

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian


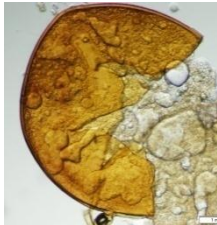
Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Produksi Perkebunan dan rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari Februari hingga April 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih jagung, larutan KOH 10%, HCl 1%, *glycerol*, *trypan blue*, pupuk majemuk, pasir, zeolit, air, akuades dan inokulum FMA *Gigaspora* sp. isolat MV 17 yang diperoleh dari Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Lampung. Deskripsi dari inokulum FMA *Gigaspora* sp. isolat MV 17 terdapat pada Tabel 1.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, autoklaf, blade, oven, mikroskop majemuk, mikroskop stereo, saringan (ukuran 500 μm , 250 μm , dan 45 μm), botol film, *water bath*, *cutter*, nampan, spatula, tissue, cawan petri, plastik, timbangan, bak, pinset, pot, polibag, kamera, dan alat tulis.

Tabel 1. Deskripsi inokulum FMA *Gigaspora* sp. isolat MV 17.

No	Rincian	Keterangan
1	Spesies	<i>Gigaspora</i> sp.3
2	Bentuk	Bulat-tidak beraturan
3	Ukuran	Besar, > 350 μm
4	Warna	Kuning
5	Sporocarp (S) dan Sporiferous saccule (SS)	S: Tidak ada; SS: Tidak ada
6	Spora di dalam/di luar akar atau keduanya	Di luar akar
7	Cara subtending hifa melekat ke dinding spora	Bersekat
8	Bulbose suspensor (BS) dan Auxiliary cells (AC)	BS: Ada; AC: Ada
9	Germination Shield	Tidak ada
10	Reaksi terhadap Melzer	Positif
11	Media Perbanyakan	Pasir dan zeolit
12	Tanaman inang	Setaria dan Jagung
13	Asal	Glundengan Jember, Jawa Timur
14	Gambar spora dalam PVLG dan Melzer	 

Sumber: Laporan akhir penelitian (Rini, 2012).

3.3 Pelaksanaan Penelitian Daya Infeksi *Gigaspora* sp.

Penelitian daya infeksi bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan FMA *Gigaspora* sp. terhadap daya infeksi pada akar tanaman jagung.

3.3.1 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

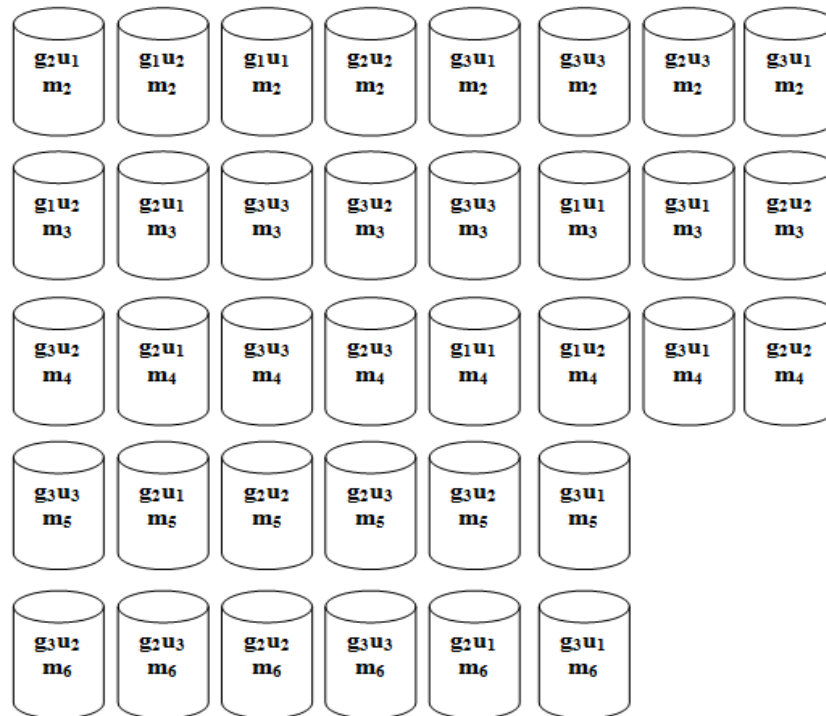
Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan perlakuan tunggal tidak terstruktur yang terdiri dari 3 perlakuan dengan 3 ulangan. Perlakuan terdiri dari waktu simpan FMA 0 bulan (g_1), 6 bulan (g_2), dan 22 bulan (g_3). Perlakuan diterapkan pada petak percobaan dalam rancangan acak lengkap (RAL). Tanaman disampling secara destruktif pada 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 minggu setelah aplikasi FMA *Gigaspora* sp., dan dilakukan pengamatan. Pada perlakuan waktu simpan FMA 0 bulan hanya dilakukan sampling sampai minggu ke 4 dengan 2 ulangan karena terkendala jumlah inokulum. Total satuan percobaan setiap minggunya ada 8 tanaman kecuali minggu ke 5 dan 6.

Data yang dihasilkan diuji homogenitasnya dengan uji Bartlett, selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5%.

3.3.2 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah pasir dan zeolit. Sterilisasi pasir dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada 1 atm selama 60 menit sebanyak dua kali. Media tanam zeolit cukup dicuci untuk menghilangkan serbuknya. Pasir dan zeolit dicampurkan dengan perbandingan 2:1 berdasarkan volume.

Kemudian, media tanam dimasukkan kedalam pot berukuran 450 ml. Pot tersebut diletakkan di rumah kaca dengan tata letak seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Tata letak penelitian daya infeksi FMA *Gigaspora* sp. di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Keterangan:

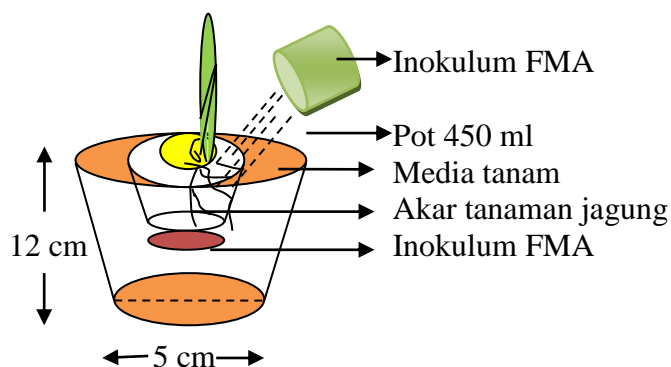
g_1 = Waktu simpan 0 bulan
 g_2 = Waktu simpan 6 bulan
 g_3 = Waktu simpan 22 bulan

u_x = Ulangan ke-
 m_x = Minggu ke-

3.3.3 *Penyiapan Tanaman Inang dan Aplikasi FMA*

Penyemaian tanaman inang bertujuan untuk mempersiapkan akar tanaman sebagai inang mikoriza agar mikoriza dapat langsung menginfeksi akar setelah diaplikasikan. Penyemaian tanaman inang menggunakan nampan yang dialas dengan kertas merang yang sudah dilembabkan dengan air. Benih jagung disusun di atas kertas merang dan dibiarkan selama 3 hari hingga berkecambah.

Pengaplikasian FMA dilakukan bersamaan dengan penanaman tanaman inang yang ditanam pada pot 450 ml yang diletakkan di rumah kaca. Pengaplikasian dilakukan dengan cara memberikan inokulum FMA yang mengandung 300 spora dengan cara meletakkan inokulum \pm 3 cm dibawah kecambah jagung (Gambar 3).



Gambar 3. Aplikasi mikoriza *Gigaspora* sp. pada kecambah jagung di pot.

3.3.4 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman bertujuan agar tanaman dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Kegiatan pemeliharaan tanaman mencakup penyiraman, pemupukan, pengendalian gulma, serta pengendalian hama dan penyakit tanaman.

1. Penyiraman

Penyiraman dilakukan pada pagi hari dengan 50 ml air/pot.

2. Pemupukan

Aplikasi pupuk dilakukan dua kali yaitu pupuk urea dan pupuk NPK. Aplikasi urea dilakukan pada 7 dan 14 hari setelah tanam dengan konsentrasi 2 g/l yang diberikan secara merata untuk setiap tanaman sebanyak 10 ml/pot. Aplikasi NPK

dilakukan 30 hari setelah tanam dengan konsentrasi 2 g/500ml yang diberikan secara merata pada setiap tanaman sebanyak 42 ml/pot.

3. Pengendalian gulma

Pengendalian gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang tumbuh di permukaan media tanam pada pot.

4. Pengendalian hama dan penyakit tanaman

Pengendalian hama dan penyakit tanaman dilakukan secara manual pada tanaman yang terserang. Penyakit yang menyerang tanaman jagung adalah hawar daun. Hawar daun ini dikendalikan dengan membersihkan daun jagung yang terserang jamur dengan alkohol 10%.

3.3.5 Pengamatan Daya Infeksi FMA *Gigaspora* sp.

Pengamatan dilakukan dengan teknik destruktif yakni tanaman dibongkar pada 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 minggu setelah aplikasi (msa) FMA. Pengamatan bertujuan untuk menjawab rumusan masalah dan menguji hipotesis, yaitu dengan dilakukan pengamatan persen infeksi akar oleh FMA.

1. Persen infeksi akar oleh FMA

Pengamatan persen infeksi dilakukan dengan cara pembongkaran media tanam untuk mengambil akar tanaman jagung (inang), diproses, dan diamati menggunakan mikroskop di laboratorium.

Untuk melihat infeksi akar oleh FMA dilakukan dengan metode pewarnaan akar. Seluruh akar tanaman jagung dicuci sampai bersih. Akar-akar tersebut dipotong

sepanjang 2 cm, kemudian dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah terisi sampel akar diisi dengan larutan KOH 10% sampai seluruh akar terendam dan dikukus dalam *water bath* dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma, kemudian larutan KOH dibuang dan akar dicuci kembali dengan air. Selanjutnya, akar dikukus dalam larutan HCl 1% selama ± 5 menit. larutan HCl dibuang dan akar siap untuk diwarnai dengan merendamnya dalam 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. Setelah akar diwarnai, akar disusun di atas kaca preparat secara teratur. Sampel akar diamati menggunakan mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Pada jaringan akar akan terlihat adanya tanda infeksi mikoriza dengan struktur pembentuknya (hifa dan arbuskular). Persen infeksi akar oleh FMA dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Tingkat infeksi pada akar diklasifikasikan menurut The Institute of Mycorrhizal Research and Development, USDA Forest Service, Athens, Georgia (Setiadi, 1992) sebagai berikut :

1. Kelas 1 bila infeksi FMA sebesar 0% – 5% tergolong sangat rendah
2. Kelas 2 bila infeksi FMA sebesar 6% – 25% tergolong rendah
3. Kelas 3 bila infeksi FMA sebesar 26% – 50% tergolong sedang
4. Kelas 4 bila infeksi FMA sebesar 51% – 75% tergolong tinggi
5. Kelas 5 bila infeksi FMA sebesar 76% – 100% tergolong sangat tinggi

3.4 Pelaksanaan Penelitian Efektivitas FMA *Gigaspora* sp.

Penelitian efektivitas bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan FMA *Gigaspora* sp. terhadap efektivitasnya, serta menentukan lama penyimpanan yang masih memiliki daya infeksi $\geq 50\%$ dan masih efektif meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung.

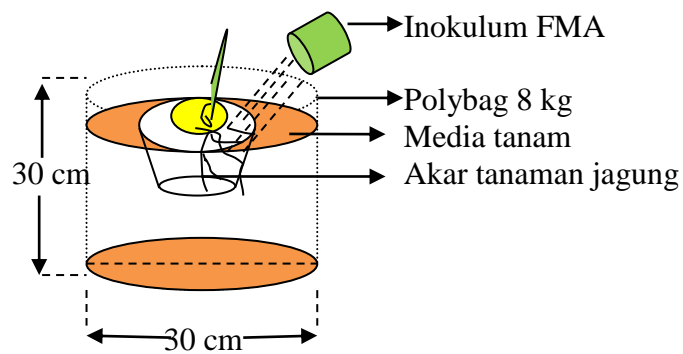
3.4.1 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan perlakuan tunggal tidak terstruktur yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 kelompok. Perlakuan terdiri dari tanpa FMA (g_0), waktu simpan FMA 0 bulan (g_1), 6 bulan (g_2), 12 bulan (g_3), dan 22 bulan (g_4). Setiap perlakuan diwakili oleh dua tanaman.

Perlakuan diterapkan pada satuan percobaan dalam rancangan acak kelompok (RAK). Kesamaan ragam antar perlakuan diuji dengan uji Barlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tukey. Jika asumsi terpenuhi (ragam homogen dan data bersifat menambah), data dianalisis ragam dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4.2 Persiapan Media Tanam

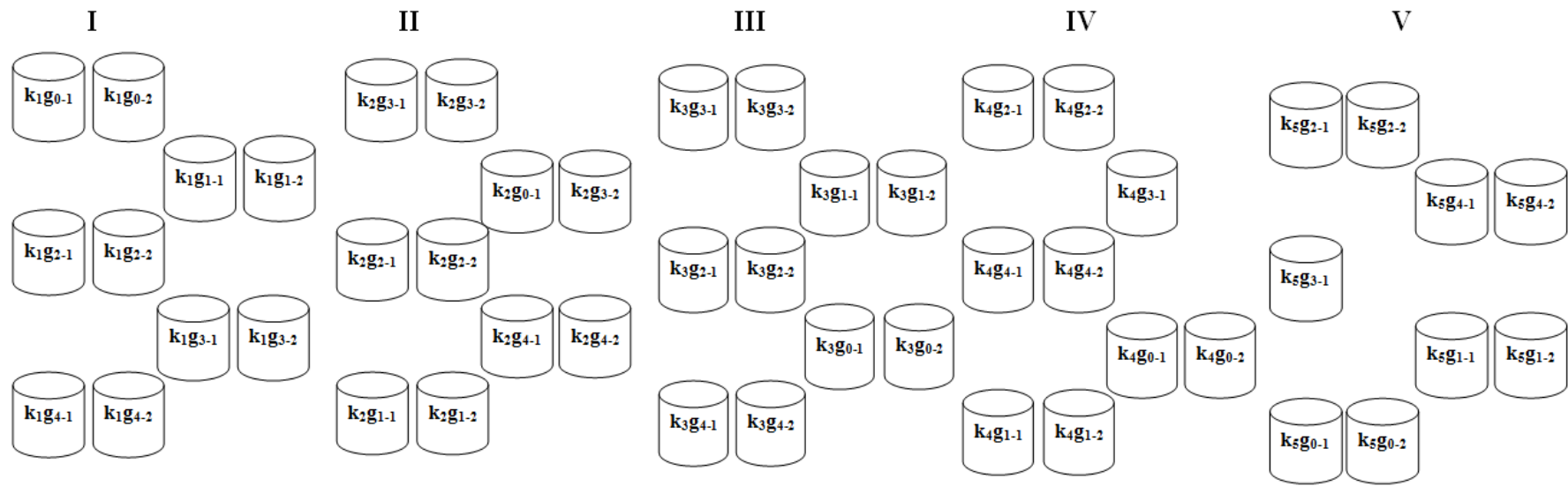
Persiapan media tanam sama seperti penelitian daya infeksi FMA *Gigaspora* sp. (halaman 22), hanya saja media tanam dimasukkan ke dalam polybag berukuran 8 kg/polybag (Gambar 4). Polybag tersebut diletakkan dirumah kaca dengan tata letak seperti pada Gambar 5.



Gambar 4. Aplikasi mikoriza *Gigaspora* sp. pada kecambah jagung di polybag.

3.4.3 Penyiapan Tanaman Inang dan Aplikasi FMA

Penyemaian tanaman inang dan aplikasi FMA sama seperti pada penelitian daya infeksi pada bagian 3.3.3 (halaman 18).



Gambar 5. Tata letak penelitian efektivitas FMA *Gigaspora* sp. di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Keterangan:

g₁ = Waktu simpan 0 bulan

g₂ = Waktu simpan 6 bulan

g₃ = Waktu simpan 12 bulan

g₄ = Waktu simpan 22 bulan

k_x = Kelompok ke-x (x = 1, 2, 3, 4, dan 5)

3.4.4 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman sama seperti penelitian daya infeksi FMA *Gigaspora* sp. pada bagian 3.3.4 (halaman 25), hanya saja penyiraman dilakukan secara bertahap yaitu pada 2 minggu pertama air disiramkan sebanyak 250 ml, pada minggu ke 3 sampai 4 setelah aplikasi sebanyak 500 ml, dan pada minggu ke 5 sampai 6 setelah aplikasi air disiramkan sebanyak 800 ml. Pupuk yang diberikan menggunakan pupuk tunggal dengan takaran seperti tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Takaran dan waktu pemberian pupuk Urea, SP36, dan KCI pada tanaman jagung.

Waktu Pemberian (hari setelah tanam)	Urea (g/polybag)	SP36 (g/polybag)	KCI (g/polybag)
0 – 7	1	2	1,2
30 – 35	1	-	-
45 – 50	1	-	-

3.4.5 Pengamatan Efektivitas FMA *Gigaspora* sp.

Pengamatan dilakukan setelah fase vegetatif berhenti yang dicirikan dengan munculnya bunga jantan, kecuali untuk tinggi tanaman dan jumlah daun. Untuk menjawab rumusan masalah dan menguji hipotesis, maka dilakukan pengamatan pada variabel sebagai berikut:

1. Tinggi Tanaman.

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan pada 2, 4, 6 dan 8 minggu setelah aplikasi (MSA). Pengamatan dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman dari pangkal batang hingga daun terpanjang.

2. Jumlah Daun Tanaman.

Pengamatan jumlah daun tanaman dilakukan pada 2, 4, 6 dan 8 minggu setelah aplikasi (MSA). Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah daun tanaman.

3. Diameter Batang.

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

4. Bobot Segar Akar.

Pengamatan bobot segar akar dilakukan setelah bunga jantan muncul.

Pengamatan bobot segar akar dilakukan dengan cara membongkar media dalam polybag. Seluruh akar tanaman jagung kemudian dipisahkan dari media untuk diukur beratnya menggunakan timbangan digital dengan satuan gram.

5. Bobot Kering Akar.

Seluruh akar tanaman jagung dipisahkan dari tajuk kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C sampai bobotnya konstan (1 minggu). Setelah bobot akar konstan, akar ditimbang dengan timbangan digital dengan satuan gram.

6. Bobot Segar Tajuk.

Pengamatan bobot segar tajuk dilakukan dengan memotong pangkal batang tanaman. Tajuk tanaman ditimbang menggunakan timbangan digital dengan satuan gram.

7. Bobot Kering Tajuk.

Pengamatan ini dilakukan dengan cara menimbang tajuk yang sudah kering oven (80 °C) dengan menggunakan timbangan digital dengan satuan gram.

8. Persen infeksi akar oleh FMA *Gigaspora* sp.

Metode yang digunakan untuk mengamatai infeksi sama dengan penelitian daya infeksi (halaman, 22). Namun, pada penelitian efektivitas menggunakan sampel akar. Sampel akar diambil secara acak ± 1 g sampel⁻¹.