

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan waktu penelitian

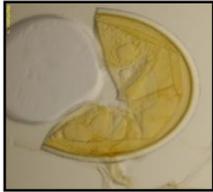
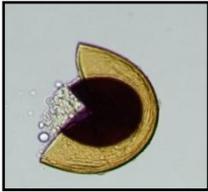
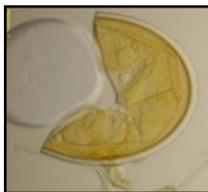
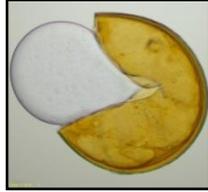
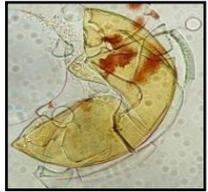
Percobaan ini dilaksanakan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, dan Lahan Politeknik Negeri Lampung dari bulan Mei 2013 sampai Februari 2014

3.2 Bahan dan Alat

Bahan - bahan yang digunakan adalah *germinated seed* kelapa sawit varietas Tenera Simalungun, pasir, tanah, aquades, larutan KOH 10%, HCL 1%, *glycerol*, *trypan blue*, pupuk “Rock phosphate”, Urea, NPK, dan mikoriza yaitu *Glomus* sp. dan *Entrophospora* sp. (Deskripsi masing-masing FMA dapat dilihat pada Tabel 1).

Alat-alat yang digunakan adalah mikroskop stereo dan majemuk, timbangan elektrik, pinset spora, cawan petri, saringan mikro, gelas ukur, cangkul, *counter*, polibag, *cutter*, ember, gembor, oven, *cover glass*, kaca preparat, dan alat tulis .

Tabel 1. Deskripsi lima jenis fungi mikoriza arbuskular yang digunakan pada penelitian.

Uraian	<i>Entrophospora sp.</i> Isolat MV 3	<i>Entrophospora sp.</i> Isolat MV 12	<i>Glomus sp.</i> Isolat MV 4	<i>Glomus sp.</i> Isolat MV 11	<i>Glomus sp.</i> Isolat MV 13
1 Ciri-Ciri Spora	Bentuk : setengah lingkaran Ukuran : kecil Warna : kuning emas	Bentuk : bulat Ukuran : kecil Warna : kuning kecoklatan	Bentuk : bulat Ukuran : kecil-sedang Warna : kuning	Bentuk : Bulat Ukuran : kecil - sedang Warna : cream kekuningan	Bentuk : Bulat Ukuran : kecil - sedang Warna : cream kecoklatan
2 Reaksi terhadap Melzer	Positif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
3 Asal	Simpang Sribawono, Lampung.	Bentar Kersik B, Sumatera Utara	Sekampung Udik, Lampung	Sekampung Udik, Lampung	Notonegoro Jember, Jawa Timur
4 Sporocarp	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada
5 Spora di dalam/di luar akar atau kedua	di luar dan di dalam akar	Di luar akar	Di luar akar	Di luar Akar	Di luar akar
6 Gambar Reaksi Spora terhadap Melzer					

3.3 Metode penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam rumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, rancangan perlakuan yang digunakan adalah rancangan faktorial (6 x 2) dengan 5 ulangan. Faktor pertama adalah jenis mikoriza (M) yang terdiri dari 6 taraf yaitu m_0 (Kontrol), m_1 (*Entrophospora* sp. Isolat MV 3), m_2 (*Entrophospora* sp. Isolat MV 12), m_3 (*Glomus* sp. Isolat MV 4), m_4 (*Glomus* sp. Isolat MV 11), dan m_5 (*Glomus* sp. Isolat MV 13). Faktor kedua adalah dosis pupuk NPK (P) yang terdiri dari 2 taraf yaitu p_1 (100% dari dosis anjuran), p_2 (75% dari dosis anjuran).

Perlakuan diterapkan pada satuan percobaan dalam rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS). Kesamaan ragam antar perlakuan diuji dengan Uji Barlett. Kemenambahan data diuji dengan Uji Tukey. Jika asumsi terpenuhi yaitu ragam perlakuan homogen dan data bersifat menambah, maka data dianalisis ragam. Pemisahan nilai tengah diuji dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan peluang melakukan kesalahan ditentukan sebesar 0,05.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

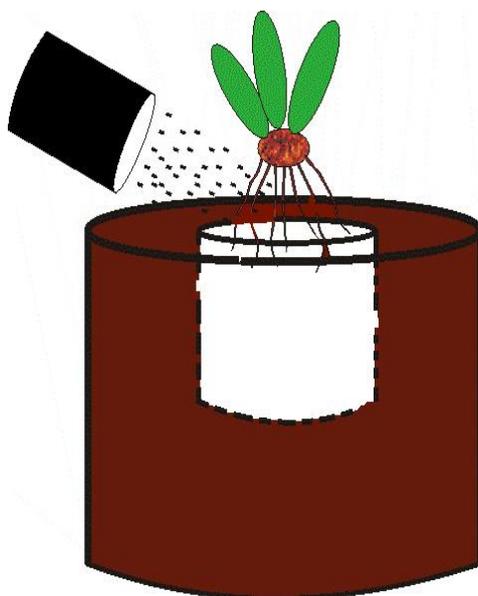
3.4.1 Penyemaian Benih

Benih kelapa sawit berupa benih berkecambah (*germinated seed*) disemai pada media pasir steril selama 4 minggu hingga kecambah tumbuh menjadi bibit yang baik. Setelah empat minggu, bibit sudah siap ditransplanting ke *pre-nursery*.

3.4.2 Penanaman di *Pre-nursery* serta Inokulasi Mikoriza

Bibit kelapa sawit yang telah berumur 1 bulan dipisahkan secara berkelompok berdasarkan panjang akar dan tinggi daunnya. Setelah dipisahkan sesuai ukurannya, bibit ditanam dalam polibag yang berukuran 18x25 cm dengan satu bibit per polibag.

Saat bibit akan ditransplanting ke dalam polibag yang sebagian tanahnya telah dikeluarkan terlebih dahulu untuk membuat lubang tanam, akar bibit diinokulasi dengan inokulum FMA terlebih dahulu. Inokulum FMA ditaburkan secara merata dan perlahan pada akar-akar bibit dengan dosis ± 500 spora/bibit, sehingga inokulum tersebar merata dipermukaan akar (Gambar 1). Proses inokulasi ini dilaksanakan dengan perlahan dan teliti agar inokulum mikoriza tidak terkontaminasi serta tercampur dengan jenis yang lainnya.



Gambar 3. Proses inokulasi FMA pada bibit kelapa sawit.

Setelah proses inokulasi selesai, tanah ditambahkan ke dalam polibag sampai akar bibit tertanam dengan baik. Polibag-polibag yang sudah ditanami bibit dan diinokulasi dengan FMA sesuai perlakuan, kemudian disusun di dalam rumah kaca dan dipelihara selama dua bulan. Pemupukan dilakukan dengan menyemprotkan pupuk kepermukaan helai daun menggunakan pupuk urea dengan dosis 2g/liter untuk 100 bibit.

3.4.3 Penanaman *di Main Nursery*

Transplanting bibit dari *pre-nursery* ke *main nursery* dilakukan setelah bibit di *pre nursery* berumur 3 bulan setelah semai. Sebelum proses transplanting dilakukan, disiapkan polibag yang berisi tanah top soil sebanyak 20 kg/polibag. Lubang tanam dalam polibag dibuat sesuai dengan ukuran polibag di *pre nursery* menggunakan alat ponjo agar bibit dapat ditransplanting tanpa merusak perakarannya dan memudahkan proses transplanting.

Kemudian polibag pada bibit *pre-nursery* disayat untuk memudahkan dalam melepaskan polibag dan agar tanah dalam polibag dalam keadaan utuh. selanjutnya bibit dimasukkan ke dalam polibag yang telah dibuat lubang tanamnya dan ditekan perlahan. Setelah transplanting berhasil dilakukan, media dalam polibag disiram untuk menjaga kelembabannya. Polibag *main nursery* kemudian disusun di lapangan berdasarkan tata letak percobaan yang telah ditentukan (Gambar 2).

Kelompok 1

m2p2	m5p1	m4p0	m5p2	m3p2	m0p2	m2p1	m3p1	m1p2	m1p1	m4p1	m0p1
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Kelompok 2

m1p0	m3p2	m1p1	m5p2	m2p2	m0p1	m4p2	m5p1	m3p1	m0p2	m4p1	m2p1
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Kelompok 3

m2p2	m5p2	m0p1	m5p1	m2p1	m3p2	m1p2	m4p1	m0p2	m3p1	m4p2	m1p1
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Kelompok 4

m3p2	m4p2	m2p2	m5p2	m0p2	m2p1	m5p1	m3p1	m0p1	m1p2	m1p1	m4p1
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Kelompok 5

m2p2	m0p2	m5p1	m4p1	m0p1	m1p1	m3p2	m1p2	m3p1	m4p2	m5p2	m2p1
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Gambar 3. Tata letak percobaan di *main nursery*.**3.4.4 Pemeliharaan**

Kegiatan pemeliharaan yang dilakukan selama di pembibitan adalah penyiraman, penyiangan, pengendalian hama penyakit tanaman, dan pemupukan. Penyiraman dilakukan sesuai dengan keadaan media tanam. Penyiraman dilakukan menggunakan selang sampai kondisi lapang dan tidak berlebihan. Penyiangan gulma dilakukan secara manual, yaitu gulma yang terdapat di dalam maupun di luar polibag dicabut menggunakan tangan tanpa alat. Penyiangan ini dilakukan agar pertumbuhan bibit tidak terhambat ataupun terganggu karena terdapatnya gulma. Pengendalian hama penyakit kutu putih dilakukan dengan cara membersihkan bagian daun yang terserang kutu putih dengan alkohol 20% yang diusapkan menggunakan tisu hingga permukaan daun bersih dari gejala serangan

hama. Pengendalian penyakit dilakukan dengan cara menggunting bagian daun yang terkena karat daun dan mengusap permukaan daun dengan alkohol 20%, untuk menghindari penyebaran penyakit.

Pemupukan dilakukan dengan jenis dan dosis pupuk yang disesuaikan dengan perlakuan dan pertumbuhan bibit. Pemupukan mulai dilakukan saat bibit berumur 4 minggu menggunakan pupuk urea dan diganti dengan pupuk NPK (15:15:15) ketika berumur 14 minggu setelah semai. Jenis dan dosis pupuk yang digunakan tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Jenis dan dosis pupuk yang digunakan selama penelitian.

Umur bibit kelapa sawit (minggu)	Anjuran	Penelitian (75% dari anjuran)
	NPK 15 : 15 : 15	NPK 15 : 15 : 15
14 -15	2,5 g	1,875 g
16 -17	5 g	3,75 g
18 – 20	7,5 g	5,625 g
22 -24	10 g	7,5 g
26	10 g	7,5 g
28	10 g	7,5 g
30	10 g	7,5 g
32	10 g	7,5 g
34	15 g	11,25 g
36	15 g	11,25 g

3.5 Variabel Pengamatan

Setelah bibit berumur 36 minggu setelah semai, untuk menguji kesahihan kerangka pemikiran dan hipotesis dilakukan pengamatan terhadap variabel–variabel berikut:

1. Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah hingga ujung daun tertinggi.

Pengukuran tinggi tanaman ini menggunakan meteran dengan satuan cm.

2. Jumlah Daun

Daun yang dihitung adalah daun yang telah terbuka secara sempurna.

3. Tingkat Kehijauan Daun

Tingkat kehijauan daun diukur menggunakan klorofilmeter. Pengukuran dilakukan pada daun ke-3 dan telah membuka secara sempurna. Pengukuran dilakukan sebanyak 6 titik disetiap sampel daun, sehingga nilai tingkat kehijauan daun diperoleh dari rata-rata nilai 6 titik tersebut.

4. Bobot Segar Tajuk

Bobot segar tajuk diukur setelah tanaman dipanen. Bobot segar tajuk terdiri dari pangkal batang hingga ujung daun. Bagian akar tanaman dipotong agar dapat dipisahkan, kemudian ditimbang untuk memperoleh bobot segar tajuknya.

5. Bobot Segar Akar

Bagian akar yang telah dipotong, kemudian dipisahkan dari tajuk. Akar-akar yang patah dan tersisa pada media dikumpulkan dan dicampurkan pada akar yang telah dipotong dan selanjutnya dibersihkan dan ditimbang untuk memperoleh bobot segar akar.

6. Bobot Kering Tajuk

Tajuk yang telah ditimbang bobot segarnya, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 80° C hingga bobot keringnya konstan, kemudian ditimbang menggunakan timbangan elektrik untuk memperoleh bobot kering tajuk.

7. Bobot Kering Akar

Akar yang telah dipisahkan dari tajuk, kemudian dimasukan ke dalam oven untuk dikeringkan dengan suhu 80° C. Setelah bobot akar konstan, baru dapat diperoleh bobot kering akar dengan menimbang menggunakan timbangan elektrik.

8. Jumlah Akar Primer

Akar primer adalah akar-akar yang tumbuh langsung dari pangkal batang bibit. Seluruh akar primer yang tumbuh dihitung secara manual.

9. Volume akar

Akar yang belum dikeringkan di oven terlebih dahulu dimasukkan ke dalam gelas ukur yang telah berisi air dan diketahui volume airnya. Penambahan volume air pada gelas ukur merupakan volume akar bibit.

10. Persentase infeksi akar

Persentase infeksi akar bibit kelapa sawit oleh FMA dihitung setelah panen. Perhitungan ini diawali dengan mengumpulkan akar-akar sekunder dan tersier secara acak sebanyak 1 gam dan dimasukkan ke dalam botol film. Setelah akar dipisahkan lalu dicuci bersih menggunakan air hingga kotoran yang melekat pada akar bersih. Akar yang telah bersih di dalam botol film diberikan KOH

10% hingga seluruh akar terendam, lalu dikukus dalam *water bath* dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama ± 30 menit. Hal ini dilakukan untuk membersihkan sel dari sitoplasma, kemudian larutan KOH dibuang dan akar dicuci kembali dengan air, lalu akar direndam kembali dengan larutan HCL 1% dan dikukus lagi selama ± 15 menit. Setelah itu larutan HCL dikeluarkan dan ditambahkan kedalam botol film larutan *trypan blue* 0,05% (0,5 g *trypan blue* + 450 ml *glycerol* + 500 ml aquades + 50 ml HCL 1%), kemudian akar dikukus selama 10 menit. Setelah akar diwarnai, lalu dipotong sepanjang ± 2 cm, kemudian disusun di atas kaca preparat secara teratur agar akar mudah diamati. Sampel akar kemudian diamati menggunakan mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Jika akar telah terinfeksi, akan dilihat dengan tanda adanya struktur pembentuk mikoriza (hifa, visikel, dan arbuskular) pada jaringan akar. Perhitungan persentase infeksi akar dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

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

11. Jumlah Spora

Jumlah spora yang terdapat pada tanah yang telah ditanami bibit kelapa sawit dihitung dengan mengambil sampel 50 g dari setiap polibag. Tanah yang telah ditimbang, dilarutkan dalam 1,5 L air, lalu disaring menggunakan 3 lapis saringan khusus tanah dengan ukuran 500 μm , 150 μm , dan 45 μm . Tanah yang telah disaring diletakkan pada 3 cawan petri, kemudian diamati menggunakan mikroskop stereo dengan perbesaran 4 kali dan mulai dihitung jumlah sporanya menggunakan counter.