

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Kaca dan Laboratorium Produksi Perkebunan, Universitas Lampung Bandar Lampung dari bulan Februari – Oktober 2011.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah alat tulis, mistar, mikroskop stereo dan majemuk, saringan, cawan petri, gelas preparat, tabung reaksi, water bath, timbangan analitik, botol semprot, pinset, gunting, nampan plastik, cutter, tissue, dan pot.

Bahan-bahan yang diperlukan antara lain 3 jenis fungi mikoriza yaitu jenis *Glomus* sp., *Gigaspora* sp., dan jenis *Entrophospora* sp. deskripsi masing-masing spesies disajikan pada Tabel 3; air; larutan KOH 10%; glycerol trypan blue; HCL 1%; akuades; pupuk SP-36; pupuk Urea; pupuk KCL; tanah; pasir; dan stek tebu (*Saccharum officinarum* L.).

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, perlakuan diterapkan dalam rancangan perlakuan tunggal terstruktur

berkelas dengan 8 perlakuan yaitu m_0 (kontrol), m_1 (*Glomus* sp.), m_2 (*Entrophospora* sp.), m_3 (*Gigaspora* sp.), m_4 (campuran *Glomus* sp. dan *Entrophospora* sp.), m_5 (campuran *Glomus* sp. dan *Gigaspora* sp.), m_6 (campuran *Gigaspora* sp. dan *Entrophospora* sp.), m_7 (campuran *Glomus* sp., *Entrophospora* sp. dan *Gigaspora* sp.). Setiap satu satuan percobaan diterapkan pada petak percobaan menurut rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS). Jumlah tanaman per satuan percobaan adalah satu tanaman. Tata letak percobaan di rumah kaca dapat dilihat pada Gambar 4.

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. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan menggunakan ortogonal kontras pada taraf nyata 5%. Perbandingan ortogonal kontras disajikan pada Tabel 2.

m_2	m_6	m_0	m_6	m_7	m_3	m_1	m_2
m_4	m_7	m_3	m_2	m_5	m_2	m_3	m_6
m_0	m_1	m_7	m_5	m_1	m_6	m_0	m_4
m_5	m_3	m_1	m_4	m_4	m_0	m_5	m_7
Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3		Ulangan 4	
m_4	m_6	m_7	m_2	m_6	m_0		
m_0	m_1	m_5	m_6	m_2	m_5		
m_2	m_3	m_1	m_4	m_3	m_7		
m_7	m_5	m_0	m_3	m_1	m_4		
Ulangan 5		Ulangan 6		Ulangan 7			

Keterangan:

m_0 : Tanpa Mikoriza

m_1 : *Glomus* sp. (G)

m_2 : *Entrophospora* sp. (En)

m_3 : *Gigaspora* sp. (Gi)

m_4 : G+En

m_5 : G+Gi

m_6 : En+Gi

m_7 : G+En+Gi

Gambar 4. Tata letak percobaan dirumah kaca.

Tabel 2. Perbandingan ortogonal kontras.

Perlakuan	m0	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7
P1 :m ₀ vs m ₁ ,m ₂ ,m ₃ ,m ₄ ,m ₅ ,m ₆ ,m ₇	7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
P2 :m ₁ ,m ₂ ,m ₃ vs m ₄ ,m ₅ ,m ₆ ,m ₇	0	4	4	4	-3	-3	-3	-3
P3 : m ₄ ,m ₅ ,m ₆ vs m ₇	0	0	0	0	1	1	1	-3
P4 :m ₁ vs m ₂ ,m ₃	0	2	-1	-1	0	0	0	0
P5 :m ₂ vs m ₃	0	0	1	-1	0	0	0	0
P6 :m ₄ vs m ₅ ,m ₆	0	0	0	0	2	-1	-1	0
P7 :m ₅ vs m ₆	0	0	0	0	0	1	-1	0

Keterangan:

m ₀	: Tanpa Mikoriza	m ₄	: G+En
m ₁	: <i>Glomus</i> sp. (G)	m ₅	: G+Gi
m ₂	: <i>Entrophospora</i> sp. (En)	m ₆	: En+Gi
m ₃	: <i>Gigaspora</i> sp. (Gi)	m ₇	: G+En+Gi

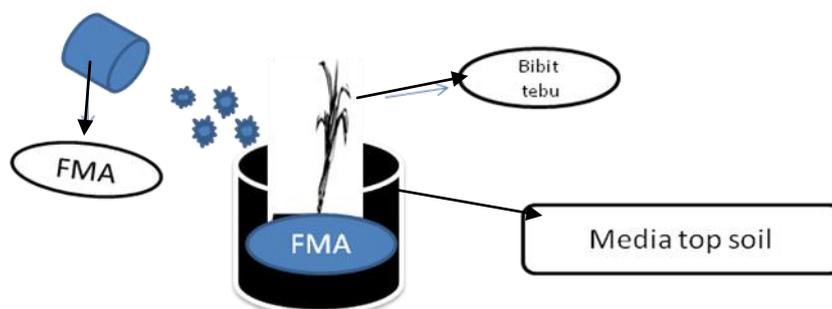
3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Menyiapkan media tanam

Media penyemaian yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan cara dikukus menggunakan dandang selama satu setengah jam dan dilakukan sebanyak dua kali. Media tanam untuk penyemaian yang digunakan terdiri dari pasir, dan bahan organik dengan perbandingan 4:1 kemudian dimasukkan dalam polibag ukuran 10 kg . Stek tebu yang digunakan stek dengan satu mata tunas. Setelah media semai siap, stek yang sudah dipotong ditanam dalam media semai dengan cara mata tunas menghadap keatas dan ditanam sejajar. Media yang digunakan setelah tebu berumur 21 hst adalah top soil tanpa disterilkan yang diaduk rata dan dimasukkan kedalam polibag berukuran 10 kg.

3.4.2 Inokulasi mikoriza dan penanaman

Aplikasi mikoriza dilakukan pada saat tanaman berumur 21 hari setelah tanam. Pada bagian tengah polibag yang telah berisi media top soil dibuat lubang tanam sesuai dengan diameter ± 3 cm dengan kedalaman ± 3 cm dan FMA sesuai perlakuan diaplikasikan sebanyak ± 500 spora dengan cara ditaburkan pada lubang tanam dan pada akar tanaman tebu (Gambar 5) kemudian tebu ditanam dan ditutup dengan media hingga mencapai volume bahan tanam yang diinginkan. Setelah selesai penanaman, dilakukan pelabelan sesuai dengan perlakuan, selanjutnya pot-pot disusun di dalam rumah kaca sesuai dengan tata letak percobaan.



Gambar 5. Proses inokulasi FMA pada bibit tebu berumur 21 hari setelah tanam.

3.4.3 Pemupukan

Pemupukan dilakukan dengan menggunakan pupuk Urea, dengan dosis pupuk 0,7 gram/tanaman; 0,61 gram/tanaman SP-36; dan 1,1 gram/tanaman KCL.

Pemupukan dilakukan setelah tanaman berumur 1 bulan dan dilakukan sekali selama penelitian.

3.4.4 Perawatan tanaman

Perawatan dilakukan dengan cara penyiraman yang dilakukan setiap hari pada waktu pagi dan sore hari. Pengendalian penyakit dilakukan dengan cara manual, dengan cara mengusapkan alkohol yang dibasahi dengan kapas/tissue pada bagian tanaman yang terkena penyakit. Penelitian diakhiri setelah tanaman berumur 5 bulan setelah tanam.

3.5 Pengamatan

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

- (1) Tinggi Tanaman. Tinggi tanaman diukur mulai dari pangkal batang hingga daun tertinggi.
- (2) Bobot basah tajuk. Pengukuran dilakukan dengan menimbang tajuk (batang dan daun) yang baru dipanen dari media sebelum di oven.
- (3) Bobot basah akar. Media dibongkar lalu diambil akarnya, setelah dibersihkan dilakukan penimbangan untuk mengetahui bobot basahnya.
- (4) Bobot kering akar. Mula-mula media dibongkar kemudian akar dipisahkan, dibersihkan, dan dioven pada suhu 70°C sampai bobotnya konstan, kemudian ditimbang.
- (5) Bobot kering tajuk. Bobot kering tajuk (daun dan batang) ditimbang setelah dioven pada suhu 70°C sampai bobotnya konstan.
- (6) Persen infeksi akar oleh FMA. Sampel akar diambil secara acak ± 1 g/sampel kemudian dicuci sampai 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 30 menit pada suhu 80°C untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Larutan KOH kemudian dibuang dan akar dicuci bersih dengan air. Selanjutnya, sampel akar direndam dalam larutan HCL 1% kemudian dikukus lagi 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 lagi 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 % infeksi akar oleh FMA adalah sebagai berikut:

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