

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan dari bulan Januari sampai September 2011 di rumah kaca dan Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Bandar Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan adalah cangkul, polibag, mistar, alat tulis, mikroskop majemuk, mikroskop stereo, saringan, cawan petridis, spidol, plastik, timbangan, dan oven. Bahan-bahan yang digunakan adalah kompos, pupuk SP 36, pupuk Urea, pupuk KCl, 5 jenis fungi mikoriza arbuskular (FMA), tanah, air, pasir kali, larutan KOH 10%, *glycerol*, *trypan blue*, HCl 1%, dan benih kopi robusta.

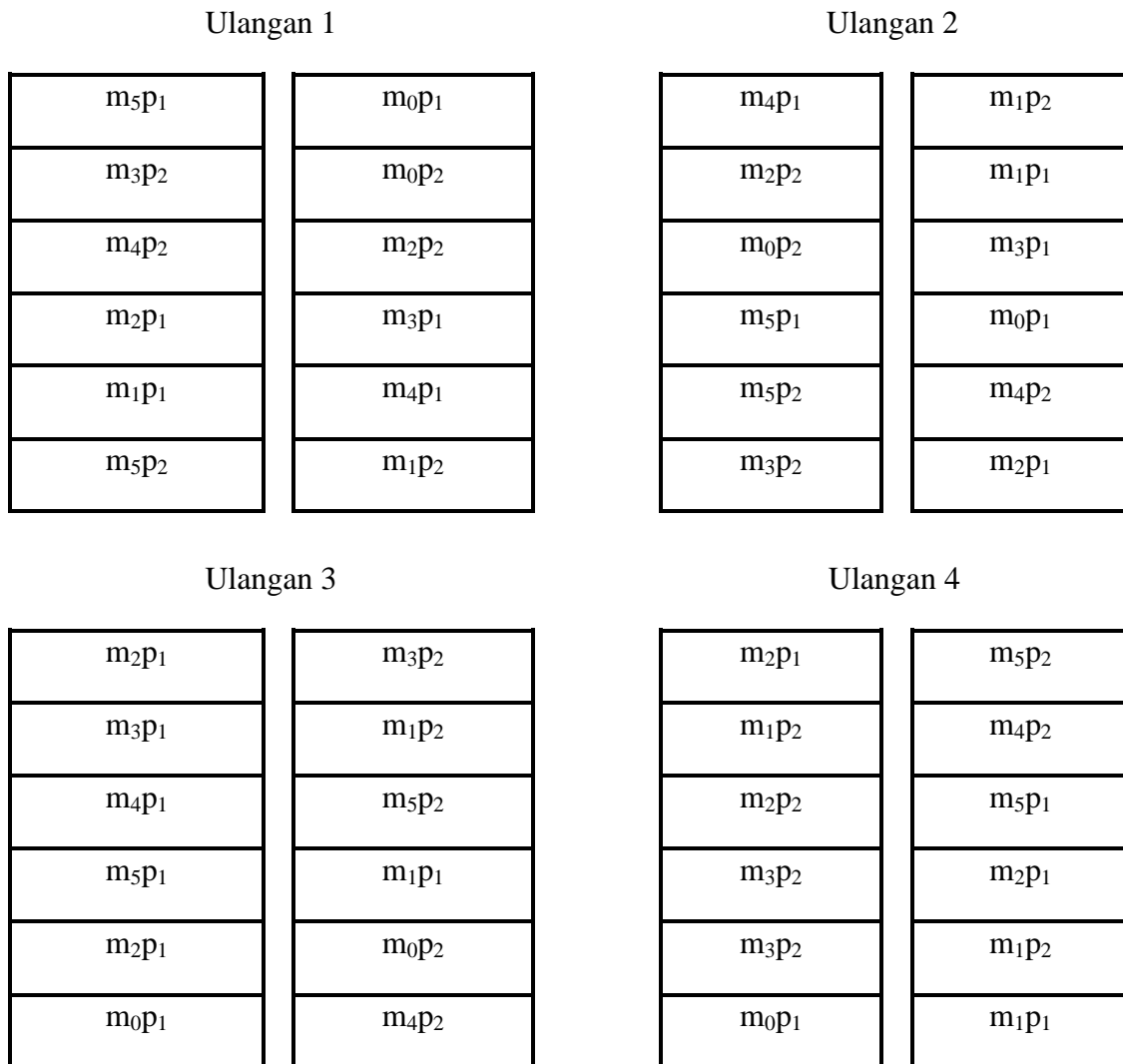
3.3 Metode Penelitian

Penelitian disusun dengan perlakuan dalam rancangan faktorial (6x2) terdiri atas empat ulangan. Faktor pertama adalah lima jenis FMA (deskripsi masing-masing FMA dapat dilihat pada tabel 14 di lampiran) yaitu; *Glomus* sp. 1 (MV1), *Entrophospora* sp. (MV3), *Glomus* sp. 2 (MV4), *Gigaspora* sp. (MV16),

Glomus sp. 3 (MV18), dan tanpa mikoriza (kontrol). Faktor kedua adalah dua takaran pupuk urea, SP-36, dan KCl. Takaran pertama adalah 0,5 g urea, 0,25 g SP-36, dan 0,25 g KCl. Takaran kedua adalah 0,25 g urea, 0,13 g SP-36, dan 0,13 g KCl.

Perlakuan diterapkan pada petak percobaan dalam rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS). Pengelompokan didasarkan pada waktu transplanting bibit dari bak semai. Jumlah tanaman per satuan percobaan adalah 1 tanaman dengan total pengamatan adalah 48 tanaman. Tata letak percobaan dapat dilihat pada Gambar 1.

Homogenitas ragam data diuji dengan Uji Barlett dan kemenambahan data diuji dengan Uji Tukey. Jika kedua uji tersebut tidak nyata selanjutnya data dianalisis ragam dan pemisahan nilai tengah diuji dengan menggunakan uji BNT pada taraf 5%.



Keterangan:

- m₀ = Tanpa Mikoriza
 m₁ = *Glomus* sp. 1
 m₂ = *Entrophospora* sp.
 m₃ = *Glomus* sp. 2
 m₄ = *Gigaspora* sp.
 m₅ = *Glomus* sp. 3
 p₁ = 0,5 g urea, 0,25 g SP-36, dan 0,25 g KCl
 p₂ = 0,25 g urea, 0,13 g SP-36, dan 0,13 g KCl

Gambar 1. Tata letak percobaan di rumah kaca.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 *Penyemaian benih*

Benih dipilih berdasarkan ukuran yang seragam. Benih kemudian disemai di bak yang berisikan pasir yang sudah steril dengan posisi benih bagian yang datar menghadap kebawah. Setelah itu benih dirawat dengan melakukan penyiraman menggunakan *handsprayer*. Penyemaian benih dilakukan selama 2 bulan sebelum dipindahkan ke polibag.

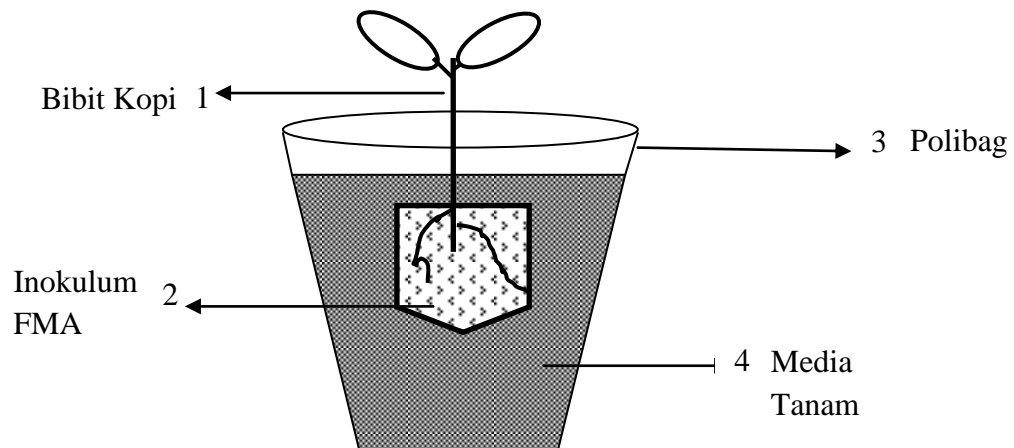
3.4.2 *Persiapan media tanam*

Media tanam yang digunakan adalah tanah *topsoil*, pasir, dan bahan organik. Tanah yang telah dikumpulkan diayak agar hanya butiran halus yang terpakai. Tanah yang telah halus disterilkan dengan cara mengukus tanah menggunakan kompor selama satu setengah jam sebanyak dua kali dengan tujuan untuk mematikan mikroorganisme yang ada di dalam tanah tersebut. Pasir dan bahan organik juga disterilkan dengan cara yang sama.

3.4.3 *Penanaman dan pemberian fungi mikoriza arbuskular*

Tanah, pasir, dan bahan organik yang telah steril selanjutnya dicampur dengan perbandingan (7:1:1=V:V:V) dan dimasukkan kedalam polibag lebih kurang 2 kg media/polibag. Setelah itu, bibit dipindahkan dari bak semaian dan ditanam di masing-masing polibag sebanyak satu bibit. Sebelum bibit ditanam, pada lubang tanam diberikan inokulan FMA sesuai perlakuan sebanyak 300 spora/polibag

(Gambar 2). Polibag yang sudah ditanami kemudian disusun di rumah kaca menurut rancangan kelompok teracak sempurna sesuai tata letak percobaan.



Gambar 2. Teknik inokulasi FMA dan penanaman.

3.4.4 *Pemeliharaan*

Bibit disiram setiap hari, tetapi diusahakan agar tidak lembab karena bibit dapat terserang jamur. Penyiangan gulma yang tumbuh disekitar bibit dilakukan dengan cara mencabut secara manual. Bibit dipelihara sampai berumur 7 bulan setelah semai (bss).

3.4.5 *Pemupukan*

Tanaman dipupuk dengan menggunakan pupuk Urea, SP-36, dan KCl. Takaran anjuran yang diberikan per tanaman adalah 0.5 gram Urea, 0.25 gram SP-36, dan 0.25 gram KCl. Untuk perlakuan yang setengah takaran pupuk adalah 0.25 gram Urea,

0.13 gram SP-36, dan 0.13 gram KCl. Tanaman diberi pupuk pada saat berumur 3 dan 5 bss.

3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada umur tanaman 7 bss. Pengamatan dilakukan terhadap variabel sebagai berikut:

1. Persen infeksi akar oleh FMA. 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 dalam *water bath* selama ± 20 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Larutan KOH kemudian dibuang, dan akar dicuci bersih dengan air. Sampel akar kemudian direndam dalam larutan HCl 1% dan dikukus dalam *water bath* selama ± 20 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 dalam *water bath* selama ± 20 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 FMA adalah sebagai berikut:

$$\text{Infeksi akar (\%)} = \frac{\Sigma \text{bagian pengamatan terinfeksi}}{\text{total pengamatan}} \times 100\%$$

2. Tinggi tanaman. Pengamatan dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman dari permukaan media tanam sampai ujung daun tertinggi.
3. Jumlah daun. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung semua daun yang telah terbuka sempurna pada satu tanaman.
4. Diameter batang. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter batang pada posisi 5 cm di atas permukaan tanah.
5. Bobot basah tajuk. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan tajuk dengan akar, lalu menimbang bobot tajuk yang masih segar.
6. Bobot basah akar. Pengamatan dilakukan dengan cara menimbang bobot akar yang telah dibersihkan dari tanah dan kotoran lainnya.
7. Bobot kering tajuk. Pengamatan dilakukan dengan cara mengeringkan tajuk tanaman dengan oven pada suhu 80 °C sampai bobotnya konstan, lalu ditimbang.
8. Bobot kering akar. Pengamatan dilakukan dengan cara memisahkan akar dari tajuk tanaman, dibersihkan dengan air keran lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 80 °C sampai bobotnya konstan, lalu ditimbang.
9. Panjang akar tunggang. Pengamatan ini dilakukan dengan cara mengukur panjang akar tunggang mulai dari pangkal batang hingga ujung akar.
10. Jumlah akar primer. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung seluruh akar primer yang terdapat pada akar. Akar primer adalah seluruh akar yang keluar dari akar tunggang.