

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Kaca dan Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, mulai bulan Maret sampai Mei 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih jagung hibrida, KOH 10%, HCl 10%, *glycerol*, *trypan blue*, pupuk tunggal, pasir, zeolit, air, inokulum FMA (*Glomus* sp. isolat MV 24 yang diperoleh dari Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Unila yang diperbanyak dengan metode kultur pot dengan tanaman inang jagung). Alat yang digunakan adalah polibag, otoklaf, mikroskop majemuk, mikroskop stereo, cawan petri, *counter*, nampan, ember, bak, pinset, *blade*, *water bath*, botol film, jangka sorong, timbangan, penggaris, meteran, kamera dan alat tulis.

3.3 Pelaksanaan Penelitian Daya Infeksi *Glomus* sp. isolat MV 24

Penelitian daya infeksi ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah waktu simpan inokulum FMA *Glomus* sp. isolat MV 24 mempengaruhi daya infeksi FMA.

3.3.1 Rancangan percobaan dan analisis data

Perlakuan diterapkan dalam rancangan perlakuan tunggal tidak terstruktur dengan tiga ulangan. Perlakuan yang diujikan adalah 4 jenis waktu simpan, yaitu 4 bulan (G_1), 22 bulan (G_2), 28 bulan (G_3) dan 34 bulan (G_4) yang setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Tanaman diamati secara destruktif pada minggu ke 2, 3, 4, dan 6 setelah aplikasi, sehingga total satuan percobaan adalah $4 \times 3 \times 4 = 48$ pot. Perlakuan diterapkan dalam satuan percobaan dalam rancangan teracak sempurna (RTS).

Data hasil pengamatan diuji homogenitas dengan uji Bartlett. Data pengamatan dianalisis dengan analisis ragam kemudian, dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 5%.

3.3.2 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah pasir dan zeolit. Sterilisasi pasir dilakukan menggunakan otoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 60 menit sebanyak dua kali. Media tanam zeolit dicuci dengan 5x bilasan untuk menghilangkan serbuk zeolit. Pasir dan zeolit selanjutnya dicampur dengan perbandingan 2 bagian pasir dan 1 bagian zeolit (v:v). Media tanam dimasukkan ke dalam pot dengan volume 450 ml.

3.3.3 Penyemaian Tanaman Inang dan Aplikasi FMA

Penyemaian tanaman inang bertujuan untuk menyiapkan akar tanaman bagi FMA agar FMA dapat langsung menginfeksi akar tanaman inangnya setelah diaplikasikan. Penyemaian tanaman inang dilakukan dengan meletakkan benih di

atas kertas merang yang telah dilembabkan dengan air. Benih jagung disebar di dalam nampan dan dibiarkan selama 3 hari hingga benih jagung berkecambah dan tumbuh akar.

Pengaplikasian FMA dilakukan bersamaan dengan penanaman tanaman inang yang ditanam pada pot ukuran 450 ml yang diletakkan di rumah kaca.

Pengaplikasian dilakukan dengan cara memberikan inokulum FMA yang mengandung sebanyak 300 spora dan meletakkan inokulum ± 3 cm di bawah kecambah jagung pada saat tanam.

3.3.4 Pengamatan

Pengamatan persen infeksi akar dilakukan dengan teknik destruktif sampling yaitu tiga tanaman dibongkar untuk masing-masing perlakuan waktu simpan inokulum FMA pada 2, 3, 4, dan 6 minggu setelah aplikasi (MSA). Untuk menguji kerangka pemikiran maka dilakukan pengamatan persen infeksi akar oleh *Glomus* sp. isolat MV 24.

Pengamatan persen infeksi ini dilakukan dengan metode pewarnaan akar. Akar tanaman jagung yang telah diambil secara destruktif dicuci hingga bersih kemudian akar dipotong dengan panjang ± 2 cm. Akar yang telah dipotong dimasukkan ke dalam botol film dan diberi larutan KOH 10% hingga semua akar terendam. Akar dikukus menggunakan *water bath* selama 15 menit dengan suhu 80°C untuk membersihkan sel dari sitoplasma, larutan KOH dibuang dan akar dicuci kembali di air mengalir dan dimasukkan kembali ke dalam botol film. Akar direndam kembali dengan larutan HCl 1%, dikukus kembali selama ± 5 menit dengan suhu 80°C kemudian HCl dibuang dan akar direndam kembali

dengan larutan *trypan blue* 0,05 (0,5 g *trypan blue*+ 450 ml *glycerol*+ 500 ml aquades + 50 ml HCl 1%) dan dikukus selama 5 menit. Akar yang telah diwarnai, disusun di atas kaca preparat secara teratur. Sampel akar diamati menggunakan mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Jaringan akar yang menampakkan hifa, vesikel dan arbuskul menunjukkan bahwa akar terinfeksi oleh spora FMA *Glomus* sp. isolat MV 24. Persentase infeksi akar dihitung dengan rumus:

$$\text{infeksi akar (\%)} = \frac{\text{jumlah pengamatan yang terinfeksi FMA}}{\text{total pengamatan}} \times 100\%$$

3.4 Pelaksanaan Penelitian Efektifitas FMA *Glomus* sp. isolat MV 24

Penelitian efektifitas ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama waktu simpan FMA *Glomus* sp. isolat MV 24 terhadap efektifitasnya dan menentukan lamanya waktu simpan yang masih efektif dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung dan menentukan lama waktu simpan yang masih memiliki daya infeksi > 50% dan masih efektif dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung.

3.4.1 Rancangan Percobaan dan Analisis Data.

Rancangan perlakuan yang digunakan adalah rancangan perlakuan tunggal tidak terstruktur dengan 4 perlakuan yaitu tanpa mikoriza (G_0), dan 3 jenis waktu simpan. Waktu simpan yang digunakan yaitu 4 bulan (G_1), 22 bulan (G_2), dan 28 bulan (G_3). Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali dan setiap satuan percobaan diwakili oleh 2 tanaman, sehingga total tanaman adalah 40. Perlakuan diterapkan dalam rancangan kelompok teracak sempurna.

Data hasil pengamatan diuji homogenitas dengan Uji Bartlett dan diuji aditifitas dengan Uji Tukey. Data hasil pengamatan juga dianalisis dengan Analisis Ragam pada taraf nyata 5 %, pemisahan nilai tengah dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan 5%.

3.4.2 Persiapan Media Tanam

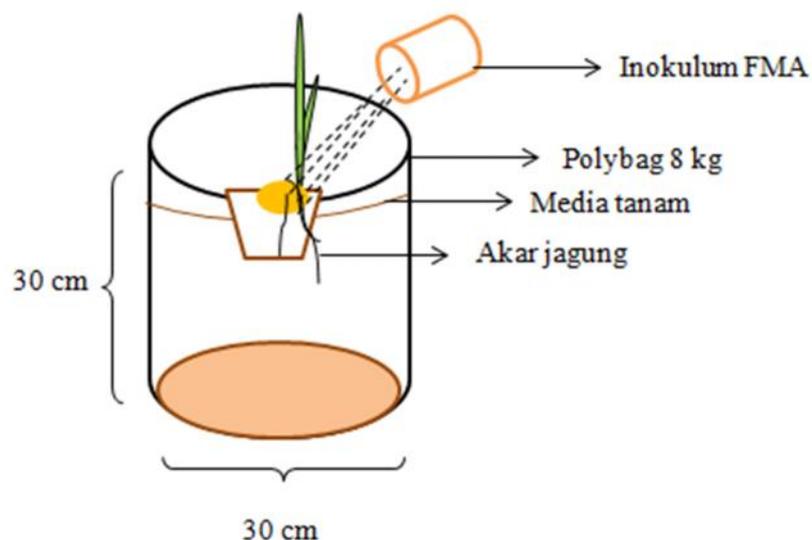
Media tanam yang digunakan adalah pasir dan zeolit yang telah disterilkan. Sterilisasi media tanam pasir dilakukan dengan menggunakan otoklaf dengan suhu 121 °C pada tekanan 1 atm selama 60 menit dilakukan sebanyak 2 kali. Zeolit disterilkan dengan cara dicuci pada air mengalir sebanyak 3-5 kali pencucian. Pasir dan zeolit yang telah diotoklaf dicampurkan dengan perbandingan dua bagian pasir dan satu bagian zeolit (v:v) hingga homogen dan dimasukkan ke dalam polibag berukuran 8 kg.

3.4.3 Penyemaian Tanaman Inang

Tanaman inang yang digunakan pada penelitian ini ialah tanaman jagung. Tanaman inang disemai terlebih dahulu selama 3 hari sebelum tanam. Penyemaian tanaman inang dilakukan dengan meletakkan benih di atas kertas merang yang telah dilembabkan dengan air. Benih jagung disebar di dalam nampan dan dibiarkan selama 3 hari hingga benih jagung berkecambah dan tumbuh akar. Tujuan dilakukannya penyemaian ini ialah untuk menyediakan akar tanaman bagi FMA sehingga ketika FMA mulai berkecambah telah tersedia akar muda yang segera dapat diinfeksi oleh FMA.

3.4.4 Pengaplikasian FMA

Pengaplikasian FMA dilakukan bersamaan dengan penanaman tanaman inang yang ditanam pada pot yang diletakkan di rumah kaca. Pengaplikasian dilakukan dengan cara inokulum FMA dimasukkan kedalam polibag yang telah berisi media tanam yang berupa pasir dan zeolit seberat 8 kg/polibag. Langkah pertama yang dilakukan ialah membuat lubang tanam dengan diameter $\pm 5-10$ cm, inokulum dimasukkan ke dalam lubang tanam yang mengandung sebanyak 300 spora, setelah itu lubang tanam ditutup kembali dengan media tanam setebal 2-3 cm, benih yang telah berkecambah diletakkan di atas inokulum yang telah ditutup, kemudian kecambah ditutup kembali dengan media tanam.



Gambar 2. Cara pengaplikasian spora FMA pada penelitian daya infeksi dan efektifitas *Glomus* sp. isolat MV 24 pada tanaman inang jagung.

3.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan yang dilakukan selama penelitian ini ialah penyiraman yang dilakukan sehari satu kali dengan menggunakan gembor. Dilakukan juga penyiangan gulma secara manual dengan cara mencabut gulma yang tumbuh pada permukaan media tanam pada polibag. Pengendalian hama dan penyakit tanaman juga dilakukan secara manual. Selain itu, dilakukan juga pemupukan dengan menggunakan pupuk tunggal Urea, SP36 dan KCl dengan takaran yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Takaran dan waktu pemberian pupuk pada tanaman menggunakan pupuk tunggal urea, SP36, dan KCl.

Waktu Pemberian	Urea (g/polibag)	SP36 (g/polibag)	KCl (g/polibag)
0-7 HST	1	1,2	1,2
30 – 35 HST	1	-	-
45 – 50 HST	1	-	-

Keterangan :
HST : Hari Setelah Tanam

3.6 Pengamatan

Untuk menguji kerangka pemikiran dan hipotesis, maka dilakukan pengamatan pada beberapa variabel yang dilakukan 2 minggu sekali dan di akhir penelitian yaitu 6 minggu setelah aplikasi spora FMA. Variabel yang diamati ialah:

3.6.1 Pengamatan infeksi akar

Pengamatan infeksi dilakukan pada 20 lembar akar yang diambil secara acak.

Metode penyiapan dan pengamatan persen infeksi akar sama dengan penelitian daya infeksi (hal 17-18).

3.6.2 Pertumbuhan Tanaman

Pengamatan pertumbuhan tanaman dilakukan pada beberapa variabel berikut:

a. Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman diukur dari permukaan media tanam sampai ujung daun terpanjang. Pengukuran dilakukan menggunakan meteran dengan satuan cm. Pengukuran tinggi tanaman dimulai setelah tanaman jagung berumur 2, 4, dan 6 MSA.

b. Jumlah Daun

Pengamatan jumlah daun tanaman dilakukan pada 2, 4, dan 6 minggu setelah aplikasi (MSA). Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah daun tanaman.

c. Bobot Segar Tajuk

Pengamatan bobot segar tajuk dilakukan pada akhir penelitian yaitu umur 6 MSA dengan cara seluruh tajuk pada tanaman jagung dipotong, lalu ditimbang dengan timbangan digital dalam satuan gram. Bagian tajuk adalah organ tanaman yang tumbuh ke atas, dimulai dari pangkal batang hingga ujung daun.

d. Bobot Kering Tajuk

Seluruh tajuk tanaman jagung yang telah dipotong, dikeringkan menggunakan oven. Tajuk dikeringkan hingga bobotnya konstan pada suhu 80 °C. Setelah bobot konstan, tajuk ditimbang menggunakan timbangan digital dalam satuan gram.

e. Bobot Basah Akar

Seluruh akar pada tanaman jagung dipotong dan dibersihkan lalu ditimbang bobotnya menggunakan timbangan digital dalam satuan gram.

f. Bobot Kering Akar

Seluruh akar yang telah dipotong dikeringkan menggunakan oven pada suhu 80 °C. Setelah bobot akar konstan, lalu ditimbang menggunakan timbangan digital dalam satuan gram. Akar tanaman dipotong dari titik tumbuh akar pada pangkal batang.

g. Diameter Batang

Diameter batang diukur dengan jangka sorong. Pengukuran dilakukan pada bagian batang tanaman jagung yang berjarak 10 cm dari pangkal batang.