

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Lapang Terpadu Universitas Lampung pada September 2014 sampai Januari 2015. Identifikasi jumlah spora FMA dan persen infeksi akar oleh FMA dilakukan di Laboratorium Produksi Perkebunan, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih jagung Bisi 18, biochar sekam padi, pupuk Organonitrofos, pupuk urea, SP-36, KCl, serta bahan-bahan kimia untuk identifikasi jumlah spora dan persen infeksi akar oleh FMA (larutan KOH 10%, larutan HCl 2%, larutan gliserin 86%, *Trypan Blue* 0,05%, larutan melzer (larutkan 100 g *Chloral hydrate*, 1,5 g Iodine, dan 5 g KI (*potassium iodine*) dilarutkan dengan 100 ml *distilled water*), air, aquades, sampel tanah, dan akar tanaman).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini untuk pengambilan contoh tanah di lapang adalah bor tanah, cangkul, alat untuk mengukur *soil temperature*, kantong plastik, dan alat tulis. Alat-alat yang digunakan di laboratorium adalah saringan mikro bertingkat (250 μm , 150 μm dan 45 μm), botol film, gelas beker, cawan

petri, *waterbath*, botol semprot, mikroskop, pinset mikro, cover glass, saringan, kaca preparat, dan skapel.

3.3 Metode Penelitian

Rancangan perlakuan yang digunakan adalah rancangan faktorial yang diterapkan pada satuan percobaan menurut Rancangan Acak Kelompok (RAK)

Faktor pertama adalah kombinasi pupuk organonitrofos dan pupuk kimia dengan 5 level:

- P_0 = Tanpa pupuk (kontrol)
- P_1 = 100% pupuk kimia (600 kg Urea ha^{-1} , 250 kg SP-36 ha^{-1} dan 200 kg KCl ha^{-1}) + 0% pupuk Organonitrofos
- P_2 = 75% pupuk kimia (450 kg Urea ha^{-1} , 187,5 kg SP-36 ha^{-1} dan 150 kg KCl ha^{-1}) + 25% pupuk Organonitrofos (1.250 kg ha^{-1})
- P_3 = 50% pupuk kimia (300 kg Urea ha^{-1} , 125 kg SP-36 ha^{-1} dan 100 kg KCl ha^{-1}) + 50% pupuk Organonitrofos (2.500 kg ha^{-1})
- P_4 = 25% pupuk kimia (150 kg Urea ha^{-1} , 62,5 kg SP-36 ha^{-1} dan 50 kg KCl ha^{-1}) + 75% pupuk Organonitrofos (3.750 kg ha^{-1})
- P_5 = 0 % pupuk kimia+ 100% pupuk Organonitrofos (5.000 kg ha^{-1})

Faktor kedua adalah penambahan biochar dengan 2 level:

- B_0 = 0% biochar (0 kg ha^{-1})
- B_1 = 100% biochar (5.000 kg ha^{-1})

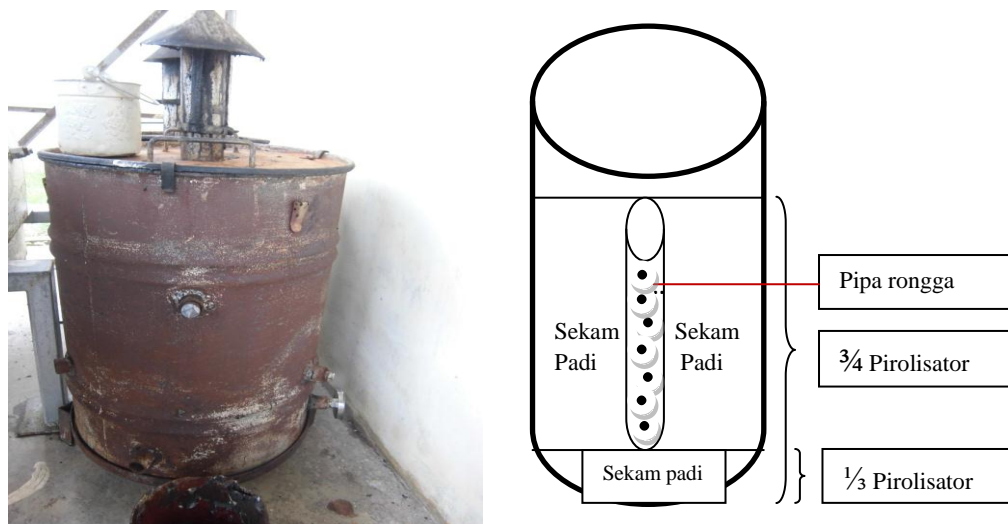
Dari dua faktor tersebut diperoleh 12 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali. Homogenitas ragam data yang diperoleh diuji dengan Uji Bartlet dan

aditivitas data diuji dengan Uji Tukey. Jika asumsi terpenuhi (dengan antar perlakuan homogen dan data bersifat menambah) maka data dianalisis dengan sidik ragam. Perbedaan nilai tengah perlakuan, diuji dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Untuk mengetahui hubungan jumlah spora FMA dan persen infeksi FMA dengan sifat tanah dilakukan uji korelasi.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyiapan Biochar

Biochar yang digunakan berasal dari sekam padi. Pembuatan biochar dilaksanakan di Kebun Percobaan Taman Bogo, Lampung Timur. Biochar dihasilkan melalui proses pirolisis arang sekam. Pembakaran biochar menggunakan pirolisator (Gambar 2).

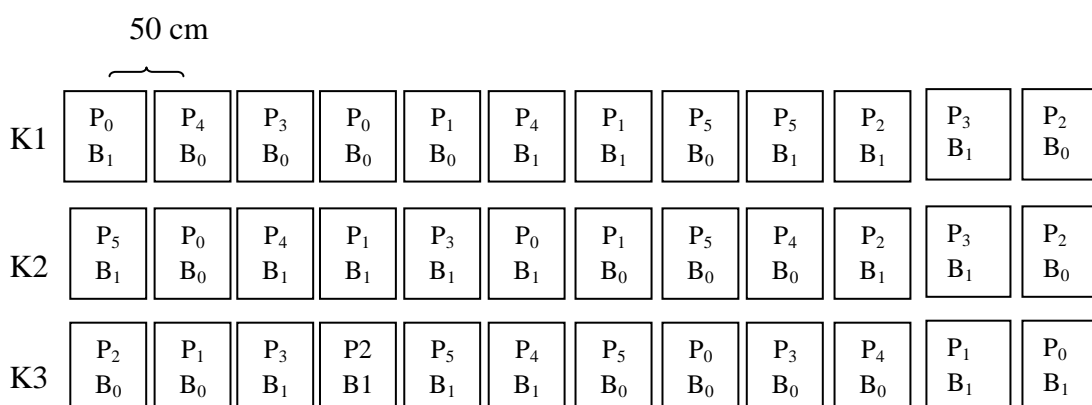


Gambar 2. Pirolisator untuk pembakaran sekam padi.

Sekam padi dimasukkan ke dalam pirolisator sebanyak $\frac{1}{3}$ bagian pirolisator. Kemudian dimasukkan pipa rongga ke dalam pirolisator dan diletakan di bagian

tengah pirolisator. Selanjutnya dimasukkan kembali sekam hingga sekam memenuhi $\frac{3}{4}$ bagian pirolisator. Setelah itu ke dalam pipa rongga tersebut dimasukkan arang kayu atau bonggol jagung yang telah membara atau telah dibakar. Rongga tersebut digunakan agar pembakaran dapat berlangsung merata. Selanjutnya pirolisator ditutup dengan rapat. Apabila asap mulai keluar melalui cerobong, berarti pembakaran sudah berjalan dengan baik. Setelah 4 jam dan sudah tidak mengeluarkan banyak asap lagi, arang yang telah terbakar secara tidak sempurna dikeluarkan dan langsung disemprot air agar tidak menjadi abu atau terjadi pembakaran sempurna (Nurida, 2012). Selanjutnya arang dijemur dan setelah itu diayak dengan ayakan yang memiliki diameter 2 mm.

3.4.2 Pembuatan Petak Percobaan dan Pengolahan Lahan



Gambar 3. Tata letak satuan percobaan

Keterangan: P₀ = Kontrol
 P₁ = 100% Pupuk Kimia + 0% Pupuk Organonitrofos
 P₂ = 75 % Pupuk Kimia + 25% Pupuk Organonitrofos
 P₃ = 50% Pupuk Kimia + 50% Pupuk Organonitrofos
 P₄ = 25% Pupuk Kimia + 75% Pupuk Organonitrofos
 P₅ = 0% Pupuk Kimia + 100% Pupuk Organonitrofos
 B₀ = 0% biochar

Penelitian ini dilakukan dengan melakukan pengolahan lahan terlebih dahulu. Pada lahan percobaan dilakukan pengukuran lahan yang kemudian dilanjutkan dengan mencangkul membersihkan seluruh gulma yang terdapat di lahan percobaan. Setelah itu dibuat petakan sebanyak 36 petak untuk ulangan satu, dua, dan tiga dengan ukuran 2 x 3 m per petak. Jarak antarpetak percobaan 50 cm. (Gambar 3).

3.4.3 Aplikasi Pupuk Organonitrofos, Pupuk Kimia dan Biochar

Aplikasi pupuk Organonitrofos, biochar dilakukan 1 minggu sebelum tanam. Pupuk Organonitrofos dan biochar dicampurkan langsung dengan tanah kemudian diaduk hingga merata. Aplikasi dilakukan sesuai dosis perlakuan masing – masing. Sedangkan pupuk kimia (KCl dan SP36) dan ½ dosis urea diberikan 1 minggu setelah benih jagung ditanam (sesuai perlakuan masing-masing). Aplikasi urea kedua (sisa ½ dosis) dilakukan pada saat vegetatif maksimum (saat malai mulai keluar). Pemupukan kimia dilakukan dengan cara ditugal.

3.4.4 Penanaman Jagung

Jagung ditanaman dengan jarak tanam 70 cm x 25 cm. Penanaman jagung dilakukan dengan memasukkan dua benih jagung ke dalam setiap lubang tanaman. Selanjutnya dilakukan penjarangan tanaman 6 hari setelah tanam, sehingga tersisa satu tanaman yang tumbuh sehat. Apabila dalam waktu 6 hari setelah tanam ada yang tidak tumbuh maka akan dilakukan penyulaman.

3.4.5 Pengambilan Sampel Tanah dan Akar Tanaman Jagung

Pengambilan sampel tanah untuk pengamatan jumlah spora FMA dilakukan 5 kali. Sampel tanah diambil pada saat awal (sebelum perlakuan), 15 hari setelah tanam (HST), 30 hari setelah tanam (HST), 60 hari setelah tanam (HST) dan 104 hari setelah tanam (HST). Sedangkan sampel akar diambil pada saat tanaman berumur 60 HST dan 104 HST. Sampel tanah dan akar tanaman jagung diambil dari 4 titik yaitu diantara pertanaman jagung baris ke 2 dan baris ke 3 kemudian dikompositkan. Pengambilan sampel tanah untuk analisis sifat kimia dilakukan 2 kali yaitu pada saat sebelum tanam (setelah tanah diolah) dan saat panen. Pengambilan sampel tanah untuk analisis kimia dengan menggunakan bor pada kedalaman 0-20 cm.

3.4.6 Analisis Sampel Tanah

Analisis sampel tanah dilakukan untuk menentukan C-organik tanah (metode *Walkley and Black*), N-total tanah (metode *Kjeldahl*), pH tanah (metode Elektrode), P-tersedia dan kadar air tanah (%) di Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, sedangkan pengukuran suhu tanah dilaksanakan di lokasi percobaan dengan menggunakan alat *soil temperature tester*. Hasil analisis awal disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis kimia Tanah Ultisol Gedung Meneng, pupuk Organonitrofos dan biochar.

Jenis Analisis	Tanah	Organonitrofos	Biochar
pH (H ₂ O)	6,47 (AM)	5,69 (AM)	7,9 (AA)
P- Total (%)	-	5,58 (ST)	-
C-Organik (%)	1,76 (R)	9,52 (ST)	14,65 (ST)
N-Total (%)	0,28 (S)	1,13 (ST)	0,76 (ST)
P-Tersedia Bray I (ppm)	6,9 (R)		26,83 (ST)

Sumber kriteria : balittanah.litbang.deptan.go.id (2005).

Keterangan: AM= agak masam, AA= agak alkalis, ST= sangat tinggi, R= rendah, S= Sedang

3.4.7 Pengamatan

3.4.7.1 Variabel Pengamatan

Variabel utama yang diamati adalah jumlah spora FMA yang dilakukan pada saat awal (sebelum perlakuan), 15 hari setelah tanam (HST), 30 hari setelah tanam (HST), 60 hari setelah tanam (HST) dan 104 hari setelah tanam (HST). Persen infeksi akar tanaman jagung pada 60 hari setelah tanam (HST) dan 104 hari setelah tanam (HST).

1. Jumlah Spora Fungi Mikoriza Arbuskula

Spora FMA diisolasi dengan cara penyaringan basah (*wet sieving*) menurut metode Brundrett dkk. (1996). Setiap perlakuan diambil 100 gram sampel tanah dimasukkan ke dalam wadah kemudian ditambahkan air sebanyak 1000 ml, kemudian diaduk selama kurang lebih 1 menit supaya spora- spora yang terperangkap di antara partikel tanah terbebaskan. Suspensi selanjutnya dituangkan pada saringan mikro dengan ukuran 250 μ m, 150 μ m dan 45 μ m yang disusun secara bertingkat dengan ukuran yang lebih kecil berada pada bagian bawah. Hal yang sama diulang sebanyak 5 kali sehingga spora yang berada dalam

tanah terbebaskan. Spora- spora yang tertahan pada masing- masing saringan selanjutnya dipindahkan ke dalam cawan petri, untuk selanjutnya diamati di bawah mikroskop. Jumlah spora dihitung secara manual berdasarkan bentuk dan warna spora dengan mengamati spora yang dikumpulkan dalam cawan petri di bawah mikroskop strereo.

2. Infeksi Akar Jagung oleh Fungi Mikoriza Arbuskula

Persen infeksi akar oleh fungi mikoriza arbuskula dihitung dengan metode pewarnaan akar. Sampel akar diambil secara acak dari tanah pertanaman jagung \pm 1g/sampel kemudian akar dipotong sepanjang 2 cm. Sampel akar dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah terisi sampel diisi dengan larutan KOH 10% sampai seluruh akar terendam dan dikukus dalam *water bath* dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama 20 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Setelah itu larutan KOH dibuang dan akar dicuci bersih dengan air. Sampel akar kemudian direndam dalam larutan HCl 1% dan dikukus lagi selama ± 15 menit. Selanjutnya larutan HCl dibuang dan akarnya siap untuk diwarnai dengan merendamnya dengan larutan *trypan blue* 0,05 % (0,5 g trypan blue + 450 ml glycerol+ 500 ml akuades + 50 ml HCl 1%), kemudian akar dikukus selama 10 menit dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$. Setelah itu akar diletakkan di atas preparat untuk diamati di bawah mikroskop majemuk dengan pembesaran 100 kali. Jika akar telah terinfeksi, akan dilihat dengan tanda adanya struktur pembentuk mikoriza (hifa, visikel, dan arbuskula) pada jaringan akar.

Rumus yang digunakan untuk menghitung persen infeksi akar oleh fungi mikoriza arbuskula sebagai berikut:

$$\text{Infeksi akar} = \frac{\sum \text{Pengamatan yang positif terinfeksi}}{\sum \text{Total pengamatan}} \times 100\%$$

Tingkat infeksiya menurut The Instate of Mycorrhizal Research and Development, USDA Forest Service, Athena, Georgia (Setiadi, 1992) sebagai berikut:

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

3.4.7.2 Variabel Pendukung

Variabel pendukung yang diamati pada awal dan akhir penelitian adalah C-organik tanah, N-total tanah, P-tersedia, pH tanah, suhu tanah, dan kadar air tanah.