

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dan penanaman koro benguk dilaksanakan di rumah kaca. Analisis tanah dan tanaman dilaksanakan di laboratorium kimia, fisika dan biologi Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan laboratorium kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan selama bulan dimulai pada bulan September 2013 sampai dengan Juli 2014.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : Cangkul, gembor, polibag 20 x 30 cm, ajir, kertas label, rumah kaca, alat tulis, meteran, kamera, serta alat-alat yang digunakan pada analisis laboratorium berupa pH (Gelas Elektroda), C-Organik (metode *Walkley and Black*), KTK (Ekstraksi NH_4OAc pH 7), P tersedia (*Olsen*), pengamatan koloni mikoriza (*Grid Intersect*), dan kadar Kadmium dengan menggunakan AAS.

3.2.2. Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain : tanah yang diambil dari tanah sawah di daerah Sepanjang, Sidoarjo, Jawa Timur. Benih tanaman koro benguk, mikoriza *Glomus sp.*, air dan kompos dari UPT kompos Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.

3.3. Metode Penelitian

Perlakuan tersebut disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Faktorial dua faktor dengan diulang tiga kali, tiap ulangan terdiri dari enam kombinasi perlakuan. Faktor pertama adalah jumlah tanaman koro benguk (T) dengan dua taraf yaitu :

T1 = 1 tanaman / polibag

T2 = 2 tanaman / polibag

Faktor kedua adalah jumlah spora mikoriza *Glomus sp.* (M) dengan tiga taraf yaitu :

M0 = tanpa mikoriza

M1 = 15 spora mikoriza

M2 = 30 spora mikoriza.

3.4. Metode Pelaksanaan

3.4.1. Persiapan media tanam

Persiapan media tanam terdiri atas tiga bahan yang digunakan, yaitu :

1. Tanah

Sampel tanah sawah tercemar yang digunakan berasal dari tanah sawah tercemar limbah di Dusun Simowau, Kelurahan Sepanjang, Kecamatan Taman, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Sampel tanah diambil pada kedalaman 0-20 cm. Kadar Kadmium yang terdapat dalam sampel tanah adalah 0,997 ppm. Menurut Soepardi (1983), kisaran kadar logam berat sebagai pencemar dalam tanah untuk logam Kadmium adalah 0.1-7 ppm. Media tanam yang digunakan adalah tanah (lolos ayakan 2 mm) sebanyak 5 kg yang diletakkan dalam polibag berukuran 20 x 30 cm.

2. Tanaman koro benguk

Benih tanaman koro benguk varietas putih diperoleh dari Desa Sawangan, Kecamatan Pituruh, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah. Jumlah benih tiap polibag sesuai dengan perlakuan yang telah ditetapkan.

3. Mikoriza

Mikoriza yang digunakan adalah endomikoriza jenis *Glomus sp.* (dalam bentuk tercampur tanah dengan kerapatan 15 spora/gram tanah) yang diperoleh dari CV Bio Apply, Malang, Jawa Timur. Endomikoriza *Glomus sp.* didapat dengan menggunakan metode *sieving dan decanting*. Langkah pertama yang dilakukan adalah mengambil sampel tanah dari daerah perakaran tanaman putri malu. Tanah tersebut dimasukkan ke dalam saringan empat tingkat dengan ukuran 160 μ m, 135 μ m, 55 μ m dan 35 μ m yang kemudian dialiri air. Tanah yang tertinggal pada saringan ketiga dan keempat ialah tanah yang dengan spora mikoriza, tanah tersebut dijadikan suspensi dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah

ditambahkan larutan gula 60%. Penambahan ini bertujuan untuk mengikat tanah, sehingga tanah akan mengendap dan spora mikoriza akan naik ke atas. Tabung yang berisi suspensi selanjutnya dimasukkan ke dalam sentrifuse dan diputar dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Dari hasil sentrifugasi, supernatan dimasukkan ke dalam saringan keempat dengan ukuran 35 μm dan dibilas dengan menggunakan air untuk menghilangkan larutan gula. Selanjutnya, hasil saringan ini dimasukkan ke dalam cawan petri dan dilakukan pengamatan serta identifikasi jamur di bawah mikroskop.

Setelah mendapat isolat, mikoriza diperbanyak dengan menggunakan inang tanaman jagung. Langkah pertama yang dilakukan dalam proses pembiakan mikoriza adalah menyiapkan tanah steril di dalam pot plastik, kemudian memasukkan benih jagung dan mikoriza di dalamnya. Spora jamur mikoriza akan berkecambah dan mengeluarkan hifa yang akan bersentuhan dengan akar sehingga terjadi simbiosis mutualisme. Mikoriza berkembang seiring pertumbuhan perakaran tanaman jagung. Mikoriza diaplikasikan dengan cara dicampur dengan tanah.

3.4.2. Metode penanaman

Metode penanaman yang dilakukan pada penelitian ini adalah :

1. Pembenuhan dan penanaman

Untuk mempercepat perkecambahan biji, sebelum ditanam biji koro benguk direndam terlebih dulu dalam air selama 24 jam kemudian ditiriskan. Pembenuhan dilakukan selama 1 minggu, untuk mendapatkan benih yang seragam. Setelah umur 1 minggu, benih dipindah ke dalam polibag dengan diisi benih 1 atau 2 biji / polibag.

2. Pemeliharaan

Penyulaman dilakukan secepatnya apabila pada awal tanam terlihat biji yang tidak tumbuh. Penyiangkan dilakukan pada saat tanaman berumur (30-42 hari) (Pandiangnan, 2008). Sedangkan penyiraman dilakukan setiap hari. Ajir setinggi 1,5 meter dipasang sebagai media untuk merambat. Jarak antar polibag 30cm x 30cm. Tidak dilakukan pemupukan karena hasil dari

analisis dasar tanah, konsentrasi tanah telah dapat memenuhi kebutuhan tanaman koro benguk.

3.4.3. Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan sebelum tanam, pengamatan tiap minggu hingga minggu ketujuh dan setelah tanam. Metode pengamatan dan waktu dilaksanakannya terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter Pengamatan

ASPEK	PARAMETER	METODE	WAKTU (mst)
Tanah	pH	Gelas Elektroda 1:1	0 dan 7
	KTK	NH ₄ OAc pH 7	0
	P tersedia	Olsen	0
	N total	Kjeldahl	0
	C-organik	Walkey dan Black	0
	Tekstur	Pipet	0
	Kadmium	AAS	0 dan 7
Tanaman	Bobot kering tanaman	Ditimbang	7
	Kadmium	AAS	7
	Akar terinfeksi mikoriza	Pewarnaan <i>Trypan</i>	7
	<i>Glomus sp.</i>	<i>Blue</i>	

Keterangan : mst = minggu setelah tanam

Parameter pengamatan yang dilakukan yaitu :

1. Bobot kering tanaman

Bobot kering tanaman dilakukan pada saat setelah panen, setelah itu tanaman dikeringkan pada suhu 70 °C selama dua hari. Bobot kering diperoleh dengan menimbang tanaman yang telah dikeringkan sampai diperoleh berat yang konstan.

2. Analisis Kadmium

Analisis Kadmium pada tanaman dilakukan pada 7 mst. Analisis dilakukan pada akar, tajuk tanaman koro benguk, dan residu pada tanah.

3. Akar terinfeksi mikoriza

Perhitungan persen koloni mikoriza dilakukan dengan pengambilan secara acak potongan-potongan akar yang telah diwarnai sepanjang 1 cm. Potongan akar tersebut disusun dalam kaca objek. Satu kaca objek untuk 10 potong akar, Dihitung jumlah akar yang terinfeksi mikoriza dari 10 potong akar tersebut

dan diulangi hingga tiga kaca objek. Presentase akar yang terinfeksi dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Infeksi mikoriza} = \frac{\text{jumlah akar terinfeksi}}{\text{jumlah akar yang diamati}} \times 100\%$$

3.5. Analisis Statistik

Data penelitian dianalisis keragamannya untuk melihat pengaruh perlakuan, selanjutnya diuji dengan F tabel 5%. Jika terdapat pengaruh, uji T dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

