 atau ke-empat di mana daun tersebut memiliki warna yang sudah mantap, tidak mengalami perubahan warna lanjutan. Pengukuran tingkat kehijauan daun dilakukan saat bibit berumur 4 BST (bulan setelah *transplanting*) dengan menggunakan alat klorofilmeter (Gambar 8).



Gambar 8. Proses pengamatan tingkat kehijauan daun menggunakan klorofilmeter.

5. Bobot segar tajuk

Bobot segar tajuk diukur pada akhir penelitian yaitu saat tanaman berumur 4 bulan dengan menimbang seluruh tajuk setelah dipanen menggunakan timbangan digital.

6. Bobot segar akar

Bobot segar akar diukur pada akhir penelitian yaitu saat tanaman berumur 4 bulan dengan menimbang seluruh akar setelah dipanen menggunakan timbangan digital.

7. Volume Akar

Volume akar diukur secara manual dan sederhana, yaitu dengan menghitung selisih volume air di dalam gelas ukur 500 ml sebelum dan sesudah dimasukkan akar bibit kakao.

8. Bobot kering akar

Bobot kering akar diukur pada setiap perlakuan dengan cara mengeringkan akar dalam oven yang bersuhu 70°C sampai bobotnya konstan, kemudian ditimbang. Kegiatan ini dilakukan pada saat tanaman berumur 4 bulan dengan menggunakan timbangan digital.

9. Bobot kering tajuk

Bobot kering tajuk diukur dengan cara memasukkan batang dan daun ke dalam oven yang bersuhu 70°C sampai bobotnya konstan, kemudian ditimbang. Pengukuran dilakukan pada saat tanaman berumur 4 bulan dengan menggunakan timbangan digital.

10. Persen infeksi akar

Sampel akar sekunder diambil secara acak ± 20 helai, kemudian dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah terisi dengan sampel akar diisi dengan larutan KOH 10% sampai seluruh akar terpendam, kemudian dikukus dalam *water bath* dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama ± 20 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Larutan KOH 10% kemudian dibuang dan akar dicuci bersih dengan air. Sampel akar kemudian direndam dalam larutan HCl 1%, dikukus kembali dalam *water bath* dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama ± 15 menit. Selanjutnya, larutan HCl dibuang dan akar direndam dengan *trypan blue* 0,05% (0,5 g *trypan blue* + 450 ml *glycerol* + 500 ml akuades + 50 ml HCl 1%) selama satu hari. Akar yang sudah diwarnai dipotong 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 FMA adalah :

$$\% \text{ Infeksi akar} = \frac{\text{jumlah pengamatan yang positif terinfeksi FMA}}{\text{total pengamatan}} \times 100\%$$