

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Percobaan ini dilaksanakan di Rumah Kaca dan Laboratorium Produksi Tanaman Perkebunan Fakultas Pertanian, Unila dari Bulan Desember 2014 sampai Maret 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikroskop stereo dan majemuk, kaca preparat, cawan petri, pinset spora, timbangan elektrik, oven listrik, *cover glass*, dan saringan mikro (ukuran 250 μm , 150 μm dan 45 μm).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini anatara lain inokulum FMA campuran jenis *Glomus* sp., *Gigaspora* sp. dan *Entrophospora* sp. yang didapatkan dari Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian, Unila, vermikulit yaitu kelompok silikat atau *phyllosilikat* ($\text{Mg}_{1.8}\text{Fe}^{2+}_{0.9}\text{Al}_{4.3}\text{SiO}_{10}(\text{OH})_2 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$) yang bertekstur kasar serta memiliki Kapasitas Tukar Kation (KTK) yang rendah (Tabel hasil analisis terlampir), pasir, air, larutan aquadest, pupuk NPK, larutan KOH 10%, HCl 1%, *glycerol* dan *trypan blue* 0,05%.

3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam rumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, penelitian ini menggunakan rancangan perlakuan faktorial (2x6) dengan 5 ulangan. Faktor pertama adalah jenis tanaman inang (T) yaitu jagung (*Zea mays* L.) (t₁) dan kudzu (*Pueraria javanica*) (t₂). Sedangkan faktor kedua adalah kombinasi media tanam yaitu vermikulit dan pasir (M) dengan menggunakan perbandingan volume seperti yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Perlakuan media tanam yang terdiri dari enam perbandingan volume (^v/_v) pasir dan vermikulit.

Perlakuan	Kombinasi Media Tanam (^v / _v)	
	% Pasir	% Vermikulit
m ₁	0	100
m ₂	20	80
m ₃	40	60
m ₄	60	40
m ₅	80	20
m ₆	100	0

Setiap satuan percobaan diterapkan pada petak percobaan menurut Rancangan Kelompok Teracak Sempurna (RKTS). Kehomogenan ragam antarperlakuan diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan model diuji dengan uji Tukey. Data yang telah homogen di uji kembali dengan uji F. Jika hasil sidik ragam menunjukkan perbedaan yang nyata maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Media Tanam

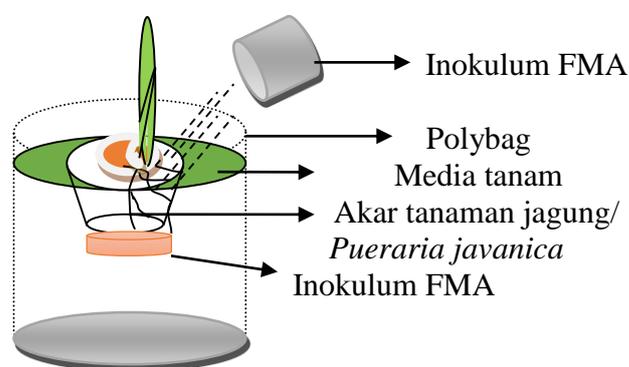
Media tanam yang digunakan sesuai dengan perlakuan yaitu vermikulit dan pasir. Sebelum dimasukkan ke dalam pot, pasir disterilkan terlebih dahulu. Pasir disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama ± 1 jam sebanyak 2 kali dengan selang 1 hari. Untuk vermikulit tidak perlu di sterilkan. Pasir yang telah disterilkan lalu dicuci sampai bersih dengan air kran kemudian dicampur dengan vermikulit dan dimasukkan ke dalam pot berukuran 3 liter sebanyak 60 pot dengan komposisi sesuai perlakuan yang menggunakan perbandingan volume media. Adapun kombinasi masing-masing media tanam pasir dan vermikulit yaitu menyesuaikan kombinasi perlakuan yang telah dibuat.

3.4.2 Penanaman dan Inokulasi Mikoriza

Benih jagung dan kudzu dikecambahkan selama 3 hari dengan cara kedua benih disterilisasi dengan merendam benih dalam larutan fungisida *chlorox* 5% selama 5-10 menit sebelum disemai dalam cawan petri yang telah dilapisi dengan kertas merang yang lembab. Hal ini dilakukan dengan tujuan agar ketika tanaman inang ditanam, tanaman sudah memiliki akar, sehingga peluang terjadinya infeksi meningkat.

Fungi Mikoriza Arbuskular yang digunakan adalah campuran *Glomus* sp., *Gigaspora* sp. dan *Entrophospora* sp. Aplikasi FMA dilakukan pada saat penanaman kecambah tanaman inang. Pada bagian tengah pot yang telah berisi media tanam (sesuai perlakuan) dibuat lubang dengan diameter ± 5 cm dengan kedalaman ± 10 cm, lalu pada lubang tersebut dimasukkan inokulum FMA

sebanyak 32 g/pot yang mengandung 500 spora, kemudian lubang ditutup dengan media tanam setinggi ± 2 cm. Selanjutnya, kecambah tanaman inang yang akan ditanam (sesuai dengan perlakuan) diletakkan di atas campuran tersebut, kemudian kecambah ditutup kembali dengan media tanam sehingga mencapai volume bahan tanam yang diinginkan. Cara inokulasi FMA dan penanaman tanaman disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Cara inokulasi spora FMA dan penanaman tanaman inang.

Setelah selesai penanaman dan pelabelan perlakuan, pot-pot disusun di atas meja dalam rumah kaca mengikuti Rancangan Kelompok Teracak Sempurna (RKTS) dan dipelihara sampai berumur 3 bulan. Tata letak percobaan dapat dilihat pada Gambar 4.

I	t ₁ m ₂	t ₂ m ₁	t ₂ m ₂	t ₁ m ₅	t ₂ m ₄	t ₂ m ₃	t ₁ m ₄	t ₂ m ₅	t ₁ m ₁	t ₂ m ₆	t ₁ m ₃	t ₁ m ₆
II	t ₂ m ₃	t ₁ m ₄	t ₂ m ₂	t ₂ m ₁	t ₁ m ₆	t ₂ m ₄	t ₁ m ₅	t ₁ m ₂	t ₁ m ₁	t ₂ m ₆	t ₂ m ₅	t ₁ m ₃
III	t ₁ m ₁	t ₁ m ₂	t ₂ m ₆	t ₂ m ₄	t ₂ m ₃	t ₂ m ₁	t ₁ m ₃	t ₁ m ₄	t ₂ m ₂	t ₁ m ₆	t ₁ m ₅	t ₂ m ₅
IV	t ₁ m ₆	t ₂ m ₁	t ₂ m ₃	t ₂ m ₂	t ₂ m ₄	t ₁ m ₂	t ₁ m ₅	t ₁ m ₄	t ₂ m ₅	t ₁ m ₁	t ₁ m ₃	t ₂ m ₆
V	t ₂ m ₂	t ₂ m ₁	t ₁ m ₅	t ₁ m ₂	t ₂ m ₄	t ₁ m ₄	t ₂ m ₃	t ₁ m ₁	t ₂ m ₅	t ₂ m ₆	t ₁ m ₆	t ₁ m ₃

Keterangan :

t₁ =tanaman inang jagung (*Zea mays* L.)

t₂= tanaman inang kudzu (*Pueraria javanica* Benth.)

m₁=media tanam 0% pasir dan 100% vermikulit

m₂=media tanam 20% pasir dan 80% vermikulit

m₃=media tanam 40% pasir dan 60% vermikulit

m₄=media tanam 60% pasir dan 40% vermikulit

m₅=media tanam 80% pasir dan 20% vermikulit

m₆=media tanam 100% pasir dan 0% vermikulit

Gambar 4. Tata letak tanaman dan media tanam (vermikulit dan pasir) di rumah kaca.

3.4.3 Pemeliharaan

Selama pemeliharaan tanaman (3 bulan) di rumah kaca dilakukan pemupukan, penyiraman, dan penyiangan gulma. Pupuk yang digunakan adalah pupuk urea yang diberikan 2 minggu setelah tanam dengan konsentrasi 2 g/l dan diberikan sebanyak 50 ml/pot dan pupuk NPK (15:15:15) dengan dosis 1 g/pot yang diberikan pada saat tanaman berumur satu bulan dengan cara ditaburkan mengelilingi tanaman inang. Penyiraman dilakukan setiap pagi dan sore hari dan setiap pot memperoleh volume air yang sama yaitu rata-rata sebanyak ± 250 ml.

Pengendalian gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang tumbuh di dalam pot.

3.5 Pengamatan

Pemanenan dilaksanakan setelah tanaman berumur ± 90 hari yaitu mulai dua minggu sebelum panen, tanaman tidak disiram dengan tujuan untuk merangsang sporulasi FMA (hifa menghasilkan spora) karena tanaman dalam kondisi cekaman air. Tanaman inang dipanen dengan cara membongkar pot dan bagian akar diambil untuk menentukan bobot kering dan persen infeksi. Bagian tajuk tanaman diambil untuk menentukan berat kering tajuk. Sedangkan media tanam diaduk secara merata kemudian diambil 25 ml untuk menghitung jumlah spora. Peubah yang diamati adalah sebagai berikut :

3.5.1 Jumlah spora

Perhitungan jumlah spora dilakukan dengan metode penyaringan basah (Brudrett *et al.*, 1996). Sampel media tanam sebanyak 25 ml diambil secara acak dari media tanam yang sudah diaduk secara homogen lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur 1 liter, kemudian ditambahkan air keran sebanyak lebih kurang 500 ml, setelah itu diaduk supaya spora yang tertahan dalam partikel vermikulit dan pasir lepas dan mengambang di dalam larutan. Larutan selanjutnya dituangkan ke saringan mikro dengan ukuran 250 μm , 150 μm dan 45 μm (yang disusun secara bertingkat dengan ukuran besar di atas). Hal yang sama dilakukan sebanyak 5 kali supaya semua spora yang ada dalam sampel mengambang di dalam larutan. Spora-spora yang tertahan pada masing-masing saringan kemudian dipindahkan

ke dalam cawan petri dan spora selanjutnya dihitung secara manual dengan bantuan mikroskop stereo. Unit atau satuan yang digunakan dalam pengukuran jumlah spora ini adalah menggunakan satu mililiter (ml), karena melihat dari berat jenis pada masing-masing media tanaman yang berbeda yaitu media vermikulit memiliki berat jenis jauh lebih ringan daripada pasir.

3.5.2 *Persen infeksi akar oleh FMA*

Sampel akar diambil secara acak ± 3 g/sampel kemudian dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Secara ringkas, akar dibersihkan dari sitoplasma dengan larutan KOH 10%, kemudian diasamkan dengan larutan HCl 1% dan selanjutnya diwarnai dengan *trypan blue* 0,05% (0,5 gram *trypan blue* dalam 450 ml *glycerol* + 50 ml HCl 1% + 500 ml aquades) dan akar dikukus lagi selama 5-10 menit pada suhu 80 °C. Akar yang sudah diwarnai dipotong-potong sepanjang ± 2 cm, disusun di atas gelas preparat sebanyak 15 lembar, kemudian diamati dibawah mikroskop majemuk untuk melihat bagian-bagian FMA dalam akar (Rini dan Rozalinda, 2010). Penghitungan infeksi akar dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Infeksi FMA} = \frac{\text{Jumlah segmen akar yang terinfeksi FMA}}{\text{Total segmen akar yang diamati}} \times 100\%$$

3.5.3 Bobot kering akar

Tanaman mula-mula dibongkar, akar kemudian dipisahkan dari tajuk dan dibersihkan, dioven pada suhu 70° C selama satu minggu hingga bobotnya konstan, kemudian ditimbang.

3.5.4 Bobot kering tajuk

Bobot kering tajuk (daun dan batang) ditimbang setelah dioven pada suhu 70° C selama 10 hari hingga bobotnya konstan.