III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

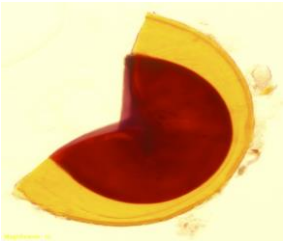
Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Plastik dan Laboratorium Produksi Perkebunan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung mulai November 2010 sampai dengan Juli 2011.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan antara lain tiga jenis inokulan FMA yaitu *Glomus* sp., *Entrophospora* sp., dan campuran antara *Glomus* sp. dengan *Entrophospora* sp., (Deskripsi FMA jenis *Glomus* sp. dan *Entrophospora* sp. dapat dilihat pada Tabel 1), benih berkecambah (*germinated seed*) kelapa sawit jenis Tenera (DxP) yang diperoleh dari PPKS Medan, badan buah (basidiokarp) *Ganoderma* sp. dan tanah yang terinfeksi oleh jamur *Ganoderma* sp., yang berasal dari perkebunan kelapa sawit Rejosari yang positif terserang penyakit busuk pangkal batang (BPB), pupuk Urea, pupuk Phonska, media pasir, bahan organik, air *aquades*, larutan *thrypan blue*, gliserol, larutan HCl, dan larutan KOH.

Alat-alat yang digunakan adalah mikroskop, *autoclave*, cawan petri, oven, timbangan analitik, gunting, nampan plastik, *water bath*, gelas ukur, *cutter*, *polybag* dan alat tulis.

Tabel 1. Deskripsi fungi mikoriza arbuskular.

Uraian	Jenis fungi mikoriza arbuskular	
	Entrophospora sp.	*Glomus* sp.
Ciri-ciri spora	Warna : kuning Ukuran : kecil Bentuk : bulat	Warna : kuning orange Ukutan : kecil Bentuk : bulat
Reaksi terhadap Melzer	Bagian tengah spora berwarna lebih gelap daripada bagian tepi	Spora tidak berubah warna
Asal	Kebun jarak Jatim daerah Notonegoro	Kebun kelapa sawit Padang Sumatra Barat
Media tanam	Pasir sungai : Zeolit P-3	Pasir sungai : Zeolit P-3
Tanaman inang	Jagung (*Zea mays*)	*Clotalaria juncea*
Gambar spora dalam larutan Melzer		

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, perlakuan pada percobaan ini diterapkan dalam rancangan faktorial (4x2) dengan 5 ulangan. Faktor pertama adalah jenis FMA yaitu tanpa FMA (m_0), *Glomus* sp. (m_1), *Entrophospora* sp. (m_2) dan campuran *Glomus* sp. dengan *Entrophospora* sp. (m_3). Faktor kedua adalah *Ganoderma* sp. yaitu g_0 (tanah steril) dan g_1 (tanah terinfeksi *Ganoderma* sp.). Setiap satu satuan percobaan

diterapkan pada petak percobaan menurut rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS).

Setiap satuan percobaan diulang sebanyak 5 kali. Pengelompokan didasarkan pada arah cahaya matahari.. Tata letak percobaan tertera pada Gambar 1.

Data yang diperoleh diuji dengan uji Bartlett untuk menguji kehomogenan ragam antar perlakuan dan kemenambahan model diuji dengan uji Tukey. Bila kedua uji tersebut tidak nyata, data dianalisis ragam. Bila uji Bartlett nyata atau uji Tukey nyata, data ditransformasi menggunakan $\sqrt{(x+0,5)}$. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.

Ulangan 1

m_3g_1	m_0g_0	m_3g_0	m_2g_1
m_1g_1	m_2g_0	m_0g_1	m_1g_0

Ulangan 2

m_3g_0	m_1g_1	m_3g_1	m_1g_0
m_0g_1	m_0g_0	m_2g_0	m_2g_1

Ulangan 3

m_0g_0	m_2g_1	m_0g_1	m_0g_1
m_2g_0	m_1g_0	m_3g_1	m_3g_0

Ulangan 4

m_0g_0	m_0g_1	m_2g_0	m_1g_1
m_1g_0	m_3g_1	m_2g_1	m_3g_0

Ulangan 5

m_2g_0	m_1g_1	m_0g_0	m_2g_1
m_3g_1	m_3g_0	m_0g_1	m_1g_0

U

Keterangan:

m_0 = kontrol/tanpa mikoriza
m_1 = *Glomus* sp.
m_2 = *Entrophospora* sp.
m_3 = *Glomus* sp. + *Entrophospora* sp.

g_0 = tanah steril
g_1 = tanah terinfeksi *Ganoderma* sp.

Gambar 1. Tata letak percobaan di rumah kaca.

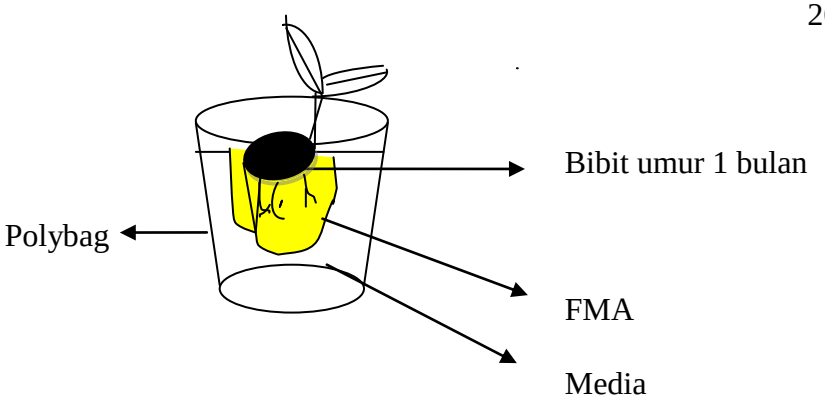
3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyemaian benih berkecambah kelapa sawit

Media yang digunakan pada saat persemaian yaitu top soil, pasir, dan bahan organik dengan perbandingan 4:2:1 yang sebelumnya disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 ^{0}C selama ± 1 jam sebanyak dua kali sterilisasi pada hari yang berbeda. Setelah steril, media dimasukkan ke dalam *baby polybag* ± 1,5 kg media/polybag. Benih kelapa sawit dikelompokkan berdasarkan ukuran benihnya. Selanjutnya, benih tersebut disemai di dalam polybag dengan satu benih per polybag. Semaian dipelihara sampai bibit berumur satu bulan. Penyiraman dilakukan 2 kali sehari.

3.4.2 Inokulasi FMA

Aplikasi FMA sesuai perlakuan dilakukan pada saat bibit berumur satu bulan. Bibit dengan hati-hati dikeluarkan dari polybag. Kemudian pada bagian tengah polybag yang sama dibuat lubang tanam, lalu pada lubang tersebut diletakkan inokulum mikoriza sebanyak 500 spora/*polybag*. Benih kelapa sawit ditanam dan lubang tanam selanjutnya ditutup dengan media hingga mencapai volume bahan tanam yang diinginkan (Gambar 2). Setelah selesai penanaman dan pelabelan sesuai dengan perlakuan, *polybag-polybag* disusun di dalam rumah plastik sesuai dengan tata letak percobaan. Bibit kelapa sawit tersebut dipelihara sampai berumur 3 bulan dan dipupuk dengan Urea dengan dosis 2 g/l untuk 100 bibit kelapa sawit setiap 2 minggu sampai bibit berumur 12 minggu atau 3 bulan.



Gambar 2. Inokulasi FMA dan penanaman bibit kelapa sawit.

3.4.3 Pemberian perlakuan Ganoderma sp.

Untuk perlakuan *Ganoderma* sp. disiapkan sebanyak 20 *polybag* berisi tanah steril (masing-masing berisi 5 kg tanah) dan 20 *polybag* berisi tanah tidak steril (terinfeksi *Ganoderma* sp.) yang berasal dari daerah perkebunan kelapa sawit PTPN VII Rejosari, Natar. Media tanah yang tidak steril dicampur dengan potongan-potongan basidiokarp *Ganoderma* sp. secara merata, kemudian media tanah steril dan tidak steril dimasukkan ke dalam *polybag*. Pada bagian tengah *polybag* yang telah berisi media tanam tersebut dibuat lubang tanam. Kemudian, bibit kelapa sawit yang telah berumur 3 bulan dilepaskan polybagnya dengan hati-hati ditanam dalam lubang tanam pada masing-masing *polybag* sesuai dengan perlakuan. Lubang tanam selanjutnya ditutup dengan media hingga mencapai volume bahan tanam yang diinginkan.

3.4.4 Perawatan tanaman setelah tanaman berumur 3 bulan

Penyiraman tanaman dilakukan setiap pagi dan sore hari. Pemupukan dilakukan setiap dua minggu sekali dengan menggunakan dosis seperti tertera pada Tabel 2. Pengendalian hama dilakukan secara manual.

Tabel 2. Standar pemupukan bibit kelapa sawit pada pembibitan utama.

Umur (minggu)	Dosis pupuk NPK 15:15:15 (g/polybag)
14	1,25
16	1,25
18	2,50
20	2,50

3.4.5 Pengamatan

Penelitian diakhiri setelah bibit berumur 8 bulan (5 bulan setelah perlakuan *Ganoderma* sp.). Untuk menguji kesahihan kerangka pemikiran dan hipotesis, pada akhir penelitian dilakukan pengamatan terhadap peubah-peubah sebagai berikut:

1. Tinggi tanaman (cm). Tinggi bibit kelapa sawit diukur dari pangkal batang sampai ujung daun terpanjang.
2. Jumlah daun (helai). Daun yang dihitung adalah daun yang telah membuka sempurna.
3. Bobot basah tajuk (g). Media dibongkar kemudian tajuk bibit dipisahkan dari media dan dibersihkan lalu ditimbang.
4. Bobot kering tajuk (g). Menimbang tajuk bibit kelapa sawit yang sudah dioven pada suhu 70^0 C selama 48 jam atau sampai bobotnya konstan.
5. Bobot basah akar (g). Akar bibit kelapa sawit dipisahkan dari tajuknya kemudian ditimbang.
6. Bobot kering akar (g). Akar dioven pada suhu $70\ ^0$ C sampai bobotnya konstan, lalu ditimbang.
7. Volume akar (ml). Akar dipisahkan dengan tajuk kemudian akar dimasukkan ke gelas ukur 1 L yang telah diisi air sebanyak 500 ml. Selisih

antara volume akhir dengan volume awal kemudian dicatat sebagai volume akar.

8. Persen infeksi FMA pada akar bibit kelapa sawit (%). Pengamatan dilakukan setelah dilakukan pengambilan data panen. Pengamatan terhadap terjadinya infeksi FMA dilakukan sebagai berikut: Sampel akar diambil sebanyak 20 helai (akar sekunder) dari setiap tanaman, kemudian dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah berisi sampel akar diisi dengan larutan KOH 10% sampai seluruh sampel akar terendam dan dikukus dalam *waterbath* dengan suhu 80 °C selama 15 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Setelah itu larutan KOH dibuang, dan akar dicuci dengan air yang mengalir, kemudian sampel akar direndam kembali dengan larutan HCL 1% dan dikukus lagi dalam *waterbath* dengan suhu 80 °C selama 10 menit. Selanjutnya, larutan HCL dibuang dan akar diwarnai dengan cara 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 *waterbath* dengan suhu 80 °C selama 10 menit. Akar yang sudah diwarnai kemudian disusun di atas preparat untuk diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Pengamatan menggunakan mikroskop majemuk bertujuan untuk mengetahui adanya hifa (untaian benang) diantara lapisan sel korteks tanaman yang terbentuk sebagai tanda terjadinya infeksi mikoriza. Selain itu untuk mengetahui adanya vesikle dan arbuskular dalam akar. Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase infeksi akar oleh FMA adalah sebagai berikut:

$$\text{Infeksi akar (\%)} = \frac{\Sigma \text{ pengamatan yang positif terinfeksi}}{\text{Total pengamatan}} \times 100\%$$

9. Penghitungan persentase infeksi *Ganoderma* sp. pada bibit kelapa sawit (%). Pengamatan dilakukan setelah panen pengambilan data. Pengamatan terhadap terjadinya infeksi *Ganoderma* sp. dilakukan sebagai berikut: Akar dibersihkan dari tanah menggunakan air agar terlihat warna yang jelas pada akar. Pengamatan dilihat dari nekrosis yang terdapat pada setiap akar primer. Nekrosis merupakan matinya organ atau jaringan tanaman akibat patogen yang ditandai dengan adanya warna coklat atau busuk pada akar atau daun. Pengamatan dilakukan secara makroskopik. Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase infeksi akar oleh *Ganoderma* sp. adalah sebagai berikut:

$$\text{Infeksi akar (\%)} = \frac{\Sigma \text{ akar primer yang terinfeksi/nekrosis}}{\Sigma \text{ sampel akar primer yang diamati}} \times 100\%$$