

### **III. BAHAN DAN METODE**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Produksi Perkebunan, rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung, dan lahan Politeknik Negeri Lampung dari bulan Mei 2013 sampai Februari 2014.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

Peralatan yang digunakan antara lain mikroskop stereo dan majemuk, kaca preparat, cawan petri, pinset spora, timbangan elektrik, oven listrik, saringan mikro (ukuran 500  $\mu\text{m}$ , 63  $\mu\text{m}$ , dan 45  $\mu\text{m}$ ), gelas ukur, meteran, cangkul, gunting, ember, gembor, nampan plastik. Bahan-bahan yang digunakan antara lain benih kelapa sawit (D x P) Simalungun, pupuk “ Rock Phosphate ”, pupuk Urea, pupuk NPK, mikoriza *Glomus* sp. (Isolat MV 23 dan Isolat MV 26) *Entrophospora* sp. (Isolat MV 22, Isolat MV 25, dan Isolat MV 28), pasir, tanah, polibag, air, larutan KOH 10%, HCL 1%, *glycerol*, *trypan blue*, dan akuades.




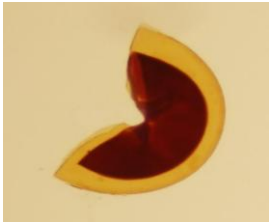

#### **3.3 Metode Penelitian**

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, percobaan ini menggunakan rancangan faktorial (6 x 2) dengan 5 ulangan. Faktor pertama yaitu jenis mikoriza (I) yang terdiri dari 6 jenis yaitu

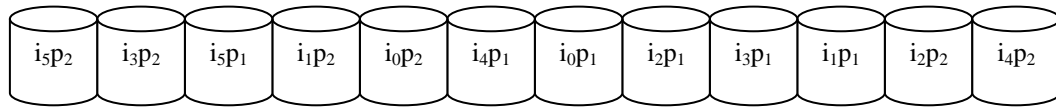
tanpa inokulasi mikoriza ( $i_0$ ), *Glomus* sp. Isolat MV 23 ( $i_1$ ), *Glomus* sp. Isolat MV 26 ( $i_2$ ), *Entrophospora* sp. Isolat MV 22 ( $i_3$ ), *Entrophospora* sp. Isolat MV 25 ( $i_4$ ), *Entrophospora* sp. Isolat MV 28 ( $i_5$ ). Deskripsi masing-masing isolat yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Faktor kedua yaitu pemberian pupuk NPK (P) yang terdiri dari 2 taraf yaitu 100% dosis anjuran NPK/polibag ( $p_1$ ) dan 50% dosis anjuran NPK/polibag ( $p_2$ ). Dosis pupuk anjuran yang digunakan seperti yang tercantum dalam Tabel 2 (hlm. 41)

Perlakuan diterapkan pada satuan percobaan di pre-nursery dan main nursery dalam rancangan kelompok teracak sempurna (RKTS) (Gambar 7). Kesamaan ragam antar perlakuan diuji dengan uji Barlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tukey. Jika asumsi terpenuhi, data dianalisis ragam dan dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

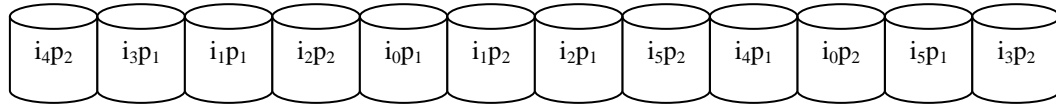
Tabel 1. Deskripsi lima jenis fungi mikoriza arbuskular yang digunakan pada penelitian

Uraian	<i>Glomus</i> sp. 14 (Isolat MV 23)	<i>Glomus</i> sp. 16 (Isolat MV 26)	<i>Entrophospora</i> sp.6 (isolat MV 22)	<i>Entrophospora</i> sp.7 (isolat MV 25)	<i>Entrophospora</i> sp.5 (Isolat MV 28)
1 ciri-ciri spora: warna ukuran bentuk sporocarp sporiferous saccule	cream-kuning Kecil Bulat tidak ada tidak ada	orange kecil - sedang bulat tidak ada tidak ada	orange kecil bulat tidak ada ada	kuning kecil - sedang bulat tidak ada ada	Orange kecil ½ lingkaran tidak ada Ada
2 reaksi terhadap melzer	spora tidak berubah warna	spora tidak berubah warna	bagian tengah spora berwarna lebih gelap daripada bagian tepi	bagian tengah spora berwarna lebih gelap daripada bagian tepi	bagian tengah spora berwarna lebih gelap daripada bagian tepi
3 asal	Kebun kelapa sawit di Gunung Para, Sumatera Utara	Kebun jarak di Notonegoro Jember Jawa Timur	Kebun kelapa sawit di Sekampung Udik Lampung Timur	Kebun kelapa sawit di Bentar Kersik B Sumatera Utara	Kebun kelapa sawit Sendang Anom, Lampung
4 gambar spora dalam larutan melzer					

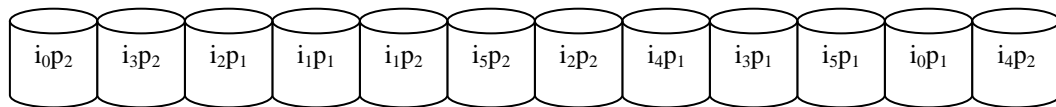
### Ulangan 1



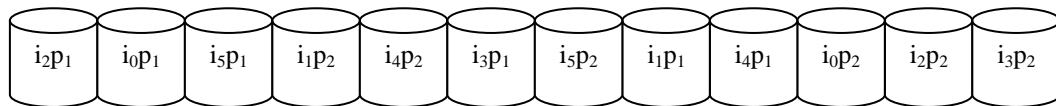
### Ulangan 2



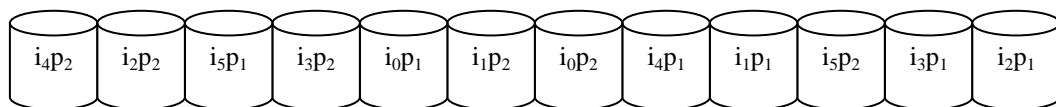
### Ulangan 3



### Ulangan 4



### Ulangan 5



Gambar 7. Tata Letak percobaan pada main nursery.

Keterangan:

$i_0$  = Tanpa inokulasi mikoriza

$i_1$  = *Glomus* sp. Isolat MV 23

$i_2$  = *Glomus* sp. Isolat MV 26

$i_3$  = *Entrophospora* sp. Isolat MV 22

$i_4$  = *Entrophospora* sp. Isolat MV 25

$i_5$  = *Entrophospora* sp. Isolat MV 28

$p_1$  = 100% dosis pupuk anjuran

$p_2$  = 50% dosis pupuk anjuran

## 3.4 Pelaksanaan Penelitian

### 3.4.1 Penyemaian benih

Media tanam yang digunakan adalah pasir steril. Pasir disterilisasi dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 1 jam selama 2 kali dengan selang waktu 1 hari.

Kemudian pasir yang sudah steril dicampur hingga merata dan dilembabkan

dengan menggunakan air aquades. Selanjutnya benih kelapa sawit yang telah berkecambah (*germinated seed*) disemai pada media pasir yang telah disterilkan sampai umur 4 minggu sebelum dipindahkan ke pre-nursery (Gambar 8).



Gambar 8. Benih kelapa sawit yang telah berkecambah/*germinated seed* (kiri) dan bibit kelapa sawit berumur 4 minggu yang siap dipindahkan ke pre-nursery (kanan).

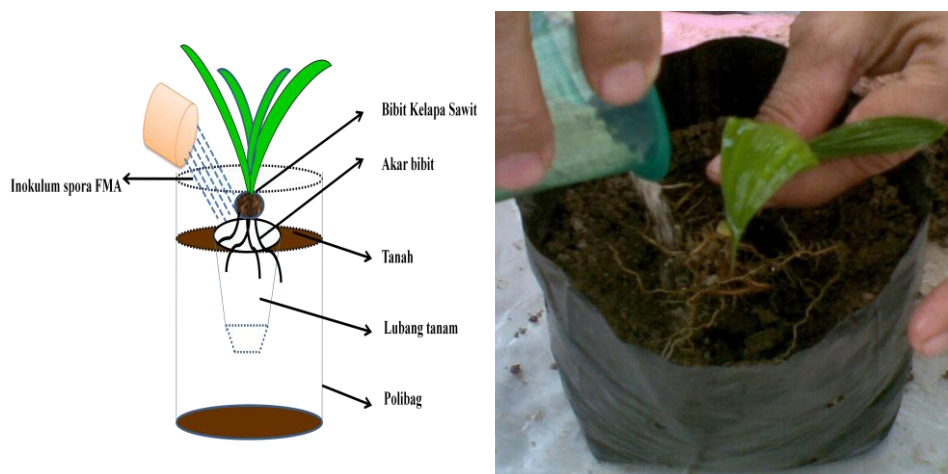
#### **3.4.2 Penyiapan media tanam di pre-nursery dan main nursery**

Media tanam yang digunakan di pre-nursery adalah tanah dan bahan organik dengan perbandingan 7:1. Kedua media tersebut dicampur kemudian ditambahkan pupuk “Rock Phosphate” sebanyak 100 g untuk 60 polybag pre-nursery lalu diaduk sampai homogen. Media tanam untuk pre-nursery dimasukkan ke dalam polybag ukuran 18 x 25 cm dan dilakukan penyiraman 2 kali sehari sebelum dilakukan penanaman.

Sedangkan media tanam yang digunakan di main nursery adalah tanah tanpa campuran bahan organik. Media tanam untuk main nursery dimasukkan ke dalam polybag ukuran 50 x 40 cm.

### 3.4.3 Penanaman di Pre-nursery dan inokulasi spora FMA

Benih kelapa sawit yang telah dikecambahkan selama 4 minggu dalam media pasir yang telah disterilkan dipindahkan/transplanting ke polibag berukuran 18 x 25 cm dengan media tanam tanah dan bahan organik (satu bibit per polibag) dan diletakkan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Proses inokulasi FMA sesuai perlakuan diawali dengan mengeluarkan bibit dari media semaian, kemudian dibuat lubang tanam pada media di polibag yang ukurannya disesuaikan dengan morfologi akar bibit. Inokulum FMA yang disiapkan dalam masing-masing gelas yang berbeda ditaburkan merata pada akar yang terletak di atas lubang tanam (Gambar 9). Inokulan dengan carrier zeolit dan pasir mengandung kepadatan spora yaitu  $\pm 500$  spora/bibit. Selanjutnya, perakaran bibit disusun sebelum lubang tanam ditutup dengan media agar perakaran bibit tetap utuh. Setelah bibit berumur 4 minggu, dilakukan pemupukan dengan cara disemprotkan pada daun setiap minggu menggunakan pupuk urea dengan dosis 2 g/liter untuk 100 bibit.



Gambar 9. Cara inokulasi spora FMA pada bibit kelapa sawit di pre-nursery.

#### **3.4.4 Penanaman di main nursery**

Transplanting bibit dari pre-nursery ke main nursery dilakukan setelah bibit berumur 3 bulan. Penanaman bibit diawali dengan membuat lubang tanam pada media yang ada di polibag main nursery dengan menggunakan alat ponjo (Gambar 10). Ukuran lubang tanam disesuaikan dengan ukuran polibag di pre-nursery. Selanjutnya, polibag disayat kemudian bibit dilepaskan dan ditanam pada lubang tanam. Selanjutnya polibag disusun berdasarkan tata letak percobaan di lahan Politeknik Negeri Lampung.



Gambar 10. Alat ponjo untuk membuat lubang tanam.

#### **3.4.5 Pemeliharaan tanaman**

Pemeliharaan yang dilakukan selama penelitian sebagai berikut:

1. Penyiraman

Penyiraman dilakukan 2 kali sehari pada pre-nursery dan 1 kali sehari pada main nursery. Penyiraman dilakukan pada media tanam hingga air keluar dari lubang polibag yang menunjukkan bahwa media tanam telah mengandung air tersedia.

## 2. Penyiangan gulma

Penyiangan gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang tumbuh di permukaan media tanam pada polibag.

## 3. Pengendalian hama

Hama yang sering menyerang bibit kelapa sawit pada penelitian adalah belalang dan kutu putih. Hama belalang dikendalikan secara manual dan menangkap dan memusnahkannya. Sedangkan hama kutu putih dikendalikan dengan mengusap daun bibit kelapa sawit dengan alkohol 20%.

## 4. Pemupukan

Jenis dan dosis pupuk yang digunakan pada penelitian ini disesuaikan dengan pertumbuhan bibit dan perlakuan yang digunakan. Pemupukan dilakukan dengan membuat lubang di sekitar perakaran tanaman lalu pupuk diberikan secara ditabur kemudian permukaan tanah ditutup kembali (Gambar 11). Jenis dan dosis pupuk yang digunakan terdapat pada Tabel 2.



Gambar 11. Cara pemupukan pada main nursery



Tabel 2. Jenis dan dosis pupuk yang digunakan main nursery.

Umur tanaman (minggu)	N:P:K (15:15:15) (g/polibag)	
	100% dosis anjuran	50% dosis anjuran
14-15	2,5	1,25
16-17	5	2,5
18-20	7,5	3,75
22-24	10	5
26	10	5
28	10	5
30	10	5
32	10	5
34	15	7,5
36	15	7,5

Sumber : Pusat Penelitian Kelapa Sawit, (2013).

### 3.5 Variabel pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah bibit berumur 36 minggu setelah semai. Untuk menguji kesahihan kerangka pemikiran dan hipotesis dilakukan pengamatan terhadap variabel-variabel sebagai berikut:

#### 1. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah sampai ujung daun terpanjang.

Pengukuran dilakukan menggunakan meteran dalam satuan cm. Pengukuran tinggi tanaman dimulai setelah bibit berumur 7,8 dan 9 bulan setelah semai.

#### 2. Jumlah daun

Jumlah daun yang telah membuka sempurna pada setiap bibit dihitung. Penghitungan jumlah daun dimulai dari bibit berumur 7, 8 dan 9 bulan setelah semai.

### 3. Tingkat kehijauan daun

Kehijauan daun diukur dengan menggunakan klorofilmeter. Daun yang diambil sampelnya adalah daun ke-3 dan dipilih 2 helai anak daun yang berada ditengah-tengah pelepah. Pengukuran dilakukan pada 6 titik pada setiap sampel daun, sehingga nilai tingkat kehijauan daun merupakan rerata dari 6 titik pengukuran tersebut.

### 4. Bobot segar tajuk

Seluruh tajuk pada bibit kelapa sawit dipotong, lalu ditimbang dengan timbangan digital dalam satuan gram. Tajuk bibit merupakan organ tanaman yang tumbuh ke atas, dimulai dari pangkal batang hingga ujung daun.

### 5. Bobot kering tajuk

Seluruh tajuk pada bibit kelapa sawit dipotong, dibersihkan lalu dikeringkan menggunakan oven. Tajuk dikeringkan hingga bobotnya konstan pada suhu 80°C. Setelah kering, tajuk ditimbang dengan timbangan digital dalam satuan gram.

### 6. Bobot segar akar

Seluruh akar pada bibit kelapa sawit dipotong lalu ditimbang dengan timbangan digital dalam satuan gram. Akar bibit kelapa sawit dipotong dari titik tumbuh akar pada pangkal batang.

### 7. Bobot kering akar

Seluruh akar bibit kelapa sawit dipotong pada bagian titik tumbuh akar (pangkal batang). Kemudian, dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80°C sampai

bobotnya konstan. Setelah bobot akar konstan, akar ditimbang dengan timbangan digital dalam satuan gram.

#### 8. Jumlah akar primer

Akar primer merupakan akar yang tumbuh pada pangkal batang kelapa sawit. Semua akar primer yang tumbuh dihitung.

#### 9. Volume akar

Seluruh akar pada bibit kelapa sawit yang telah dipotong, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur yang telah diisi air yang telah diketahui volumenya. Volume akar merupakan penambahan volume air pada gelas ukur dalam satuan ml.

#### 10. Persen infeksi akar oleh FMA

Penghitungan persen infeksi akar oleh FMA diawali dengan mengambil akar sekunder dan tersier secara acak lebih kurang sebanyak 2 g, lalu dicuci dengan air sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol film yang berisi akar tersebut diisi dengan larutan KOH 10% sehingga semua akar terendam dan dikukus dalam *water bath* dengan suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 30$  menit. Hal itu dilakukan untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Selanjutnya larutan KOH dibuang dan akar dicuci kembali dengan air hingga bersih, lalu direndam dalam larutan HCl 1%. Kemudian, akar dikukus kembali dalam *water bath* pada suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$ . Setelah  $\pm 15$  menit., larutan HCl dibuang dan ditambahkan larutan trypan blue 0,05% (0,5 g trypan blue + 450 ml glycerol + 500 ml aquades + 50 ml HCl 1%). Akar tersebut dikukus kembali dalam *water bath* pada suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Akar yang telah diwarnai

tersebut dipotong sepanjang  $\pm 2$  cm, kemudian di letakkan di atas kaca preparat untuk diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Adanya infeksi ditandai dengan adanya struktur pembentuk mikoriza (hifa, vesikel, dan arbuskular) pada jaringan akar dan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

#### 11. Penghitungan jumlah spora

Diambil sampel tanah di sekitar perakaran bibit kelapa sawit (polybag main nursery) sebanyak 100 g. Kemudian sebanyak 100 g sampel tanah dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan air lebih kurang 1000 ml, kemudian diaduk selama lebih kurang 1 menit supaya spora-spora terperangkap di antara partikel tanah terbebaskan. Larutan dituangkan pada saringan mikro dengan berbagai ukuran dilakukan pencucian butiran-butiran tanah untuk disaring menggunakan deretan saringan mikro yang berbeda-beda ukurannya (250  $\mu\text{m}$ , 63  $\mu\text{m}$ , dan 45  $\mu\text{m}$ ). Penyaringan dilakukan sampai 5 kali pencucian butiran tanah. Lalu bahan yang tertinggal pada saringan dicuci dari saringan dan dikumpulkan pada cawan untuk diamati dan dihitung jumlah sporanya di bawah mikroskop stereo.