

**PERAKITAN MUTAN FUNGI MIKORIZA ARBUSKULAR  
TAHAN PEMUPUKAN N DAN P TINGGI DENGAN IRADIASI SINAR  
ULTRAVIOLET DAN PERENDAMAN *ETHYL METHANESULFONATE***

**(TESIS)**

**Oleh**

**NOVI SAFITRI**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER AGRONOMI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDARLAMPUNG  
2019**

## **ABSTRAK**

### **PERAKITAN MUTAN FUNGI MIKORIZA ARBUSKULAR TAHAN PEMUPUKAN N DAN P TINGGI DENGAN IRADIASI SINAR ULTRAVIOLET DAN PERENDAMAN *ETHYL METHANESULFONATE***

**Oleh**

**NOVI SAFITRI**

Aplikasi pupuk yang tinggi pada budidaya tanaman mengancam keberlangsungan hidup mikroorganisme tanah, salah satunya fungi mikoriza arbuskular. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan unsur hara N dan P di tanah terpapar pupuk, merakit mutan FMA yang tahan terhadap pemupukan N dan P tersebut, serta menguji kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan. Penelitian dilaksanakan di rumah kaca, Laboratorium Produksi Perkebunan, dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Universitas Lampung dari bulan Februari 2017 – Maret 2018.

Penelitian disusun dalam tiga percobaan, yaitu Percobaan I: Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan unsur hara N dan P pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi fungi dan bakteri tanah. Perlakuan yang diterapkan yaitu kontrol, pemupukan sebar, dan pemupukan alur. Homogenitas ragam diuji

dengan uji Bartlett. Pemisahan nilai tengah dengan menggunakan uji BNT pada taraf 5%. Percobaan II: Perakitan mutan FMA melalui iradiasi UV dan perendaman EMS. Perlakuan iradiasi UV yang diterapkan yaitu kontrol, 0, 5, 10, 15, dan 20 menit dipaparkan sinar UV. Sedangkan perlakuan EMS yaitu kontrol, direndam EMS konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Setiap spora perlakuan dikecambahkan pada 3 jenis larutan yaitu N 800 ppm, P 2000 ppm, dan campuran keduanya. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Percobaan III:

Kemampuan infeksi FMA diduga mutan pada akar tanaman. Perlakuan yang diuji adalah inokulasi akar yaitu kontrol/spora *wild type*, diduga mutan iradiasi UV, dan diduga mutan perendaman EMS. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Hasil Percobaan I menunjukkan bahwa pemupukan dengan cara alur menghasilkan kandungan N total, P tersedia, serta P total tertinggi, secara berturut-turut 3.688,63 ppm, 63,81 ppm, dan 3.355,23 ppm. Kandungan pupuk yang tinggi tersebut menyebabkan penurunan pada total populasi bakteri dan fungi tanah. Percobaan II menunjukkan bahwa FMA diduga mutan terbanyak sesuai kriteria dapat diperoleh melalui iradiasi UV 10 menit dan perendaman EMS dengan konsentrasi EMS 30 ppm. Pada Percobaan III diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan persen infeksi akar FMA diduga mutan maupun *wild type*.

Kata kunci: Fungi mikoriza arbuskular, pemupukan, mutan, sinar ultraviolet, *ethyl methanesulfonate*

**PERAKITAN MUTAN FUNGI MIKORIZA ARBUSKULAR  
TAHAN PEMUPUKAN N DAN P TINGGI DENGAN IRADIASI SINAR  
ULTRAVIOLET DAN PERENDAMAN *ETHYL METHANESULFONATE***

**Oleh**

**NOVI SAFITRI**

**Tesis**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
MAGISTER SAINS**

**Pada**

**Program Studi Magister Agronomi  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**PROGRAM PASCASARJANA AGRONOMI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

Judul Tesis : **PERAKITAN MUTAN FUNGI MIKORIZA  
ARBUSKULAR TAHAN PEMUPUKAN N DAN  
P TINGGI DENGAN IRADIASI SINAR  
ULTRAVIOLET DAN PERENDAMAN *ETHYL  
METHANESULFONATE***

Nama Mahasiswa : **NOVI SAFITRI**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1424011010

Program Studi : Magister Agronomi

Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing



**Dr. Ir. Maria Viva Rini, M.Sc.**  
NIP 196603041990122001



**Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D**  
NIP 198106212005011003

2. Ketua Program Studi



**Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.**  
NIP 196108031986032002

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Ir. Maria Viva Rini, M.Sc.**



Sekretaris : **Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.**



Peguji  
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.**



### 2. Dekan Fakultas Pertanian



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**  
NIP 19611020 198603 1 002

### 3. Direktur Program Pascasarjana



**Prof. Drs. Mustofa, M.A., Ph.D.**  
NIP 19570101 198403 1 020

Tanggal Lulus Ujian Tesis: **9 Januari 2019**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul **“PERAKITAN MUTAN FUNGI MIKORIZA ARBUSKULAR TAHAN PEMUPUKAN N DAN P TINGGI DENGAN IRADIASI SINAR ULTRAVIOLET DAN PERENDAMAN *ETHYL METHANESULFONATE*”** adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai dengan norma etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik.
2. Pembimbing penulisan tesis ini berhak mempublikasikan sebagian atau seluruh tesis ini pada jurnal ilmiah dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya dan bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Bandarlampung, Januari 2019  
Pembuat Pernyataan,



  
**Novi Safitri**  
NPM 1424011010

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Pangkalpinang, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung, pada 11 November 1989 sebagai anak kedua dari pasangan Ibu Sulha Kori dan Bapak Mahmudin Ibrahim.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) Eka Rini Pangkalpinang tahun 1995, Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 16 Pangkalpinang tahun 2002, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 1 Pangkalpinang tahun 2005, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 1 Pangkalpinang tahun 2008.

Pada tahun 2008, penulis terdaftar sebagai mahasiswa S1 Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan menyelesaikan pendidikan Sarjana Pertanian tahun 2012. Tahun 2013, penulis mengikuti Program Pendidikan Calon Pendidik Akademi Komunitas Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi. Tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa S2 Program Pascasarjana Magister Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Sejak Juli 2014 hingga sekarang penulis terdaftar sebagai salah satu guru produktif Kompetensi Keahlian Agribisnis Tanaman Pangan dan Hortikultura di SMK Negeri 1 Gedong Tataan Kabupaten Pesawaran.

## **MOTTO**

"Barang siapa yang bersungguh-sungguh,  
sesungguhnya kesungguhan tersebut untuk kebaikan dirinya sendiri"

(Q.S. Al-Ankabut: 6)

*Bismillaahirrohmaanirrohiim*

Kupersembahkan karya ini untuk almamater tercinta dan orang-orang yang kukasihi: Ibu, Bapak, Suamiku, Anakku Azzahwa, serta seluruh keluarga dan teman-temanku.

## SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan nikmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.S., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung
2. Prof. Drs. Mustofa, M.A., Ph.D. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. selaku Ketua Program Studi Magister Agronomi Universitas Lampung atas motivasi, dukungan serta perhatian selama ini sehingga penulis akhirnya mampu menyelesaikan tesis.
4. Dr. Ir. Maria Viva Rini, M.Sc., selaku pembimbing utama yang telah memberi ilmu pengetahuan, motivasi, semangat, bimbingan, dan arahan dalam melakukan penelitian.
5. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku pembimbing kedua yang telah memberi ilmu pengetahuan, saran, dan bimbingan dalam penelitian ini.
6. Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku penguji atas saran, kritik, dan bimbingan dalam penelitian ini.

7. Bapak Mahmudin Ibrahim, S.P. dan Ibu Sulha Kori, S.Pd. sebagai orang tua penulis.
8. Suami Reza Handika, S.A.N., M.Si. dan anak tercinta (Anindita Azzahwa) atas semua pengertian dan perhatiannya.
9. Myco Family (Mbak Anggun, Retta, Novri, Usnaqul, David, Itsna, dan Silfi) yang selalu menyemangati.

Bandar Lampung, Januari 2019

Penulis,

Novi Safitri

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>vi</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan .....	7
1.3. Landasan Teori.....	8
1.4. Kerangka Pemikiran .....	14
1.5. Hipotesis .....	18
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>20</b>
2.1. Tanaman Kelapa Sawit.....	20
2.2. Pemupukan Kelapa Sawit.....	21
2.3. Fungi Mikoriza Arbuskular .....	23
2.4. Mutasi.....	24
2.5. Radiasi Ultraviolet.....	26
2.6. <i>Ethyl methanesulfonate</i> .....	27
<b>III. BAHAN DAN METODE .....</b>	<b>29</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	29
3.2. Bahan dan Alat Penelitian .....	29

3.3.	Percobaan 1: Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan unsur hara N dan P pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi fungi dan bakteri tanah .....	30
3.3.1.	Rancangan percobaan dan analisis data .....	30
3.3.2.	Pelaksanaan Penelitian .....	31
3.4.	Percobaan II: Perakitan mutan FMA melalui iradiasi sinar UV dan perendaman EMS .....	35
3.4.1.	Rancangan percobaan dan analisis data .....	35
3.4.2.	Pelaksanaan Penelitian .....	36
3.5.	Percobaan III: Kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dan <i>wild type</i> .....	42
3.5.1.	Rancangan percobaan dan analisis data .....	42
3.5.2.	Pelaksanaan Penelitian .....	42
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>50</b>
4.1.	Hasil Penelitian .....	50
4.1.1.	Percobaan I: Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan N total, P tersedia, dan P total pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi bakteri dan fungi di dalam tanah .....	50
4.1.2.	Percobaan II: Perakitan mutan FMA melalui iradiasi sinar ultraviolet dan perendaman <i>ethyl methanesulfonate</i> .....	52
4.1.3.	Percobaan III: Kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dan <i>wild type</i> .....	56
4.2.	Pembahasan.....	57
4.2.1.	Percobaan I: Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan N total, P tersedia, dan P total pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi bakteri dan fungi di dalam tanah.....	57
4.2.2.	Percobaan II: Perakitan mutan FMA melalui iradiasi sinar ultraviolet dan perendaman <i>ethyl methanesulfonate</i> .....	62
4.2.3.	Percobaan III: Kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dan <i>wild type</i> .....	66

<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>73</b>
5.1 Simpulan.....	73
5.2 Saran.....	74
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>75</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>80</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rekapitulasi analisis ragam pengaruh cara pemupukan.....	50
2. Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan N total .....	51
3. Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan P tersedia .....	51
4. Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan P total.....	51
5. Total populasi bakteri di tanah perlakuan pemupukan .....	52
6. Total populasi fungi di tanah perlakuan pemupukan .....	52
7. Persentase perkecambahan FMA <i>Entrophospora</i> sp. hasil penyinaran UV terhadap kondisi N tinggi pada 4 MST .....	53
8. Persentase perkecambahan FMA <i>Entrophospora</i> sp. hasil penyinaran UV terhadap kondisi P tinggi pada 4 MST .....	53
9. Persentase perkecambahan FMA <i>Entrophospora</i> sp. hasil penyinaran UV terhadap kondisi campuran N dan P tinggi pada 4 MST.....	54
10. Persentase perkecambahan FMA <i>Entrophospora</i> sp. hasil perendaman EMS terhadap kondisi N tinggi pada 4 MST .....	55
11. Persentase perkecambahan FMA <i>Entrophospora</i> sp. hasil perendaman EMS terhadap kondisi P tinggi pada 4 MST.....	55
12. Persentase perkecambahan FMA <i>Entrophospora</i> sp. hasil perendaman EMS terhadap kondisi N dan P tinggi pada 4 MST .....	56
13. Persen infeksi akar FMA <i>wild type</i> dan diduga mutan .....	57

14. Tingkat persen infeksi akar .....	71
15. Deskripsi FMA <i>Entrophospora</i> sp. Isolat MV 29.....	80
16. Jumlah spora perlakuan mutan terpilih yang berkecambah di larutan N dan P tinggi pada Percobaan II.....	81
17. Kriteria sifat kimia tanah (Murtert, 1999).....	81
18. Persen infeksi akar FMA dan wild type .....	82

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Perkembangan luas areal kelapa sawit menurut status pengusahaan di Indonesia, 1980 — 2013 .....	2
2. Proses EMS membentuk DNA mutan .....	10
3. Bagian DNA sebelum dan setelah struktur terdistorsi oleh radiasi UV .....	11
4. Mekanisme perbaikan nukleotida-eksisi di Eukariots .....	12
5. Letak area alur pupuk di piringan kelapa sawit .....	32
6. Metode pengenceran sampel tanah .....	33
7. Metode <i>spread plate</i> pada isolasi bakteri dan fungi.....	34
8. Titik-titik pengambilan sampel tanah pada polibag.....	35
9. Akar bibit jagung yang siap diinokulasi kecambah FMA.....	46
10. Tanaman jagung yang diinokulasi FMA.....	47
11. Grafik total populasi bakteri dan jamur pada tanah kontrol dan perlakuan pupuk alur.....	60
12. Kecambah spora FMA perlakuan kontrol, tanpa perlakuan mutasi, diduga mutan UV, diduga mutan EMS .....	65
13. Bagian akar yang terinfeksi FMA .....	69
14. Infeksi akar FMA <i>wild type</i> , diduga mutan UV, diduga mutan EMS .....	69

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

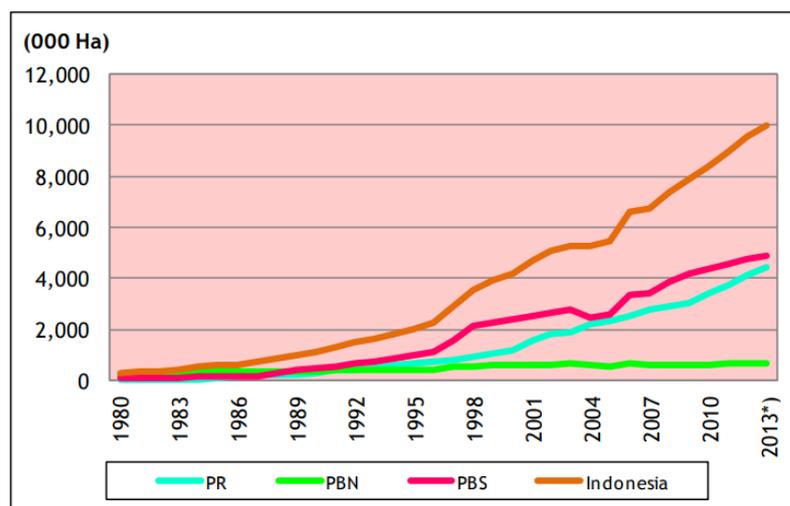
Fungi mikoriza arbuskular (FMA) adalah jenis fungi yang dapat bersimbiosis dengan 80% jenis tumbuhan yang ada di dunia. Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan salah satu tanaman yang dapat melakukan simbiosis mutualisme dengan FMA (Rini dkk., 2010; Rini, 2011). Aplikasi FMA pada akar tanaman kelapa sawit umumnya dilakukan pada saat pembibitan dengan tujuan menghasilkan bibit kelapa sawit yang berkualitas. Bibit yang berkualitas dan didukung dengan pemeliharaan yang baik diharapkan akan menjadi tanaman kelapa sawit yang memiliki produktivitas optimal.

Sejalan dengan perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan, saat ini varietas kelapa sawit unggul cenderung membutuhkan pemeliharaan yang intensif. Selain itu, lahan budidaya kelapa sawit umumnya berada pada lahan marginal sehingga membutuhkan masukan unsur hara yang lebih banyak dibandingkan budidaya pada lahan yang subur. Kedua aspek tersebut mengharuskan pemeliharaan, terutama pemupukan, yang baik dan tepat pada tanaman kelapa sawit untuk menghasilkan tanaman yang akan berproduksi optimal.

Usaha untuk mengoptimalkan produksi kelapa sawit tersebut dilandasi kesesuaian lahan di Indonesia untuk pengembangan kelapa sawit. Saat ini Indonesia adalah

penghasil minyak kelapa sawit terbesar di dunia. Berdasarkan data FAO, pada periode tahun 2007–2011 terdapat dua negara eksportir *Crude Palm Oil* (CPO) terbesar di dunia yang secara kumulatif memberikan kontribusi sebesar 85,37% terhadap total volume ekspor minyak sawit di dunia, yaitu Indonesia dan Malaysia. Indonesia berada di peringkat pertama negara eksportir minyak sawit terbesar di dunia dengan rata-rata kontribusi sebesar 42,99% dari total ekspor minyak sawit dunia (Pusat Data Sistem Informasi Pertanian, 2014).

Perkembangan luas areal kelapa sawit di Indonesia pada kurun waktu 1980–2013 cenderung meningkat (Gambar 1). Pada tahun 1980 luas areal kelapa sawit Indonesia sebesar 294,56 ribu hektar, karena perluasan area tanaman secara eksternsif, maka pada tahun 2013 telah mencapai 10,01 juta hektar. Pertumbuhan rata-rata selama periode tersebut sebesar 11,51% per tahun. Perkebunan besar swasta menguasai 50,08% luas areal kelapa sawit Indonesia, perkebunan rakyat 36,71%, sedangkan perkebunan besar negara hanya 13,20%.



(sumber: Pusat Data Sistem Informasi Pertanian, 2014)

Gambar 1. Perkembangan Luas Areal Kelapa Sawit Menurut Status Pengusahaan di Indonesia, 1980–2013.

Perluasan areal budidaya kelapa sawit ini disebabkan banyak faktor. Menurut Afifuddin dan Kusuma (2007), pembangunan subsektor kelapa sawit merupakan penyedia lapangan kerja yang cukup besar dan sebagai sumber pendapatan petani. Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas yang memiliki andil besar dalam menghasilkan pendapatan asli daerah, produk domestik bruto, dan kesejahteraan masyarakat. Lebih lanjut, Syahza (2011) menyatakan bahwa kegiatan perkebunan kelapa sawit telah memberikan pengaruh eksternal yang bersifat positif atau bermanfaat bagi wilayah sekitarnya. Manfaat kegiatan perkebunan terhadap aspek sosial ekonomi antara lain adalah peningkatan kesejahteraan masyarakat sekitar, memperluas lapangan kerja dan kesempatan berusaha, serta memberikan kontribusi terhadap pembangunan daerah.

Selain dampak positif tersebut, dalam budidaya kelapa sawit terdapat isu dampak negatif tentang pencemaran lingkungan terutama akibat residu pupuk.

Pemupukan yang relatif tinggi pada tanaman kelapa sawit ini dapat meninggalkan residu pupuk di sekitar area pemupukan. Residu pupuk tersebut dapat menekan populasi bahkan mengancam keberlangsungan hidup mikroorganisme tanah. Pada penelitian ini akan dilakukan percobaan simulasi pemupukan dengan dosis pupuk kelapa sawit tertinggi pada fase pertumbuhannya untuk mendapatkan jumlah kandungan unsur hara yang terdapat pada tanah setelah aplikasi perlakuan pupuk. Hasil percobaan tersebut selanjutnya akan diterapkan pada percobaan II, untuk membuktikan spora fungi mikoriza arbuskular dapat terancam keberadaannya diakibatkan oleh residu pupuk yang diaplikasikan. Hal ini menyebabkan terganggunya simbiosis antara FMA dan akar tanaman yang diharapkan akan menghasilkan produktivitas kelapa sawit yang optimal. Percobaan II juga

dilakukan untuk menghasilkan FMA yang tahan terhadap aplikasi pupuk yang tinggi tersebut. Salah satu cara untuk menghasilkan FMA yang tahan tersebut adalah melalui perakitan mutan.

Mutan merupakan individu yang memperlihatkan perubahan *genotipe* maupun *fenotipe* akibat mutasi. Mutasi merupakan perubahan materi genetik yang bersifat dapat diwariskan. Kesalahan apapun yang terjadi selama replikasi gen di dalam molekul DNA pada satu atau lebih basa nitrogen dapat menyebabkan mutasi. Meskipun sel mempunyai suatu mekanisme untuk meningkatkan ketepatan replikasi DNA, terkadang bisa terjadi suatu kesalahan spontan yang menimbulkan perubahan pada DNA dan dapat diwariskan (Stansfield dkk., 2003).

Mutasi dalam frekuensi rendah dapat terjadi secara alami di alam sebagai akibat radiasi sinar ultraviolet dan sinar radioaktif atau loncatan energi listrik seperti petir. Selain secara alami, mutasi dapat terjadi melalui sebuah perencanaan atau mutasi buatan. Mutasi buatan dapat dilakukan untuk mempercepat dan meningkatkan frekuensi terjadinya mutasi pada organisme. Mutasi buatan dilakukan dengan mengaplikasikan zat-zat kimia, sinar-X, sinar gamma, sinar alfa, dan beberapa jenis radiasi hasil sampingan tenaga nuklir pada organisme target (Stansfield dkk., 2003).

Pada penelitian perakitan mutan, spora FMA akan diberi perlakuan secara fisik dengan iradiasi sinar ultraviolet dan secara kimia dengan perendaman menggunakan *ethyl methanesulfonate* (EMS) untuk mendapatkan mutan FMA yang tahan terhadap pemupukan N dan P tinggi.

FMA yang diduga mutan pada penelitian perakitan mutan tersebut perlu diuji kemampuan simbiosisnya dengan tanaman. Sebagai tahap awal, kemampuan simbiosis FMA diduga mutan dapat diketahui melalui kolonisasi FMA pada akar tanaman (kemampuan infeksi akar). Salah satu cara untuk mengukur kemampuan infeksi akar tanaman oleh FMA adalah dengan menghitung persentase infeksi akar. Adanya struktur hifa eksternal, hifa internal, vesikula, arbuskula dan spora dari sampel akar yang diamati di bawah mikroskop dihitung sebagai akar yang terinfeksi.

Penelitian kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan membutuhkan tanaman inang yang kompatibel dan mudah diamati untuk proses selanjutnya agar hasil yang diperoleh benar-benar mencerminkan kemampuan FMA diduga mutan. Tanaman jagung digunakan sebagai tanaman inang pada penelitian ini disebabkan jenis tanaman inang yang umum digunakan untuk memperbanyak spora. Jagung merupakan tanaman semusim yang cepat tumbuh dan menghasilkan banyak akar serabut dibanding tanaman perenial sehingga perbanyakan FMA tidak membutuhkan waktu lama (Widiastuti, 2004). Selain itu, tanaman semusim seperti jagung merupakan inang sangat kompatibel dengan endomikoriza (Simanungkalit, 2003; Hapsah, 2008,) sehingga tanaman jagung merupakan inang yang digunakan untuk perbanyakan spora endomikoriza (Widiastuti, 2004).

Penelitian ini terdiri atas 3 percobaan, yaitu:

1. Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan unsur hara N dan P pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi fungi dan bakteri tanah.
2. Perakitan mutan FMA melalui iradiasi sinar UV dan perendaman EMS.

3. Kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dan *wild type*.

Secara khusus, ketiga percobaan tersebut akan dilaksanakan untuk menjawab pertanyaan berikut:

#### Percobaan I

1. Apakah perbedaan cara pemupukan mempengaruhi kandungan unsur hara N dan P di dalam tanah, serta total populasi fungi dan bakteri tanah?
2. Berapakah kandungan unsur hara N total, P tersedia dan P total setelah 6 minggu aplikasi pemupukan?

#### Percobaan II

1. Apakah mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi dapat diperoleh melalui iradiasi UV dan perendaman EMS?
2. Berapa lama iradiasi UV untuk menghasilkan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi terbanyak?
3. Berapa konsentrasi EMS yang diperlukan untuk menghasilkan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi terbanyak?

#### Percobaan III

1. Apakah terdapat perbedaan kemampuan menginfeksi akar tanaman antara FMA *wild type* dan FMA diduga mutan?
2. Apakah terdapat perbedaan kemampuan menginfeksi akar tanaman antara FMA yang berkecambah lebih dahulu dan FMA yang berkecambah lebih lama?

## 1.2 Tujuan

Berdasarkan identifikasi masalah dan perumusan masalah, tujuan penelitian disusun sebagai berikut:

### Percobaan I

1. Untuk mengetahui apakah perbedaan cara pemupukan mempengaruhi kandungan unsur hara N dan P, serta total populasi fungi dan bakteri tanah.
2. Untuk menentukan berapa kandungan tertinggi unsur hara N total, P tersedia, dan P total di tanah perlakuan aplikasi pemupukan.

### Percobaan II

1. Untuk mengetahui apakah mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi dapat diperoleh melalui iradiasi UV dan perendaman EMS.
2. Untuk menentukan berapa lama iradiasi UV untuk menghasilkan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi terbaik.
3. Untuk menentukan berapa konsentrasi EMS yang diperlukan untuk menghasilkan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi terbanyak.

### Percobaan III

1. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kemampuan menginfeksi akar tanaman antara FMA *wild type* dan FMA diduga mutan.
2. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kemampuan menginfeksi akar tanaman antara FMA yang berkecambah lebih dahulu dan FMA yang berkecambah lebih lama.

### 1.3 Landasan teori

Saat ini Indonesia adalah produsen terbesar minyak sawit di dunia. Hal ini menjadikan kelapa sawit sebagai komoditi perkebunan yang penting di Indonesia sebagai sumber perolehan devisa negara. Keterbatasan kemampuan lahan dalam penyediaan unsur hara secara terus-menerus bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman kelapa sawit mengharuskan adanya penambahan unsur hara melalui pemupukan (FAOSTAT, 2014).

Pupuk kimia sering digunakan sebagai solusi utama dalam upaya peningkatan produksi pertanian. Fungsi utama pupuk kimia adalah sebagai penambah unsur hara tanaman, tetapi penggunaan pupuk kimia dalam jangka waktu panjang dan dosis yang berlebihan memiliki dampak buruk bagi tanaman dan kondisi tanah. Penggunaan pupuk kimia secara terus-menerus dapat merusak kehidupan organisme tanah (dapat mengurangi dan menekan populasi organisme tanah yang sangat bermanfaat bagi tanah dan tanaman), menurunkan kesuburan dan kesehatan tanah, dan dapat merusak keseimbangan ekosistem tanah (Leiwakabessy dan Sutandi, 2004). Pemupukan yang tidak sesuai dengan kebutuhan hara tanaman (berlebihan) selain tidak efisien juga dapat mencemari lingkungan, salah satunya adalah menyebabkan kerusakan tanah.

Kerusakan tanah secara garis besar dapat digolongkan menjadi tiga kelompok utama, yaitu kerusakan sifat fisik, kimia, dan biologi tanah. Kerusakan kimia tanah dapat terjadi karena proses pemasaman tanah, salinisasi, dan tercemar logam berat. Salah satu sebab terjadinya pemasaman tanah dapat diakibatkan oleh penggunaan pupuk nitrogen buatan secara terus menerus dalam jumlah besar.

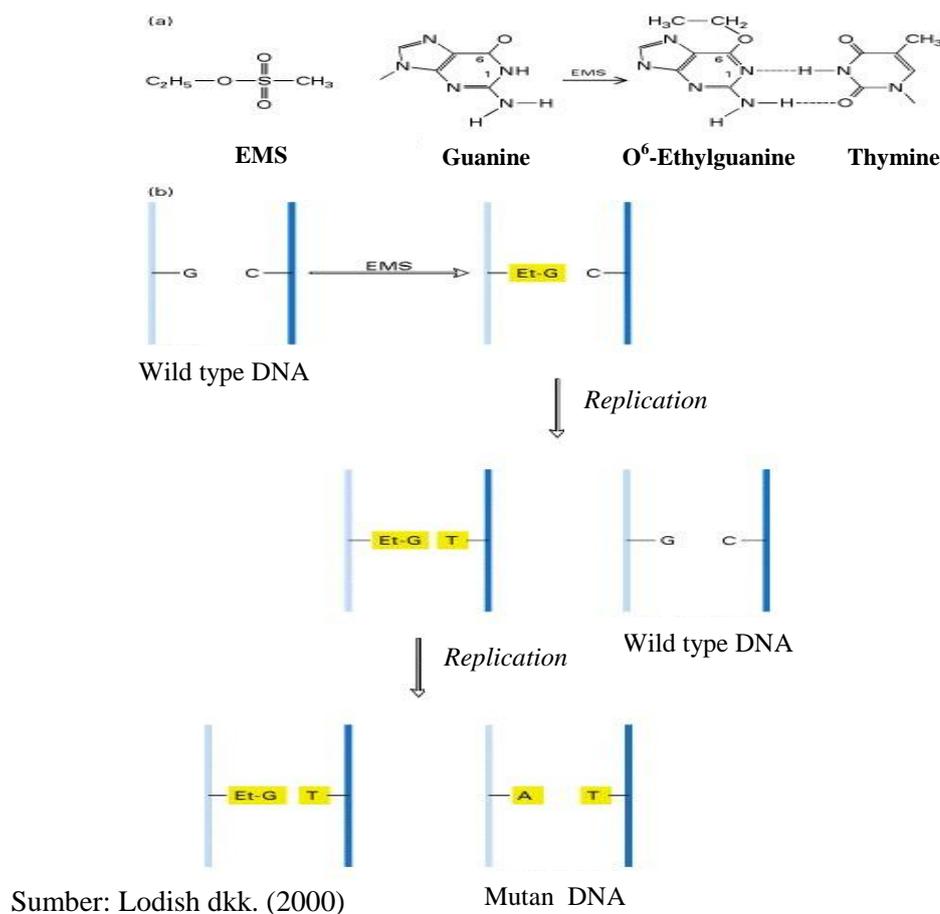
Kerusakan tanah secara fisik dapat diakibatkan karena kerusakan struktur tanah yang dapat menimbulkan pemadatan tanah. Kerusakan struktur tanah ini dapat terjadi akibat pengolahan tanah yang salah atau penggunaan pupuk kimia secara terus menerus. Kerusakan biologi ditandai oleh penyusutan populasi maupun berkurangnya biodiversitas organisme tanah (Djajakirana, 2001).

Penyusutan populasi dan biodiversitas organisme tanah akan menyebabkan menurunnya kesuburan tanah serta mengganggu simbiosis antara mikroba tanah dan tanaman. Upaya menghasilkan mikroba tanah yang tahan terhadap pencemaran lingkungan akibat pemupukan ini dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah dengan mutasi. Mutasi secara umum dibedakan dalam dua kelompok, yaitu mutasi alami dan mutasi buatan. Mutasi alami (spontan) adalah perubahan yang terjadi secara alamiah atau dengan sendirinya, diduga faktor penyebabnya adalah panas, radiasi sinar kosmis, sinar ultraviolet matahari, radiasi dan ionisasi internal mikroorganisme serta kesalahan DNA (*deoxyribonucleic acid*) dalam metabolisme. Mutasi buatan adalah mutasi yang diinduksi, sebagai salah satu cara untuk menimbulkan keragaman genetik. Mutasi dapat diinduksi dengan cara fisik menggunakan radiasi atau dengan cara kimia menggunakan senyawa yang bersifat mutagen, serta penggunaan elemen transposon yang dikenal dengan mutagenesis insersi (van Harten, 1998).

Mutasi buatan telah memberikan kontribusi nyata terhadap perbaikan tanaman di dunia (Maluszynski dkk., 1995). Mutasi radiasi umumnya menggunakan sinar-x atau gamma, sedangkan mutasi kimia antara lain menggunakan *colchicin*, *dietil sulfat* (DES), *etilenimin* (EI), *nitroso etil urea*, *nitroso metil urea*, dan *etil metan*

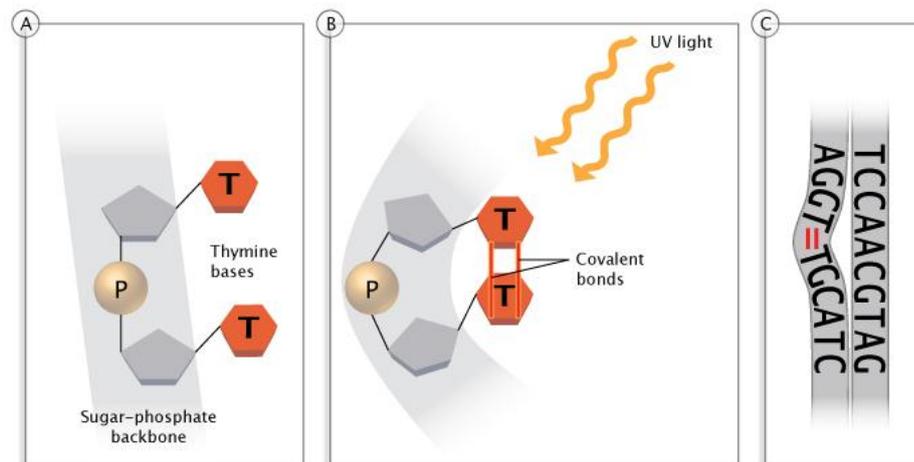
*sulfonat* (EMS). EMS termasuk senyawa alkil yang mempunyai potensi tinggi sebagai mutagen yang efisien untuk tanaman tingkat tinggi. EMS merupakan mutagen kimia yang paling banyak digunakan karena mudah dibeli, harganya relatif lebih murah dan tidak meninggalkan racun setelah terhidrolisis (van Harten, 1998).

*Ethyl methane sulfonate* akan membentuk O<sub>6</sub>-ethylguanine (Gambar 2). Selama replikasi DNA berikutnya, O<sub>6</sub>-ethylguanine mengarahkan penggabungan deoxythymidylate, tidak deoxycytidylate, mengakibatkan pembentukan sel-sel mutan, yaitu pasangan basa G – C diganti dengan pasangan basa A – T (Lodish dkk., 2000).



Gambar 2. Proses EMS membentuk DNA mutan.

Proses terjadinya mutasi akibat EMS berbeda dibandingkan proses mutasi akibat sinar UV. Sinar UV dapat menyebabkan terbentuknya ikatan kovalen antara dua molekul timin, menghasilkan timin dimer. Timin dimer ini menyebabkan kerusakan serius dan kematian sel karena DNA dengan timin dimer tidak dapat direplikasi dan ditranskripsi (Gambar 3). Komponen sinar UV yang bersifat paling *mutagenic* adalah pada panjang gelombang 254–260nm. Bakteri dan organisme lain memiliki mekanisme perbaikan (*repair*) terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh radiasi sinar UV. Ada dua macam mekanisme perbaikan, yaitu perbaikan dengan cahaya (*light repair*) dan perbaikan tanpa cahaya (*dark repair*) (Pierce, 2005).

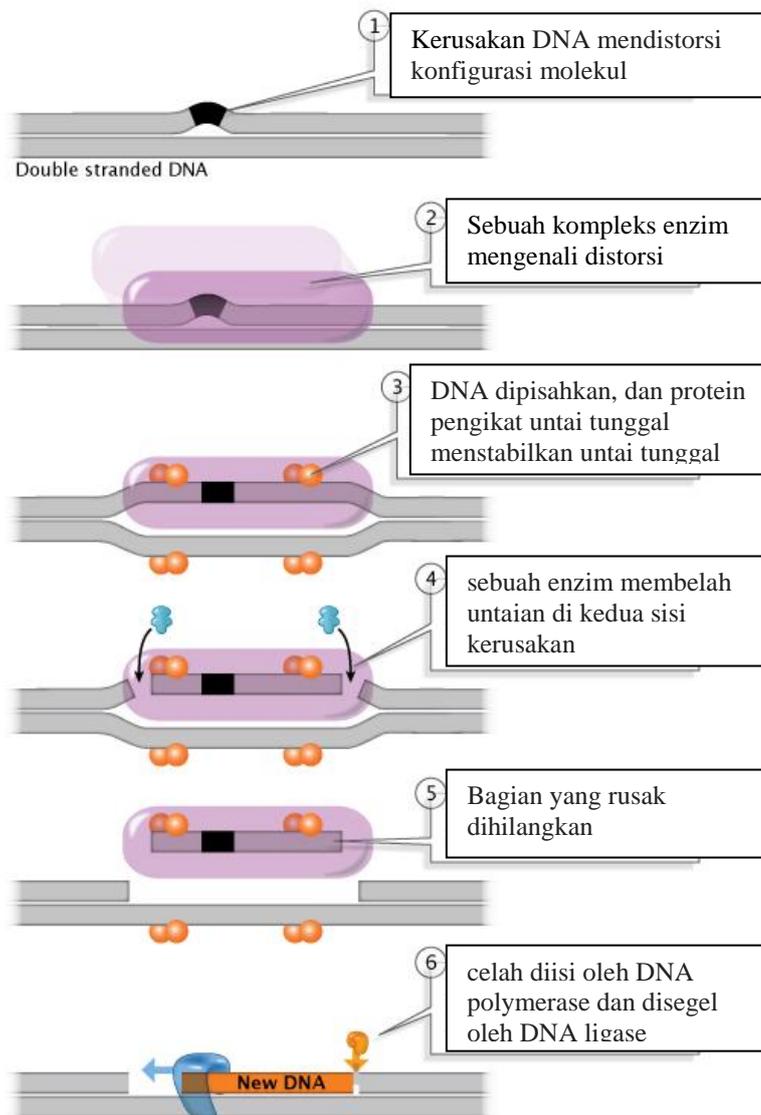


(Sumber: Pierce, 2005)

Gambar 3. Bagian DNA sebelum (A) dan setelah (B) struktur terdistorsi oleh radiasi UV. Distorsi terjadi karena adanya bend yang cembung pada satu strand (C).

Pada perbaikan dengan cahaya (*light repair*), bakteri memiliki enzim fotoliase yang menggunakan energi cahaya visible untuk memisahkan ikatan dimer timin. Sedangkan pada perbaikan tanpa cahaya (*dark repair*), cahaya tidak diperlukan dalam mekanisme perbaikan. Mekanisme perbaikan ini disebut juga sebagai

*nucleotide excision repair*. Pada mekanisme ini, enzim bakteri dapat memotong bagian timin DNA yang rusak dan menghasilkan bagian yang terbuka. Enzim yang lain akan mengisi *gap* (bagian yang terbuka) ini dengan DNA baru yang komplementer dengan rantai DNA yang tidak rusak (Gambar 4). Langkah terakhir adalah reaksi penyegelan (*sealing*) oleh enzim DNA *ligase* (Pierce, 2005).



(Sumber: Pierce, B., 2005)

Gambar 4. Mekanisme perbaikan nukleotida-eksisi di Eukariots.

Hasil penelitian mutasi pada kacang tanah menunjukkan frekuensi mutasi tinggi diperoleh pada kacang tanah yang diberi perlakuan EMS dengan konsentrasi 0,25 – 0,5% (Gowda dkk., 1996). Pada tanaman barley, EMS menimbulkan laju mutasi hingga 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan radiasi sinar-x, terutama untuk mutasi klorofil (van Harten, 1998). Kombinasi antara EMS (0,3%) dan dimetil sulfonat atau DMSO (4%) telah berhasil meningkatkan frekuensi mutasi pada tanaman pisang (Matsumoto dkk., 1995).

Selain penelitian pada tanaman, penelitian mutasi juga telah dilakukan pada mikroorganisme. Penelitian El Bondkly dan Keera (2007) menunjukkan bahwa iradiasi sinar UV 10 menit pada *Penicillium roquefortii* menghasilkan jumlah varian morfologis tertinggi (15,3%) dibandingkan iradiasi sinar UV 5 dan 15 menit (10,5% dan 5,2%). Di pihak lain, pertumbuhan *Penicillium roquefortii* menurun tajam dengan meningkatnya dosis EMS. Perlakuan EMS 100µl/ml perendaman selama 30 menit menghasilkan persentase pertumbuhan 20,8%.

Menurut Stanbury dan Whitaker (1984), kemampuan metabolisme suatu organisme dikendalikan oleh genom, sehingga peningkatan kapasitas bakteri dapat dilakukan melalui induksi mutasi genom salah satunya adalah dengan induksi mutasi menggunakan sinar UV. Adanya mutasi, diharapkan terjadi perubahan genetik ke arah yang lebih baik dalam melakukan metabolisme substrat, karena mikroba liar atau *wild type* seringkali memiliki beragam jalur metabolisme, sehingga melalui mutasi dapat lebih mudah diarahkan untuk dapat memproduksi satu komponen utama atau mengarahkan mikroba untuk menghasilkan metabolit yang betul-betul baru.

Berdasarkan dari hasil penelitian Fahrudin (2011), diketahui bahwa penyinaran UV dapat mempengaruhi kemampuan metabolisme suatu mikroba, seperti hilangnya kemampuan dalam melakukan metabolisme terhadap substrat tertentu yang disebut defisiensi metabolisme. Menurut Bainbridge (1980), defisiensi metabolisme terjadi pada kebanyakan metabolisme gula yang dikatalisis oleh enzim sederhana yang dikontrol oleh gen tunggal yang dapat menyebabkan hilangnya fungsi biokimia secara spesifik pada mutan mikroba yang disebut mutan biokimia. Menurut Sikkema dkk. (1995), secara alamiah sel bakteri selalu melakukan sejumlah perubahan mekanisme biokimia dan reorganisasi DNA yang bertujuan agar mampu merespon lingkungan yang ekstrim.

#### **1.4 Kerangka pemikiran**

Pengoptimalan produksi kelapa sawit di Indonesia terkendala banyak isu negatif salah satunya adalah pencemaran lingkungan. Pencemaran ini umumnya akibat penggunaan bahan-bahan kimia, terutama residu pemupukan. Cara pemupukan kelapa sawit di lapangan umumnya dilakukan dengan cara sebar dan alur, dimana kedua cara ini menghasilkan efisiensi pupuk yang berbeda dan terdapat kontak tanah dan pupuk pada konsentrasi pupuk yang berbeda. Pemupukan dengan cara alur, menyebabkan pupuk yang diberikan terkonsentrasi tinggi pada permukaan tanah yang dialur dibandingkan dengan cara pemupukan sebar dengan dosis yang sama. Sehingga dikhawatirkan dampak negatif lebih tinggi terjadi pada cara pemupukan alur.

Pemupukan yang intensif pada budidaya kelapa sawit akan meninggalkan residu pupuk yang dapat mempengaruhi keberadaan mikroba tanah. Salah satu dampak

negatif yang diduga akibat residu pupuk ini adalah populasi mikroba tanah menurun atau bahkan mikroba tanah dapat mati. Fungi mikoriza arbuskular yang merupakan salah satu mikroba tanah yang simbiosisnya dengan akar tanaman kelapa sawit diharapkan mampu mendukung produksi tanaman yang optimal, populasinya dapat menurun atau bahkan mati. Untuk dapat terus memperoleh manfaat dari simbiosis antara FMA dan akar tanaman kelapa sawit ini, perlu dilakukan perakitan FMA yang tahan dengan kondisi lingkungan dengan kandungan pupuk yang relatif tinggi. Perakitan FMA tahan pemupukan tinggi ini, salah satunya dapat dilakukan dengan mutasi buatan. Secara alami mutasi dapat terjadi namun dalam waktu relatif lama dan jumlah mutan yang sedikit. Untuk itu mutasi buatan perlu dilakukan untuk mendukung tujuan pengoptimalan produksi tanaman kelapa sawit. Mutasi buatan dapat dilakukan dengan berbagai cara melalui fisik dan kimia.

Secara fisik, spora FMA diiradiasi dengan sinar ultraviolet. Sinar ultraviolet mempunyai kemampuan sebagai mutagen dan pada dosis yang tinggi dapat membunuh sel. Interaksi ultraviolet dengan materi genetik tergantung pada panjang gelombang serta penyerapan energi radiasi pada materi genetik melalui reaksi fotokimia. Radiasi ini dapat menyebabkan kerusakan biologi yang dapat diperbaiki jika panjang gelombang rendah. Namun, jika kerusakan yang ditimbulkan besar maka dapat terjadi mutasi permanen.

Waktu iradiasi UV yang menghasilkan jumlah mutan tertinggi dapat diperoleh dengan merujuk pada penelitian terdahulu tentang perakitan mutan pada mikroorganisme khususnya fungi. Studi pustaka untuk memperoleh mutan FMA

dengan jumlah mutan tertinggi mengacu pada hasil penelitian yang dilakukan oleh El Bondkly dan Keera (2007) pada mikroorganisme *Penicillium roquefortii*.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa iradiasi sinar UV selama 10 menit menghasilkan jumlah varian morfologis tertinggi dibandingkan iradiasi sinar UV selama 5 menit dan 15 menit. Hal serupa diduga dapat terjadi pada perakitan mutan FMA. Iradiasi UV yang lebih lama dari 10 menit akan menyebabkan sel FMA mati. Sebaliknya, jika iradiasi UV kurang dari 10 menit dikhawatirkan proses pembentukan ikatan kovalen yang disebabkan oleh sinar UV belum terjadi sehingga mutan belum terbentuk.

Secara kimia, spora diberi perlakuan perendaman dengan larutan EMS. Senyawa EMS merupakan senyawa alkil. Agen alkilasi akan mengintroduksi gugus alkil ke dalam basa pada sejumlah posisi sehingga menyebabkan perubahan basa yang akibatnya akan terbentuk pasangan basa yang tidak lazim. Pasangan basa yang tidak lazim tersebut jika tidak diperbaiki akan menghambat proses replikasi normal, hal tersebut menyebabkan terjadinya mutasi yang diturunkan ataupun kematian sel. Merujuk kembali pada hasil penelitian El Bondkly dan Keera (2007) pada mikroorganisme *Penicillium roquefortii*, yang menunjukkan bahwa perlakuan EMS 100µl/ml (100 ppm) perendaman selama 30 menit menyebabkan penurunan secara tajam pada pertumbuhan *Penicillium roquefortii*. Hal ini juga diduga dapat terjadi pada perakitan mutan FMA. Namun lama perendaman FMA dengan EMS perlu ditingkatkan, hal ini berkaitan dengan ukuran spora FMA yang akan diberi perlakuan EMS (*Entrophospora* sp.) ± 100x lebih besar dari spora *Penicillium roquefortii*. Perendaman EMS akan dilakukan dua kali lebih lama (60 menit) namun dosis EMS akan diturunkan ½ dosis. Sehingga diharapkan hasil

perlakuan perendaman EMS pada perakitan mutan FMA akan mendekati hasil penelitian terdahulu pada mikroorganisme *Penicillium roquefortii*. Perendaman EMS dengan dosis 50 ppm selama 60 menit dikhawatirkan dapat mematikan sel FMA, namun jika dosis FMA terlalu rendah (misal 10 ppm) dikhawatirkan proses pembentukan sel-sel mutan pada FMA tidak terjadi. Sehingga diharapkan perlakuan perendaman EMS dengan dosis sedang (30 ppm) dapat menghasilkan mutan FMA.

Spora yang telah diaplikasikan perlakuan iradiasi sinar UV dan perendaman EMS tersebut perlu dikecambahkan pada larutan unsur hara N dan P tinggi serta campuran keduanya untuk mendapatkan mutan sesuai tujuan awal. Spora yang mampu berkecambah pada larutan N dan P tinggi serta campuran keduanya diduga adalah spora FMA mutan hasil perlakuan.

Untuk dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang tidak sesuai suatu spesies dapat melakukan perubahan materi genetik atau melakukan proses mutasi sehingga fenotipe yang muncul tidak lagi sama persis dengan fenotipe semula. Oleh karena itu, inokulasi kecambah FMA diduga mutan dilakukan untuk memastikan apakah proses mutasi (baik iradiasi UV maupun perendaman EMS) mempengaruhi kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dibanding tipe spora asalnya (*wild type*). Kemampuan infeksi akar tanaman selanjutnya dinilai berdasarkan persen infeksi akar yang terdapat pada akar tanaman. Mikroba (salah satunya FMA) tipe asal (*wild type*) seringkali memiliki beragam jalur metabolisme, sehingga setelah diperoleh mutan sebagai hasil dari proses mutasi diharapkan terjadi perubahan genetik ke arah yang lebih baik. Spora FMA diduga

mutan diharapkan mampu menginfeksi akar lebih baik (persen infeksi akar lebih tinggi) dibanding spora FMA *wild type*. Selanjutnya perbedaan waktu yang diperlukan spora untuk berkecambah diduga mempengaruhi kemampuan berkecambah, dimana spora yang terlebih dahulu berkecambah dianggap memiliki viabilitas yang paling baik sehingga menghasilkan persen infeksi akar yang lebih tinggi dibandingkan dengan spora FMA yang berkecambah lebih lama.

### **1.5 Hipotesis**

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

#### Percobaan I

1. Perbedaan cara pemupukan memberikan pengaruh yang berbeda pada kandungan unsur hara N dan P tanah terpapar pupuk, serta total populasi fungi dan bakteri tanah.
2. Terdapat kandungan unsur hara N total, P tersedia dan P total yang tertinggi di tanah yang diaplikasikan pupuk.

#### Percobaan II

1. Mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi dapat diperoleh melalui iradiasi UV dan perendaman EMS.
2. Waktu iradiasi UV 10 menit menghasilkan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi terbanyak.
3. Larutan EMS 30 ppm menghasilkan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi terbanyak.

### Percobaan III

1. Persen infeksi akar FMA diduga mutan lebih tinggi daripada FMA *wild type*.
2. Persen infeksi akar FMA yang berkecambah lebih dahulu lebih tinggi daripada FMA yang berkecambah lebih lama.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman kelapa sawit

Tanaman kelapa sawit di Indonesia dibawa oleh Dr. D.T. Pryce sebanyak empat benih, 2 benih dari Bourbon-mauritius dan 2 benih dari Amsterdam (jenis Dura) untuk dijadikan sebagai tumbuhan koleksi Kebun Raya Bogor tahun 1848. Biji kelapa sawit dari Kebun Raya Bogor tersebut kemudian disebar untuk ditanam menjadi tanaman hias sekaligus percobaan uji lokasi di Pulau Jawa, Sulawesi, Kalimantan, Nusa Tenggara, Maluku, dan Sumatera (Sipayung, 2017).

Saat ini, kelapa sawit terbagi menjadi 2 jenis, yaitu *Elaeis guineensis* dan *Elaeis oleifera*. Kelapa sawit *Elaeis guineensis* dikenal sebagai kelapa sawit Afrika karena berasal dari Afrika Barat seperti Guinea, Angola, dan Gambia, sedangkan *Elaeis oleifera* adalah kelapa sawit Amerika karena berasal dari daerah Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Menurut Lubis (2008), taksonomi dari tanaman kelapa sawit adalah sebagai berikut:

Divisi : Tracheophyta  
Subdivisi : Pteropsida  
Kelas : Angiospermeae  
Subkelas : Monocotyledoneae  
Ordo : Coccoideae

Famili : Palmae  
Subfamili : Cocoideae  
Genus : *Elaeis*  
Spesies : 1. *Elaeis guineensis* Jacq.

2. *Elaeis oleifera* (H.B.K.) Cortes

*Elaeis* berasal dari *Elaion* berarti minyak dalam bahasa Yunani. *Guineensis* berasal dari Guinea (pantai barat Afrika), Jacq berasal dari nama Botanist Amerika Jacquin.

## 2.2 Pemupukan kelapa sawit

Pupuk adalah sumber hara utama yang menentukan tingkat pertumbuhan dan produksi tanaman kelapa sawit. Oleh sebab itu, pemupukan perlu dilakukan secara efisien dan efektif karena biaya yang dibutuhkan dalam pemupukan tidaklah sedikit. Menurut Darmosarkoro (2003), biaya pemupukan kurang lebih 24% dari total biaya produksi atau sekitar 40–60% dari total biaya pemeliharaan. Pemupukan yang efektif dan efisien harus memperhatikan 5T yaitu tepat dosis, tepat cara, tepat waktu, tepat jenis, dan tepat tempat.

Manajemen pemupukan yang baik pada kelapa sawit harus mengacu pada konsep efektivitas dan efisiensi. Tujuan dari manajemen aplikasi pupuk di perkebunan kelapa sawit yaitu menciptakan kondisi kesuburan tanah yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan kelapa sawit sehingga dapat memberikan produksi yang ditargetkan sesuai dengan produktivitas kelas lahannya (Adiwiganda, 2007). Menurut Andayani (2008), pemupukan merupakan upaya untuk menyediakan unsur hara yang cukup untuk mendorong pertumbuhan

vegetatif tanaman dan produksi tandan buah segar (TBS) secara maksimum dan ekonomis, serta untuk ketahanan terhadap hama dan penyakit. Pemberian pupuk yang tepat dapat meningkatkan produksi untuk mencapai produktivitas standar yang sesuai dengan kelas kesesuaian lahan.

Pengetahuan tentang jenis dan kegunaan unsur hara merupakan hal penting dalam kegiatan pemupukan di perkebunan kelapa sawit. Pengetahuan ini bertujuan untuk meningkatkan ketepatan baik jumlah, saat pemupukan, dan efektivitas pupuk terhadap produksi tanaman. Beberapa unsur hara yang penting bagi kelapa sawit, antara lain:

1. Nitrogen (N), unsur hara ini diperlukan dalam jumlah banyak dan berguna bagi pertumbuhan tanaman, pembentukan protein, dan sintesis klorofil.  
Kekurangan unsur N mengakibatkan pertumbuhan tanaman menurun dan produksi daun juga menurun. Gejala kekurangan N adalah pertumbuhan terhambat dan daun tua berwarna hijau pucat kekuningan. Sumber pupuk yang mengandung N adalah Urea atau ZA.
2. Fosfor (P), merupakan unsur hara yang diperlukan dalam jumlah banyak, berperan dalam proses transfer energi sebagai penyusun ADP/ATP maupun penyusun kode genetik tanaman, memperkuat perakaran dan batang tanaman, serta meningkatkan mutu buah. Kekurangan P menyebabkan tanaman tumbuh kerdil dan daun berwarna keunguan. Sumber unsur hara P antara lain pupuk SP-18, rock phosphat, atau SP-36.
3. Kalium (K), unsur ini juga diperlukan dalam jumlah banyak, penting untuk penyusunan minyak, pengaktifan enzim, mengangkut hasil fotosintesis dan mempengaruhi jumlah dan ukuran tandan. Kekurangan unsur K akan terjadi

pada daun tua karena K diangkut ke daun muda. Gejalanya akan timbul bercak transparan, lalu mengering. Sumber unsur hara K adalah pupuk KCl (Firmansyah, 2011).

### **2.3 Fungi Mikoriza Arbuskular**

Mikoriza merupakan bentuk asosiasi fungi tanah dengan akar tanaman. Fungi mikoriza arbuskular dengan akar tanaman membentuk jalinan interaksi yang kompleks. Asosiasi FMA dengan tanaman merupakan suatu bentuk hubungan simbiosis mutualistik. Tanaman dipermudah dalam pengambilan unsur hara dan adaptasi tanaman akan lebih baik pada lingkungan. Di pihak lain, fungi dapat memenuhi keperluan hidupnya (karbohidrat dan keperluan tumbuh lainnya) dari eksudat akar dan fotosintat tanaman inang (Anas, 1997).

Smith dan Read (2008) membagi mikoriza kedalam dua subdivisi besar yaitu ektomikoriza dan endomikoriza. Ektomikoriza dicirikan dengan adanya mantel dan jaringan hartig hifa interselular di akar tanaman, sedangkan endomikoriza memiliki ciri hifa intraselular. Endomikoriza terdiri atas fungi mikoriza arbuskular (FMA), ericoid mikoriza, dan orchid mikoriza.

Fungi mikoriza arbuskular adalah fungi obligat yang paling banyak bersimbiosis dengan jenis tanaman inang. Tanaman yang bersimbiosis dengan FMA antara lain dari golongan angiospermae, gimnospermae, pterodopita, dan semua tanaman yang memiliki akar (Read dkk., 2000). FMA dicirikan dengan adanya intraradikal hifa, arbuskula, ekstraradikal miselium (hifa yang menghubungkan akar dengan tanah), dan spora yang terbentuk di ekstraradikal miselium. Beberapa jenis fungi

membentuk intraradikal struktur yang disebut sebagai vesikel (hifa yang membesar yang berisikan lemak). Arbuskula adalah struktur yang berfungsi sebagai tempat pertukaran metabolit antara fungi dan tanaman. Adanya arbuskula sangat penting untuk mengidentifikasi bahwa telah terjadi infeksi pada akar tanaman. Vesikula berbentuk globose dan berasal dari menggelembungnya hifa internal FMA. Vesikula berfungsi sebagai organ reproduktif atau organ yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan makanan yang kemudian diangkut ke dalam sel, tempat pencernaan oleh sel berlangsung.

FMA yang banyak ditemukan berasal dari genus *Acaulospora* dan *Glomus*. Hutan alami dengan beragam umur tanaman dan jenisnya sangat mendukung pertumbuhan FMA. Konservasi hutan untuk pertanian akan mengurangi keragaman jenis dan jumlah FMA karena jenis tanaman, unsur hara yang tersedia, dan kandungan bahan organik tanah telah berubah. Praktik pertanian seperti pengolahan tanah, perbaikan bahan organik, pemupukan, dan penggunaan pestisida sangat berpengaruh terhadap keberadaan FMA (Joner, 2000). Pengolahan tanah yang intensif akan merusak jaringan hifa eksternal, sebaliknya pengolahan tanah minimal akan meningkatkan populasi FMA. Sistem tumpang sari atau pergiliran tanaman juga dapat meningkatkan populasi FMA (McGonigle dkk., 1999).

## **2.4 Mutasi**

Mutasi adalah perubahan susunan atau konstruksi dari gen maupun kromosom suatu individu tanaman, sehingga memperlihatkan penyimpangan (perubahan) dari individu asalnya dan bersifat baka (turun-temurun). Mutasi dapat terjadi

secara alamiah, tetapi frekuensinya sangat rendah. Untuk mempercepat terjadinya mutasi dapat dilakukan secara buatan dengan memberikan perlakuan-perlakuan sehingga terjadi mutasi (*induced mutation*). Mutasi pada tanaman dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada bagian-bagian tanaman baik bentuk maupun warnanya juga perubahan pada sifat-sifat lainnya (Herawati dan Setiamihardja, 2000).

Berdasarkan kejadiannya mutasi ada 2, yaitu mutasi alami dan mutasi buatan (mutasi terinduksi). Mutasi alami terjadi secara alamiah dan spontan di dalam tubuh makhluk hidup tanpa ada bantuan manusia. Mutasi alami jarang terjadi, sedangkan mutasi buatan (terinduksi) adalah mutasi yang terjadi karena adanya bantuan manusia. Mutasi terinduksi dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu energi dan kimia. Cara mutasi yang termasuk dalam kategori energi adalah sinar x, sinar gamma, sinar beta, neutron cepat dan neutron lambat, partikel alfa, sinar devtron, dan sinar ultraviolet, sedangkan yang termasuk dalam kategori kimia diantaranya adalah *metansulfonat*, *etilinimin*, *diepoksibutan*, *mustard nitrogen*, dan *etilinoksida* (Welsh, 1991).

Secara molekuler, dapat dinyatakan bahwa mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida DNA kromosom, yang mengakibatkan terjadinya perubahan pada protein yang dihasilkan (Oeliem dkk., 2008).

Mutasi dapat terjadi pada tingkat gen maupun kromosom. Jika perubahan hanya mengenai satu gen yaitu pada ruas yang diapit oleh sepasang promotor dan terminator, maka disebut mutasi tingkat gen. Jika perubahan mengenai lebih dari satu gen maka dinamakan mutasi tingkat kromosom. Mutasi titik merupakan

mutasi yang terjadi pada tingkat gen. Mutasi titik adalah perubahan sekuen nukleotida pada gen yang menghasilkan perubahan asam amino dan protein produk mutan atau sebagai perubahan satu bentuk alel ke bentuk alel lainnya dimana perubahan tersebut terjadi dalam satu lokus kromosom (Suzuki dkk., 1993). Mutasi titik dalam suatu gen dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu: substitusi pasangan basa dan penyisipan (insersi) atau pengurangan (delesi) pasangan basa. Substitusi pasangan basa adalah penggantian satu nukleotida dan pasangannya di dalam untai DNA komplementer dengan pasangan nukleotida lain. Insersi dan delesi merupakan penambahan atau pengurangan satu atau lebih pasangan nukleotida pada suatu gen (Griffiths dkk., 2005). Mutasi kromosom dapat terjadi karena perubahan jumlah kromosom atau perubahan struktur kromosom. Perubahan struktur kromosom adalah perubahan dimana jumlah kromosom tetap tetapi terjadi perubahan komposisi dan susunan bahan kromosom, yaitu delesi, duplikasi, inversi, dan translokasi. Sedangkan perubahan jumlah kromosom adalah adanya penambahan atau pengurangan kromosom-kromosom utuh atau satu set kromosom lengkap (genom), perubahan ini dapat menyebabkan keragaman genetik yang akan nampak pada keragaman fenotipe seperti sifat morfologi dan fisiologi (Crowder, 1997).

## **2.5 Radiasi ultraviolet**

Interaksi ultraviolet (UV) dengan materi genetik tergantung pada panjang gelombang yang digunakan. Penyerapan energi radiasi pada materi genetik melalui reaksi fotokimia. Pengaruh biologi dari radiasi ultraviolet tergantung pada panjang gelombang. Radiasi ini dapat menyebabkan kerusakan biologi yang

dapat diperbaiki jika panjang gelombang rendah. Walaupun demikian, jika kerusakan yang ditimbulkan besar maka dapat terjadi mutasi permanen. Jika kerusakan terjadi pada gen regulator, kemungkinan menyebabkan karsinogenesis (Mertens dan Hammersmith, 1995).

Cahaya tampak dan sinar UV mempunyai pengaruh yang sangat kuat terhadap kelangsungan dan keefektifan transformasi DNA dari suatu spesies (Moat dan Foster, 1988). Sinar UV yang berlebihan justru akan mengganggu aktivitas DNA suatu spesies. Untuk dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang tidak sesuai, suatu spesies dapat melakukan perubahan materi genetik atau melakukan proses mutasi sehingga fenotipe yang muncul tidak lagi sama persis dengan fenotipe semula (Tamarin, 1995).

Sinar UV sangat berpengaruh terhadap perkembangan sel. Sel merupakan satuan hidup terkecil yang dapat menderita akibat radiasi. Tanggapan sel atau jaringan terhadap radiasi berbeda-beda, baik yang menyangkut perubahan derajat ketahanan hidup, mutasi, ataupun karsinogen (Soedjono, 2003).

## **2.6 *Ethyl methanesulfonate***

*Ethyl methanesulfonate* (EMS) adalah salah satu mutagen kimia yang memiliki rumus kimia  $C_4H_{10}SO_3$ . Mutagen tersebut termasuk golongan agen alkilasi yang mengikatkan gugus etilnya pada basa DNA guanin (G) diposisi 7-N dan 6-O sehingga terbentuk gugus O<sup>6</sup>-etilguanin. Etilasi tersebut menyebabkan kesalahan dalam pemasangan basa saat replikasi sehingga terjadi mutasi titik berupa

transversi, transisi, atau mutasi *frameshift*. EMS menyebabkan mutasi secara acak pada rantai DNA (Sambrook dan Russell, 2001).

Basa DNA yang teralkilasi oleh EMS diperbaiki secara langsung dengan enzim O<sup>6</sup>-metilguanin metil transferase (enzim MGMT). Enzim MGMT ditemukan pada organisme prokariot dan eukariot. Enzim MGMT bekerja dengan mengikat gugus alkil sehingga gugus tersebut terlepas dari rantai DNA. Enzim yang telah berikatan dengan gugus alkil tidak dapat digunakan kembali sehingga enzim MGMT dikenal dengan nama *suicide enzyme*. Perbaikan dengan enzim MGMT sangat terbatas sehingga tidak semua basa yang teralkilasi diperbaiki. Hal tersebut menyebabkan terjadinya mutasi yang diturunkan (Weaver dan Hendrik, 1997).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilakukan di rumah kaca, Laboratorium Produksi Perkebunan, dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung. Penelitian dilakukan dari bulan Februari 2017 sampai dengan Maret 2018.

Penelitian ini terdiri atas 3 (tiga) percobaan yaitu:

1. Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan unsur hara N dan P pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi fungi dan bakteri tanah.
2. Perakitan mutan FMA melalui iradiasi sinar UV dan perendaman EMS.
3. Kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dan *wild type*.

#### **3.2 Bahan dan alat penelitian**

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah tanah, pupuk Urea, pupuk TSP, polibag, air, plastik kemasan ½ kg, spora FMA koleksi Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung genus *Entrophospora* isolat MV 29, *Ethyl metanesulfonate*, *aquades* steril, Urea ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ), kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), HiMedia M001-500G Nutrient Agar, kentang, gula, agar plain kemasan, larutan *phosphat buffer*, plastik hitam,

pasir steril, zeolit steril, benih jagung, kertas merang, aquades, larutan KOH 10%, HCl 1%, *trypan blue* 0,5 % dan perlengkapan keselamatan kerja.

Alat-alat yang digunakan adalah *soil sampler*, sendok, penggaris, nampan, satu set saringan mikro ukuran 150  $\mu\text{m}$  dan 45  $\mu\text{m}$ , mikroskop stereo *Leica EZ 4*, *micro pipette* 200 $\mu\text{l}$ , labu ukur 1000 ml, *cell culture cluster* merk *Costar* dan *Falcon*, cawan petri plastik (diameter 60 mm), cawan petri kaca diameter 10 cm, driglaski, tabung reaksi, *UV chamber*, inkubator *Biochemistry Model BJPX-Hartford*, tabung kaca diameter 3 cm dan tinggi 15 cm, nampan, mikroskop majemuk, *waterbath*, kaca preparat, *cover glass*, dan alat tulis.

### **3.3 Percobaan I: Pengaruh cara pemupukan terhadap kandungan unsur hara N dan P pada tanah terpapar pupuk, serta total populasi fungi dan bakteri tanah.**

#### **3.3.1 Rancangan percobaan dan analisis data**

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, perlakuan diterapkan dengan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial dengan 3 perlakuan dan 9 ulangan, setiap satuan percobaan diwakili oleh 1 polibag. Perlakuan yang diterapkan dalam percobaan ini adalah P0 (tanah tanpa pemupukan), Ps (tanah yang dipupuk secara sebar), dan Pa (tanah yang dipupuk secara alur).

Data yang diperoleh diuji dengan uji Bartlett untuk menguji kehomogenan ragam antar perlakuan. Jika asumsi dipenuhi, data diolah menggunakan sidik ragam. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.

### 3.3.2 Pelaksanaan penelitian

#### a. Menyiapkan media tanam

Tanah yang digunakan sebagai media adalah tanah podsolik merah kuning lapisan *sub soil*. Tanah diaduk hingga homogen menggunakan cangkul kemudian dimasukkan ke dalam polibag sebanyak 15 kg per polibag. Media tersebut selanjutnya disiram hingga kapasitas lapang setiap hari selama 1 (satu) minggu.

#### b. Penyiapan dan aplikasi perlakuan pupuk

Dosis pupuk dihitung berdasarkan dosis anjuran tertinggi pemupukan kelapa sawit tanaman menghasilkan umur 9–13 tahun menurut Pahan (2011) yaitu Urea 3 kg/tanaman dan TSP 3 kg/tanaman yang selanjutnya dikonversi berdasarkan luas permukaan area pemupukan di lapangan ke dalam luas permukaan (diameter) polibag. Diameter polibag adalah 25 cm dan diameter piringan kelapa sawit adalah 3 meter. Luas permukaan polibag dihitung dengan rumus luas lingkaran ( $\pi^2$ ) adalah 0,049 m<sup>2</sup> dan luas permukaan piringan kelapa sawit adalah 7,065 m<sup>2</sup> sehingga dosis pupuk per polibag diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{\text{Luas areal pemupukan}}{\text{Dosis pupuk anjuran}} = \frac{\text{Luas permukaan polibag}}{\text{dosis pupuk perlakuan}}$$

Perlakuan aplikasi pupuk sebar:

Urea

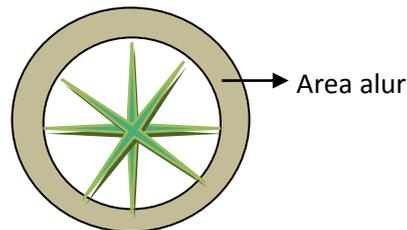
$$\frac{7,065 \text{ m}^2}{3000 \text{ gram}} = \frac{0,049 \text{ m}^2}{x \text{ gram}} = 20,80 \text{ gram}$$

TSP

$$\frac{7,065 \text{ m}^2}{3000 \text{ gram}} = \frac{0,049 \text{ m}^2}{x \text{ gram}} = 20,80 \text{ gram}$$

Perlakuan aplikasi pupuk alur:

Diameter polibag adalah 25 cm dan lebar area alur pupuk di piringan kelapa sawit adalah 15 cm. Luas permukaan polibag dihitung dengan rumus luas lingkaran ( $\pi r^2$ ) adalah  $0,049 \text{ m}^2$  dan luas permukaan area alur piringan kelapa sawit dihitung dengan rumus ((luas piringan - (luas piringan dengan diameter dikurangi 15 cm)) adalah  $1,34 \text{ m}^2$  (Gambar 5).



Gambar 5. Letak area alur pupuk di piringan kelapa sawit.

Dosis pupuk dipolibag diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Urea

$$\frac{1,34 \text{ m}^2}{3000 \text{ gram}} = \frac{0,049 \text{ m}^2}{x \text{ gram}} = 109,81 \text{ gram}$$

TSP

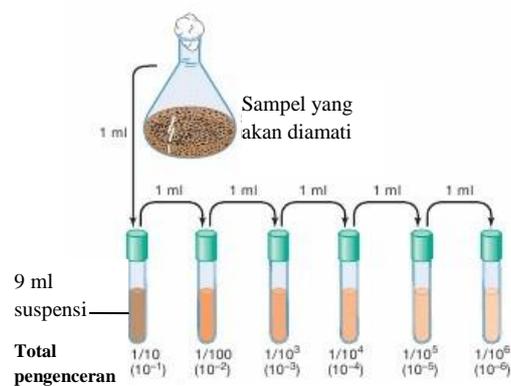
$$\frac{2,68 \text{ m}^2}{3000 \text{ gram}} = \frac{0,049 \text{ m}^2}{x \text{ gram}} = 109,81 \text{ gram}$$

Pupuk yang telah ditimbang menggunakan timbangan digital, selanjutnya diaplikasikan secara merata di atas permukaan tanah polibag sesuai dengan perlakuan masing-masing. Perlakuan pupuk baik pupuk sebar maupun pupuk alur cara aplikasinya pada penelitian ini sama-sama disebar secara merata di atas permukaan tanah polibag. Tanah disiram setiap hari dengan air yang diukur sesuai dengan penguapan yang terjadi pada tanah di polibag.

### c. Total Plate Count

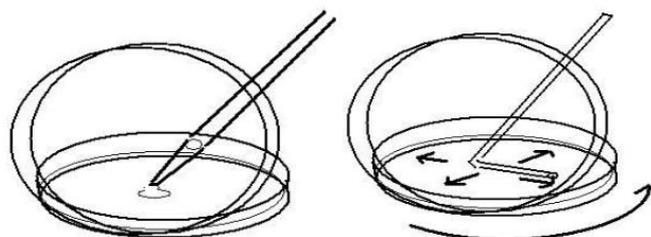
Menghitung jumlah koloni bakteri dan fungi dalam tanah digunakan metode *total plate count* (TPC). Prinsip TPC atau metode hitungan cawan adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel untuk mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat.

Tahap pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml (campuran 1 gram sampel tanah halus dilarutkan 9 ml aquades steril), dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril, sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Dari pengenceran  $10^{-2}$  diambil lagi 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-3}$ , seterusnya sampai mencapai pengenceran  $10^{-8}$  (Gambar 6).



Gambar 6. Metode pengenceran sampel tanah.

Sampel yang telah diencerkan, dipilih empat sampel pengenceran terakhir yaitu  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ , dan  $10^{-8}$  untuk dilakukan isolasi menggunakan metode *spread plate*. *Spread plate* adalah teknik menanam dengan menyebarkan suspensi bakteri dan fungi di permukaan media agar (media *Potato Dextrose Agar* untuk isolasi fungi dan media Natrium Agar untuk isolasi bakteri), agar diperoleh kultur murni. Prosedur kerjanya adalah suspensi cairan diambil sebanyak 0,1 ml dengan mikropipet kemudian diteteskan di atas permukaan agar yang telah memadat. Drigalski kemudian dibakar di atas bunsen dan didinginkan beberapa detik. Kemudian suspensi diratakan dengan bantuan driglaski (Gambar 7).



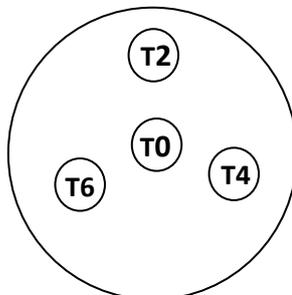
Gambar 7. Metode *spread plate* pada isolasi bakteri dan fungi.

#### d. Pengamatan

Untuk menguji kesahihan kerangka pemikiran dan hipotesis, dilakukan pengamatan terhadap peubah-peubah sebagai berikut:

1. Analisis tanah yang terdiri dari N total, P total, dan P tersedia. Analisis tanah dilakukan awal penelitian dan tiap 2 minggu setelah aplikasi (MSA) pupuk hingga minggu ke 8. Sampel tanah yang diambil merupakan tanah pada kedalaman 10–15 cm dari permukaan tanah dalam polibag perlakuan. Sampel tanah diambil menggunakan *soil sampler* pada titik-titik yang telah ditentukan (Gambar 8), yaitu T0 (pengambilan sampel tanah sebelum

perlakuan pemupukan), T2 (pengambilan sampel tanah 2 MSA), T4 (pengambilan sampel tanah 4 MSA), dan T6 (pengambilan sampel tanah 6 MSA).



Gambar 8. Titik-titik pengambilan sampel tanah pada polibag.

2. Menghitung koloni bakteri dan fungi tanah. Prinsip dari metode hitungan cawan yakni menganggap bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi 1 koloni dan koloni tersebutlah yang nantinya akan dihitug. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitug dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi dan dikalikan faktor pengenceran.

### **3.4 Percobaan II: Perakitan mutan FMA melalui iradiasi sinar UV dan perendaman EMS**

#### **3.4.1 Rancangan percobaan dan analisis data**

Percobaan ini terbagi ke dalam 2 (dua) sub percobaan yaitu:

1. Perakitan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi melalui iradiasi UV.
2. Perakitan mutan FMA tahan pemupukan N dan P tinggi melalui perendaman EMS.

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, perlakuan percobaan iradiasi UV diterapkan dengan rancangan acak kelompok dengan 6 taraf perlakuan iradiasi UV yaitu kontrol, 0 menit dipaparkan sinar UV, 5 menit dipaparkan sinar UV, 10 menit dipaparkan sinar UV, 15 menit dipaparkan sinar UV, dan 20 menit dipaparkan sinar UV. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Sedangkan untuk percobaan perendaman EMS diterapkan dengan rancangan acak kelompok dengan 7 taraf perlakuan perendaman EMS yaitu Kontrol, direndam EMS konsentrasi 0 ppm, direndam EMS konsentrasi 10 ppm, direndam EMS konsentrasi 20 ppm, direndam EMS konsentrasi 30 ppm, direndam EMS konsentrasi 40 ppm, dan direndam EMS konsentrasi 50 ppm, masing-masing direndam selama 60 menit. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Setiap spora yang diberi perlakuan UV dan EMS dikecambahkan pada 3 jenis larutan yaitu larutan N 800 ppm, larutan P 2000 ppm, dan campuran kedua larutan tersebut.

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

### **3.4.2 Pelaksanaan penelitian**

#### **a. Isolasi spora**

Spora FMA *Entrophospora* sp. diisolasi dari isolat MV 29 menggunakan metode tuang dan saring basah (Gerderman dan Nicolson, 1963) dengan modifikasi sesuai prosedur di Laboratorium Produksi Perkebunan. Langkah-langkah dalam isolasi spora isolat MV 29 genus *Entrophospora* yaitu:

Inokulum diambil sebanyak 50 g dan dimasukkan ke dalam gelas beker 2000 ml, kemudian ditambahkan dengan air hingga 1000 ml dan diaduk selama  $\pm 20$  detik. Suspensi yang telah diaduk didiamkan selama  $\pm 10$  detik. Selanjutnya suspensi dituangkan ke penyaringan bertingkat dari atas ke bawah dengan ukuran 150  $\mu\text{m}$  dan 45  $\mu\text{m}$  (prosedur ini diulang sebanyak 3 kali). Selanjutnya saringan dialiri dengan air keran secara perlahan untuk meyakinkan bahwa spora terbawa air ke saringan bawah dan tidak menempel pada dinding saringan. Setelah yakin spora sudah terkumpul pada saringan bawah, suspensi yang tersaring pada saringan ukuran 45  $\mu\text{m}$  dimasukkan ke dalam cawan petri.

Spora yang berhasil tersaring kemudian diamati di bawah mikroskop stereo dengan perbesaran 35x dan diisolasi (dipilih spora yang ukuran, warna, dan bentuk yang seragam). Isolasi spora dilakukan secara manual menggunakan pinset spora. Setiap spora dipindahkan menggunakan pinset spora ke dalam cawan petri plastik berdiameter 60 mm yang telah berisi 1 ml aquades dan dihitung menggunakan *hand counter* hingga spora terkumpul sebanyak 150 spora. Sebanyak 39 cawan petri berisi 150 spora per cawan disiapkan untuk perlakuan mutasi, 18 cawan untuk perlakuan sinar UV dan 21 cawan untuk perlakuan perendaman EMS. Spora kemudian dikeringkan dari air dengan menggunakan mikropipet 1 ml secara perlahan agar tidak ada spora yang terbang.

#### **b. Penyiapan larutan N 800 ppm, P 2000 ppm, dan campuran keduanya**

##### **1. Larutan N konsentrasi 800 ppm N**

Larutan N tinggi dengan konsentrasi 800 ppm dibuat dari pupuk Urea berdasarkan perhitungan massa atom relatif (AR) N dan massa molekul relatif (MR) Urea.

Massa molekul Urea ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) adalah 60, nilai tersebut diperoleh dari total massa atom relatif (AR) penyusun Urea. AR penyusun-penyusun urea antara lain  $\text{C}=12$ ,  $\text{O}=16$ ,  $2\text{N}=14$ ,  $4\text{H}=4$ . Sehingga untuk membuat larutan N 800 ppm dari Urea terlebih dahulu menentukan persentase N dalam Urea, yaitu  $28/60=46,6\%$ . Larutan 800 ppm N sama artinya dengan melarutkan 800 mg N dengan cara menambahkan aquades hingga volumenya mencapai 1 (satu) liter. Pada percobaan ini, larutan N dibuat dari Urea yang mengandung 46,6% sehingga urea yang diperlukan untuk membuat larutan N 800 ppm adalah 1716,7 mg urea/l atau 1,72 g urea/l.

Proses pembuatan larutan dimulai dengan menimbang sebanyak 1,72 g urea menggunakan timbangan digital. Selanjutnya urea tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* ukuran 2000 ml dan ditambahkan aquades steril hingga volume mencapai 1000 ml. Setelah itu larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

## 2. Larutan P konsentrasi 2.000 ppm

Larutan P tinggi dengan konsentrasi 2000 ppm dibuat dari  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  berdasarkan perhitungan massa atom relatif (AR) P dan massa molekul relatif (MR)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Massa molekul  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  adalah 135, nilai tersebut diperoleh dari total massa atom relatif (AR) penyusunnya. AR penyusun-penyusun urea antara lain  $\text{K}=38$ ,  $2\text{H}=2$ ,  $\text{P}=31$ ,  $4\text{O}=64$ . Sehingga untuk membuat larutan P 2000 ppm dari  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  terlebih dahulu menentukan persentase P dalam  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , yaitu  $31/135=23\%$ . Larutan P 2000 ppm sama artinya dengan melarutkan 2000 mg P dengan cara menambahkan aquades hingga volumenya mencapai 1 (satu) liter. Pada

percobaan ini, larutan P dibuat dari  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang mengandung 23% sehingga  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang diperlukan untuk membuat larutan P 2000 ppm adalah 8.695,6 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ /l atau 8,70 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ /l.

Sebanyak 8,70 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ditimbang dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* ukuran 2000 ml dan ditambahkan aquades steril hingga volume mencapai 1000 ml. Selanjutnya larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

### 3. Campuran larutan N tinggi dan P tinggi

Larutan dibuat dengan menimbang 0,86 g urea dan 4,35 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , selanjutnya dimasukkan ke dalam *beaker glass* 2000 ml. Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* tersebut hingga volume mencapai 1000 ml. Selanjutnya larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

### c. Penyiapan larutan EMS konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm

Larutan dibuat dengan terlebih dahulu membuat larutan stok EMS 500 ppm. Sebanyak 0,5 ml EMS dilarutkan ke dalam aquades steril hingga volumenya mencapai 1 liter. Setelah itu dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*.

Selanjutnya larutan EMS 50 ppm dibuat melalui pengenceran 10 ml larutan stok 500 ppm dilarutkan ke dalam aquades steril hingga volumenya mencapai 100 ml.

Larutan EMS 40 ppm dibuat melalui pengenceran 8 ml larutan stok 500 ppm

dilarutkan ke dalam aquades steril hingga volumenya mencapai 100 ml. Larutan

EMS 30 ppm dibuat melalui pengenceran 6 ml larutan stok 500 ppm dilarutkan ke

dalam aquades steril hingga volumenya mencapai 100 ml. Larutan EMS 20 ppm

dibuat melalui pengenceran 4 ml larutan stok 500 ppm dilarutkan ke dalam aquades steril hingga volumenya mencapai 100 ml. Larutan EMS 10 ppm dibuat melalui pengenceran 2 ml larutan stok 500 ppm dilarutkan ke dalam aquades steril hingga volumenya mencapai 100 ml. Setelah itu setiap larutan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*.

Semua kegiatan penyiapan larutan EMS dilakukan di dalam ruang asam.

#### **d. Iradiasi UV**

Spora FMA (150 spora/perlakuan) yang telah diisolasi di cawan-cawan petri tertutup, disinari sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm selama 0 (tanpa iradiasi UV), 5, 10, 15, dan 20 menit di dalam *UV chamber* dengan jarak lampu UV dan sampel sepanjang 15 cm. Setelah iradiasi, petri yang berisi spora kemudian diinkubasi di dalam ruang gelap selama 24 jam pada suhu 20°C.

#### **e. Perendaman dengan EMS**

Spora FMA (150 spora/perlakuan) yang telah diisolasi di cawan petri tertutup selanjutnya dimasukkan ke ruang asam. Menggunakan *micropipet*, sebanyak 10 ml EMS ditambahkan ke dalam tiap cawan petri sesuai perlakuan, yaitu EMS konsentrasi 0 (tanpa direndam EMS), 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dan dibiarkan selama 60 menit di dalam ruang asam dalam kondisi cawan petri tertutup pada suhu ruang. Selanjutnya larutan EMS dibuang menggunakan *micropipet* secara perlahan agar tidak ada spora yang terbang, prosedur ini dilakukan pada semua perlakuan. Setelah EMS kering, sebanyak 10 ml *phosphate buffer steril* (pH 7) ditambahkan pada tiap cawan petri dan dibiarkan selama 10 menit dalam kondisi cawan petri tertutup, prosedur ini diulang sebanyak 2 kali. *Phosphate buffer steril*

dibuang kembali menggunakan *micropipet* dan spora selanjutnya diinkubasi dalam *incubator* selama 24 jam pada suhu 20°C.

#### **e. Pengecambahan spora**

Setiap spora yang sudah diberi perlakuan mutasi buatan (iradiasi sinar UV dan perendaman EMS), selanjutnya dikecambahkan. Masing-masing lubang *cell culture cluster* terlebih dahulu diisi larutan N 800 ppm, P 2000 ppm atau campuran keduanya menggunakan *micropipet* 200µl. Sebanyak 50 spora dari tiap perlakuan, satu persatu diambil menggunakan pinset spora dan dimasukkan ke dalam lubang *cell culture cluster* yang berisi larutan N 800 ppm. Pada tiap cawan petri perlakuan, prosedur yang sama dilakukan pada 50 spora kedua yang dimasukkan ke dalam lubang *cell culture cluster* yang telah berisi larutan P 2000 ppm, dan 50 spora terakhir yang dimasukkan ke dalam lubang *cell culture cluster* yang berisi campuran larutan N dan P tinggi.

Selanjutnya untuk 50 spora perlakuan kontrol, setiap spora tanpa perlakuan tersebut dikecambahkan pada lubang *cell culture cluster* yang berisi aquades steril. Prosedur ini dilakukan di bawah mikroskop stereo perbesaran 35x.

Setelah semua lubang *cell culture cluster* terisi spora, yaitu satu spora per lubang, selanjutnya *cell culture cluster* ditutup dan dibungkus dengan menggunakan plastik hitam dan diberi label. Untuk pengecambahan spora FMA, *cell culture cluster* tersebut dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 30°C selama 4 minggu.

Spora yang berhasil tumbuh pada kondisi media tertentu diduga sebagai mutan yang tahan terhadap kondisi tersebut. Spora yang berkecambah dihitung persentase perkecambahannya dengan rumus berikut:

$$\% \text{ spora berkecambah} = \frac{\text{Jumlah spora berkecambah}}{\text{Jumlah spora yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

### **3.5 Percobaan III: Kemampuan infeksi akar FMA diduga mutan dan *wild type***

#### **3.5.1 Rancangan percobaan dan analisis data**

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, perlakuan diterapkan dengan rancangan acak kelompok (RAK) non faktorial dengan 3 perlakuan sebanyak 5 ulangan. Perlakuan yang diuji adalah inokulasi akar dengan 3 (tiga) macam kecambah spora FMA, yaitu kontrol/kecambah spora *wild type*, diduga mutan dari hasil iradiasi UV, dan diduga mutan dari hasil perendaman EMS.

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

#### **3.5.2 Pelaksanaan penelitian**

##### **a. Pengisian media tanam**

##### **1. Sterilisasi media**

Pasir yang dipilih adalah pasir halus yang selanjutnya sebanyak  $\pm 10$  Kg pasir dimasukkan ke dalam 3 kantong plastik tahan panas dan ditambahkan aquades ke dalam plastik tersebut hingga pasir cukup lembab. Selanjutnya plastik yang berisi pasir tersebut diikat menggunakan tali plastik dan dimasukkan ke dalam autoklaf. Autoklaf diatur pada sterilisasi suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit. Setelah proses sterilisasi dengan autoklaf selesai, pasir dikeluarkan dari autoklaf dan dibiarkan dingin dalam keadaan plastik tetap terikat. Pasir yang telah dingin selanjutnya dimasukkan ke dalam ember 10 L dan ditambahkan air bersih hingga pasir terendam. Campuran pasir dan air tersebut diaduk menggunakan kayu pengaduk,

kemudian air dibuang (proses ini dilakukan hingga 7 kali atau hingga air tidak lagi keruh).

Sterilisasi zeolit berbeda dengan pasir, zeolit cukup dicuci dengan cara 10 Kg zeolit dimasukkan ke dalam ember 10 L dan ditambahkan air bersih hingga terendam. Campuran zeolit dan air tersebut diaduk menggunakan kayu pengaduk, kemudian air dibuang (proses ini dilakukan hingga 5 kali atau hingga air tidak lagi keruh).

## 2. Pengisian media tanam

Media tanam yang digunakan adalah campuran pasir dan zeolit dengan perbandingan 2:1 berdasarkan volume. Media tersebut dimasukkan ke dalam tabung kaca ukuran diameter 3 cm dan tinggi 15 cm dengan menggunakan sendok, hingga media mengisi  $\frac{3}{4}$  bagian tabung.

### **b. Penyiapan kecambah FMA**

Dari percobaan II, diperoleh perlakuan terbaik untuk mendapatkan mutan.

Selanjutnya pada tahap ini, perlakuan tersebut diulang kembali dengan jumlah spora yang lebih banyak untuk mendapatkan mutan yang akan diinokulasikan ke akar tanaman.

#### 1. Isolasi spora

Spora diisolasi dari inokulum MV 29 sebanyak 500 spora untuk tiap perlakuan.

Spora FMA *Entrophospora* sp. diisolasi dari isolat MV 29 (sama dengan prosedur isolasi pada halaman 37 paragraf ke-1 ). Prosedur ini diulang sebanyak 3 kali untuk 3 kelompok.

## 2. Penyiapan larutan N 800 ppm dan P 2000 ppm

Prosedur penyiapan N 800 ppm dan P 2000 ppm dapat dilihat pada halaman 37 paragraf ke-3 dan 38 paragraf ke-3 . Larutan yang telah homogen selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri plastik ukuran 6 cm menggunakan *micro pipet*.

### **c. Perlakuan mutasi**

Pada percobaan ini, untuk mendapatkan spora mutan dilakukan perlakuan mutasi dengan cara:

1. Kontrol: spora yang telah diisolasi dan tidak diberi perlakuan mutasi, diinkubasi pada ruang gelap selama 24 jam pada suhu 20°C, selanjutnya tiap 100 spora dikecambahkan pada cawan plastik ukuran 6 cm yang telah diisi aquades steril.
2. Mutan UV: spora yang telah diisolasi diberi perlakuan iradiasi UV terbaik (yaitu lama penyinaran UV yang menghasilkan mutan terbanyak pada percobaan II), diinkubasi pada ruang gelap selama 24 jam pada suhu 20°C, selanjutnya tiap 100 spora dikecambahkan pada cawan plastik diameter 6 cm yang telah diisi larutan N tinggi, P tinggi, atau campuran kedua larutan tersebut.
3. Mutan EMS: spora yang telah diisolasi diberi perlakuan perendaman EMS konsentrasi terbaik terbaik (yaitu konsentrasi EMS yang menghasilkan mutan terbanyak pada percobaan II), diinkubasi pada ruang gelap selama 24 jam pada suhu 20°C, selanjutnya tiap 100 spora dikecambahkan pada cawan plastik ukuran 6 cm yang telah diisi larutan N tinggi, P tinggi, atau campuran kedua larutan tersebut.

Prosedur di atas dilakukan di bawah mikroskop stereo perbesaran 35x. Setelah semua cawan plastik terisi spora dan ditutup dengan tutup cawan tersebut, selanjutnya cawan disusun satu tingkatan pada nampan plastik dan dibungkus dengan menggunakan plastik hitam dan diberi label. Untuk pengecambahan spora FMA, nampan berisi cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 30°C selama 30 hari. Kecambah spora pada hari ke 4, 15, dan 30 diambil menggunakan pinset spora untuk diinokulasikan pada akar kecambah jagung.

#### **d. Penyemaian benih jagung**

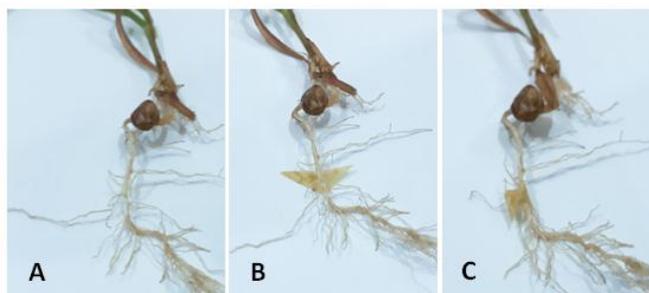
Untuk memperoleh kecambah yang sehat, benih jagung disemai pada media steril. Pasir steril yang dipilih sebagai media penyemaian dimasukkan ke dalam nampan semai dan diratakan. Lubang tanam dibuat dengan jarak 3 x 3 cm dengan kedalaman 2 cm pada media tersebut. Benih jagung dimasukkan ke dalam lubang tanam sebanyak satu benih tiap lubang tanam. Media yang sudah ditanami jagung tersebut kemudian ditutup kembali dengan selapis pasir steril. Semaian selanjutnya diletakkan di rumah kaca, disiram tiap pagi dan sore hari menggunakan *hand sprayer*, kecambah akan diperoleh setelah semaian berumur 7 hari setelah semai.

#### **e. Penanaman dan aplikasi FMA**

Sebelum dilakukan penanaman, terlebih dahulu dipilih kecambah jagung yang sehat. Pada akar kecambah jagung kemudian diinokulasikan FMA yang telah berkecambah sesuai perlakuan. Setiap spora yang telah berkecambah pada hari ke 4, 15, dan 30 dalam satu *cawan petri* perlakuan mutan dianggap sebagai

perwakilan mutan tersebut. Setiap satu spora yang berkecambah diinokulasikan pada satu akar kecambah jagung dan masing-masing ditanam dalam satu tabung.

Inokulasi FMA pada akar tanaman dilakukan dengan cara membuat lubang tanam menggunakan spatula dengan diameter 2,5 cm dan kedalaman 5 cm pada tabung kaca yang telah berisi media tanam. Selanjutnya satu kecambah jagung sehat yang telah dipilih, diamati akarnya di bawah mikroskop stereo perbesaran 45x dan ditentukan calon rambut akar yang akan diinokulasikan kecambah FMA. Secara hati-hati kecambah FMA pada cawan petri diambil dengan menggunakan pinset spora agar hifa tidak putus. Kecambah FMA tersebut selanjutnya ditempelkan (diinokulasikan) pada calon rambut akar yang telah ditentukan. Kecambah FMA yang telah menempel pada akar tersebut selanjutnya dibungkus menggunakan kertas merang yang telah dipotong segitiga sama sisi dengan ukuran  $\pm 10$  mm, untuk memastikan kecambah FMA tetap menempel pada akar (Gambar 9).



Gambar 9. Akar bibit jagung yang siap diinokulasi kecambah FMA (A), kertas merang berbentuk segitiga disiapkan di akar yang akan diinokulasi kecambah FMA (B), akar yang telah diinokulasikan kecambah FMA dibungkus menggunakan kertas merang yang dilipat/diikat (C).

Tanaman yang telah diberi perlakuan inokulasi FMA selanjutnya ditanam pada media tanam dengan memasukkan akar tanaman secara hati-hati ke dalam lubang

tanam, bibit ditanam dengan posisi tegak pada lubang tanam, kemudian lubang tanam ditutup media tanam kembali dengan menggunakan spatula dan agak sedikit ditekan. Prosedur yang sama diulang hingga semua spora FMA yang berkecambah pada cawan petri perlakuan telah diinokulasikan semua. Tabung kaca yang berisi tanaman jagung yang sudah diinokulasi kecambah FMA selanjutnya dibungkus plastik hitam dan diletakkan pada rak di rumah kaca (Gambar 10).



Gambar 10. Tanaman jagung yang diinokulasi FMA.

#### **f. Pemeliharaan**

Pemeliharaan tanaman jagung meliputi penyiraman, penyiangan gulma, pengendalian hama, dan penyakit serta pemupukan. Penyiraman dilakukan secara teratur 1 kali sehari untuk memenuhi kebutuhan air agar tanaman tidak kekeringan. Penyiraman dilakukan dengan cara menambahkan air steril pada media tanam sebanyak 5 ml menggunakan *micropipet*. Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan cara manual membuang hama yang terdapat pada tanaman atau membuang bagian tanaman yang terserang penyakit. Pada minggu ke-1 dan ke-2 setelah tanam, tanaman dipupuk dengan menggunakan pupuk urea dengan konsentrasi 2 g/l dan setiap tanaman, diberikan pupuk sebanyak 5 ml per tanaman menggunakan *micropipet*.

### **g. Penghitungan persen infeksi akar**

#### **1. Persiapan akar**

Tanaman jagung yang telah berumur satu bulan setelah tanam dikeluarkan dari tabung dan diberi label sesuai perlakuan. Selanjutnya akar dipisahkan dari media tanam dengan cara mencuci akar dengan air mengalir secara hati-hati agar kertas merang yang diikatkan pada titik inokulasi FMA tidak terlepas. Pada akar yang telah dibersihkan tersebut, kemudian diambil sampel akar dari titik inokulasi FMA (dianggap titik 0 cm) sampai ujung akar tersebut. Akar selanjutnya dimasukkan ke dalam botol film dan diberi label. Kemudian akar dicuci kembali dengan menggunakan air mengalir hingga akar bersih dari sisa media tanam dan kotoran lainnya.

Akar yang telah bersih dimasukkan kembali ke dalam botol film dan ditambahkan KOH 10% sampai seluruh akar terendam, lalu dikukus dalam *waterbath* pada suhu 70°C selama 10 menit untuk membersihkan akar dari sitoplasma, kemudian larutan KOH 10% dibuang. Selanjutnya ditambahkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3,5% ke dalam botol film hingga akar terendam, lalu dikukus dalam *waterbath* pada suhu 70°C selama 5 menit untuk proses *bleaching* akar. Selanjutnya larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3,5% dibuang dan akar dicuci dengan air mengalir, dimasukkan kembali ke dalam botol film, dan direndam dengan menggunakan HCl 1 % selama 1 menit. Setelah itu, HCl dibuang dan akar diwarnai dengan cara direndam dalam larutan *trypan blue* 0,05 % dan dikukus kembali menggunakan *waterbath* selama 5 menit pada suhu 70°C. Akar yang sudah diwarnai diletakkan di atas kaca preparat.

## 2. Penghitungan persentase akar

Akar yang telah disiapkan sebelumnya, diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Akar dinyatakan terinfeksi apabila ditemukan spora intraseluler, vesikula, hifa intraradik, hifa ekstraradik, atau arbuskula. Persen infeksi akar dihitung dari jumlah akar yang terinfeksi dibagi dengan jumlah seluruh potongan akar yang diamati (Brundrett dkk., 1996).

Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase infeksi akar sebagai berikut:

$$\% \text{ infeksi akar} = \frac{\sum \text{pengamatan yang positif terinfeksi FMA}}{\sum \text{total pengamatan}} \times 100\%$$

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Adapun simpulan dari rangkaian penelitian ini antara lain:

1. Percobaan I
  - a. Perbedaan cara pemupukan memberikan pengaruh yang berbeda pada kandungan N total, P tersedia, dan P total pada tanah terpapar pupuk, serta jumlah koloni bakteri dan fungi tanah.
  - b. Pemupukan dengan cara alur menghasilkan kandungan N total, P tersedia, serta P total tertinggi, secara berturut-turut 3.688,63 ppm, 63,81 ppm, dan 3.355,23 ppm. Sebaliknya kandungan pupuk yang tinggi tersebut menyebabkan penurunan tajam pada jumlah koloni bakteri dan fungi tanah.
2. Percobaan II
  - a. FMA diduga mutan dapat diperoleh melalui iradiasi UV dan perendaman EMS.
  - b. Iradiasi UV 10 menit dan perendaman EMS (60 menit) dengan konsentrasi EMS 30 ppm menghasilkan FMA diduga mutan terbanyak sesuai kriteria.

### 3. Percobaan III

- a. Pada uji kemampuan infeksi akar spora-spora diduga mutan hasil Percobaan II, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara persen infeksi akar FMA diduga mutan maupun *wild type*.
- b. Persen infeksi akar spora yang lebih dulu berkecambah lebih rendah dibandingkan persen infeksi akar spora yang berkecambah lebih lama, baik spora *wild type*, diduga mutan UV, dan diduga mutan EMS.

## 5.2 Saran

Untuk menunjang dan memperkuat hasil dari penelitian ini adalah pengukuran N total yang dilakukan pada Percobaan I perlu dilakukan dalam jangka waktu yang lebih singkat (kurang dari 2 minggu) untuk memperoleh hasil yang lebih optimal. Selain itu, FMA diduga mutan pada hasil Percobaan II perlu dilakukan pembuktian melalui sequencing DNA untuk mengetahui apakah FMA yang diperoleh benar-benar merupakan mutan dan juga mengetahui bagian DNA yang mengalami perubahan tersebut. Jika diperoleh hasil sequencing DNA bahwa FMA tersebut adalah mutan, lebih lanjut perlu dilakukan pengujian daya dukung mutan-mutan tersebut terhadap pertumbuhan tanaman. Hal yang lebih penting dilakukan jika benar diperoleh mutan adalah mengetahui bagaimana mempertahankan mutan tersebut dalam jangka waktu lama. Salah satunya dapat dengan menciptakan inang yang tahan pemupukan N dan P tinggi melalui mutasi.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Adebayo, A.A. and Harris. 1971. Fungal growth responses to osmotic as compared to matric water potential. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35: 465-469.
- Afifuddin, S. dan Kusuma, S.I. 2007. Analisis Struktur Pasar CPO: Pengaruhnya terhadap pengembangan ekonomi wilayah Sumatera Utara. *Jurnal Perencanaan dan Pengembangan Wilayah.* 2(3):124 – 136.
- Anas, I. 1997. *Bioteknologi Tanah*. Laboratorium Biologi Tanah. Jurusan Tanah. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Andayani, D. 2008. Pengelolaan Pemupukan Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Tanaman Menghasilkan di PT Era Mitra Agro Lestari (BSP Group), Sarolangun, Jambi. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Azcon, A. and Barea, J.M. 1982. Mychorrizas and Their significance in Nodulating, Nitrogen Fixing Plant. *Adv. Agron.* 36:1-54.
- Bainbridge, B.W. 1980. *The Genetics of Microbes*. Blackie. London.
- Buxton, E.W. and Hastie, A.C. 1962. Spontaneous and Ultraviolet Irradiation-Induced Mutants of *Verticillium albo-atrum*. *J. Gen. Microbiol.* 28:625-632.
- Crowder, L.V. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Darmosarkoro, W. 2003. *Lahan dan Pemupukan Kelapa sawit*. Edisi I. Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Medan.
- Djajakirana, G. 2001. Kerusakan Tanah Sebagai Dampak Pembangunan Pertanian. Makalah disampaikan pada Seminar Petani “Tanah Sehat Titik Tumbuh Pertanian Ekologis” di Sleman, 30 Oktober 2001.
- El Bondkly and Keera, A. 2017. UV and EMS induced mutations affecting synthesis of alkaloids and lipase in *Penicilium roquefortii*. *Arab J. Biotech.* 10 (2): 241-248.

- Fahrudin. 2011. Peningkatan Kapasitas Bakteri Melalui Induksi Mutasi-UV. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. 2(3): 60-68.
- FAOSTAT. 2013. Food And Agriculture Commodities Production. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>. Diakses tanggal 14 Januari 2015.
- Firmansyah, A.M. 2011. Peraturan tentang pupuk, klasifikasi pupuk alternatif dan peranan pupuk organik dalam peningkatan produksi pertanian. Makalah pupuk. Litbang Departemen Pertanian Kalimantan Tengah.
- Fishbein, L., Flamm, W.G., and Falk, H.L. 1970. *Chemical Mutagens: Environmental Effectson Biological Systems*. Academic Press. New York.
- Gerdemann, J.W. and Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizae Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans Br Mys Soc*. 46:235-244.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An Evaluation Technique for Measuring Vesicular Arbuscular Mychorrhizal Infection in Roots. *New Phytol*. 84:489.
- Gowda, M.V.C., Nadaf, H.L., and Sheshagiri, R. 1996. The role of mutation in intraspecific differentiation of groundnut (*Arachis hypogea*). *Euphytica*. 90: 105-113.
- Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M., Suzuki, D.T., and Miller, J.H. 2005. *Introduction to Genetic Analysis*. W.H. Freeman and Company. New York.
- Harley, J.L. and Smith, M.S. 1983. *Mychorrizal symbiosis*. Academic Press Inc. New York.
- Harten, A.M.V. 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical Aplication*. Cambridge University Press. Inggris.
- Herawati, T dan Setiamihardja, R. 2000. *Pemuliaan Tanaman Lanjutan. Program Pengembangan Kemampuan Peneliti Tingkat S1 Non Pemuliaan Dalam Ilmu Dan Teknologi Pemuliaan*. Universitas Padjadjaran. Bandung.
- IPNI. 2017. 4R Plant Nutrition: A Manual for Improving the Management of Plant nutrition. International Plant Nutrition Institute. <http://www.ipni.net/>. Diakses Juli 2017.
- Jayakumar S. and Selvaraj, R. 2003. Mutagenic effectiveness and effeciency of gamma rays and ethyl methanesulfonate in sunflower (*Helianthus annus*). *Madras Jurnal Agric*. 90:574-576.
- Joner, E.J. and Johansen, A. 2000. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol Res*. 104: 81-86.

- Junifer, S. and Abbot, L.K. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mychorriza*. 4: 45-57.
- Kusumastuti, L., Astuti, A., and Sarjiyah, S. 2017. Contribution of Rhizobium-Mychorrhiza-Merapi-indigenous Rhizobacteria Association on Growth and Yield of Three Cultivars Soybean Cultivated on Coastal Sandy Soil. *Planta Tropika: Jurnal Agrosains*. 5(1): 7-14.
- Leiwakabessy, F.M. dan Sutandi, A. 2004. *Pupuk dan Pemupukan*. Departemen Tanah, Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.
- Lodish, H., Berk, A., Purshy, Z., Matsudaira, P., Baltimore, D., and Darnell, J. 2000. *Molecular Cell Biology, 4th Eds*. Freeman and Company. New York.
- Lubis, A.U. 2008. *Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq) di Indonesia edisi ke 2*. Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Medan.
- Madjid, B.D., Effendi, B., Fauzi, Sarifuddin, dan Hanum, H. 2011. *Kesuburan Tanah dan Pemupukan*. USU Press. Medan.
- Mallarino, A. 2000. *Soil Testing and Available Phosphorus*. Integrate Crop Management News. Iowa State University.
- Maluszynki, M., Ahloowalia, B.S., and Sigurbjorn, B. 1995. Application of In vivo dan In vitro mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*. 85: 301-315.
- Matsumoto, K., Barbosa, M.L., Souza, L.A.C., and Teixeira, J.B. 1995. Race 1 Fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. *Euphytica*. 84:67-71.
- McGonigle, T.P., Evans, D.G., and Miller, M.H. 1990. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiment. *New Phytol*. 116: 629-636.
- Mertens, T.R and Hammersmith, R.L. 1995. *Genetic Laboratory Investigation*. Tenth Edition. Tenth Printing. Prentice Hall. Engwood Cliff. New Jersey.
- Moat, A.G. and Foster, J.W. 1988. *Microbial Physiology, 2nd Eds*. John Wiley and Sonss. Singapore.
- Mosse, S. 1981. *Vesicular arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Research Bulletin no 194*. Hawaii institute of tropical agriculture and human resource. University of Hawaii.
- Oelieim, T.M.H., Yahya, S., Sofia, D., dan Mahdi. 2008. *Perbaikan Genetik Kedelai Melalui Mutasi Induksi Sinar Gamma Untuk Menghasilkan*

*Varietas Unggul dan Tahan Terhadap Cekaman Kekeringan*. Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Pahan, I. 2008. *Kelapa Sawit*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pierce, B. 2005. *Genetic: A Conceptual Approach, 2nd Eds*. W.H. Freeman. New York.
- Prakash, L. and Sherman, F. 1973. Mutagenic Specificity: reversion of iso-1-cytochrome C mutant of yeast. *J. Mol. Biol.* 79: 65-84.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2014. Informasi Ringkas Komoditas Perkebunan: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Jakarta Selatan.
- Pusat Penelitian Tanah. 1983. Kriteria Penilaian Data Sifat Analisis Kimia Tanah. BP3 Departemen Pertanian. Bogor.
- Rajapakse, S. and Miller, J.C. 1992. Methods for studying vesicular-arbuscularmycorrhizal root colonization and related root physical properties. *Methods Microbial.* 24 : 302-316.
- Rini, M.V. 2011. Populasi fungi mikoriza arbuskular pada beberapa kebun kelapa sawit di Lampung Timur. Dalam Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Dekan Pertanian. Universitas Sriwijaya Mei 2011. 3:23-25.
- Rini, M.V., Utoyo, B., dan Timotiwu, P.B. 2010. Populasi dan keragaman fungi mikoriza arbuskular pada kebun kelapa sawit di tanah mineral dan gambut. Dalam Prosiding Seminar Nasional Keragaman Hayati Tanah 1. Universitas Lampung Agustus 2010. 208-218.
- Sambrook, J. and Russel. 2001. *Molecular Cloning-A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Sikkema, J., Bont, J.A.M., and Poolman, B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews.* 201-222.
- Simanungkalit, R.D.M., Suriadikarta, D.A., Saraswati, R., Setyorini, D., dan Hartatik, W. 2006. Pupuk Organik dan Pupuk Hayati Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor.
- Sipayung, T. 2017. *Mitos dan Fakta Industri Minyak Sawit Indonesia*. PASPI. Bogor.
- Smith, S.E. and Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Second edition. Academic Press. Harcourt Brace and Company Publisher. London.
- Soedjono, S. 2003. Aplikasi Mutasi Induksi Dan Variasi Somaklonal Dalam Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian* 22(2): 45-51.

- Sofyan, A. 2005. Perbanyak cendawan Mikoriza arbuskula (CMA) pada berbagai varietas jagung dan pemanfaatannya pada dua varietas tebu. *Jurnal Sains & teknologi*. 5: 12-20.
- Stanbury, P. F. and Whitaker, A. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. Pergamon Press, Oxford. New York.
- Stanier, R.Y., Edward, A., and Jon, L. 1984. *Dunia Mikrobe II*. Bharatara Karya Aksara. Jakarta.
- Stansfield, W.D., Colome, J.S., Cano, R.J. 2003. *Theory and Problems of Molecular and Cell Biology*. McGraw-Hill Companies. New York.
- Suzuki, D.T., Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., and Lewontin, R.C. 1993. *An Introduction to Genetic Analysis*. W.H. Freeman and co. New York.
- Syahza, A. 2011. Percepatan Ekonomi Pedesaan Melalui Pembangunan Perkebunan Kelapa Sawit. *Jurnal Ekonomi Pembangunan*. 12(2): 297-310.
- Tamarin, R. 1995. *Principles of Genetics*. Third Edition. WEB, Boston.
- Tommerup, I.C. 1984. Effect of Soil Water Potential on Spore Germination bt Vesicular Arbuscular Fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83: 193-202.
- Van Harten, A.V. 1998. *Mutation Breeding*. Theory and Practical Application. Cambridge University Press. London.
- Wanto dan Arief, S. 1981. *Dasar-dasar Mikrobiologi Industri*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Weaver, N.A and Hedrick, P.W. 1997. *Genetics 3rd eds*. Wm.C. Brown Publisher. Dubuque.
- Welsh, J. R. 1991. *Dasar-dasar Genetik dan Pemuliaan Tanaman*. Erlangga. Jakarta.