

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di rumah kaca Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, laboratorium kimia dan biologi Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan maret sampai Mei 2016.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, penggaris/meteran, *polybag*, label, oven, ember, cawan petri, spektrofotometer, mortar dan penumbuk, pinset, sentrifuse, fial film, mikroskop, kaca objek, kaca penutup, autoklaf, kamera digital dan alat tulis.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih selada daun varietas *Crispa*, Mikoriza Arbuskular (MA) yang sudah jadi dari HPT, pupuk kandang ayam, pupuk dasar (Urea, SP-36, KCl), air dan Alfisol dari lahan percobaan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Jaticerto, Malang.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, dengan 2 faktor. Faktor pertama yaitu pupuk kandang ayam dan faktor kedua yaitu Mikoriza Arbuskular (MA). Perlakuan yang akan digunakan pada tanaman ialah:

Faktor 1 ialah pupuk kandang ayam

1. A0 : Tanpa pupuk kandang ayam
2. A1 : Pemberian pupuk kandang ayam 100 g/*polybag* = 39 t/ha

Faktor 2 ialah MA

1. M0 : Tanpa MA
2. M1 : MA 5 g/*polybag* = 1.9 t/ha
3. M2 : MA 10 g/*polybag* = 3.9 t/ha
4. M3 : MA 15 g/*polybag* = 6.6 t/ha

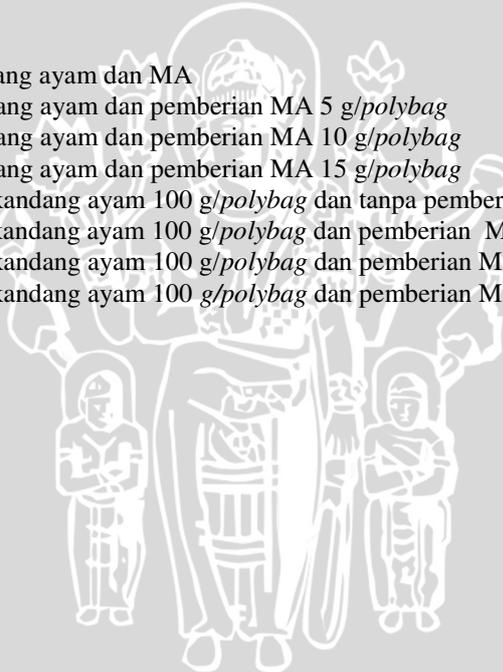
Dari kedua faktor tersebut diperoleh 8 kombinasi perlakuan yang diulang 3 kali. Adapun 8 kombinasi tersebut adalah (Tabel 1) :

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Dosis Pupuk Kandang Ayam dan MA

Perlakuan		Ulangan			Total
Pupuk Kandang Ayam	MA	1	2	3	
A0	M0	A0 M0	A0 M0	A0 M0	
	M1	A0 M1	A0 M1	A0 M1	
	M2	A0 M2	A0 M2	A0 M2	
	M3	A0 M3	A0 M3	A0 M3	
A1	M0	A1 M0	A1 M0	A1 M0	
	M1	A1 M1	A1 M1	A1 M1	
	M2	A1 M2	A1 M2	A1 M2	
	M3	A1 M3	A1 M3	A1 M3	

Keterangan :

- A0 M0 : Tanpa pupuk kandang ayam dan MA
- A0 M1 : Tanpa pupuk kandang ayam dan pemberian MA 5 *g/polybag*
- A0 M2 : Tanpa pupuk kandang ayam dan pemberian MA 10 *g/polybag*
- A0 M3 : Tanpa pupuk kandang ayam dan pemberian MA 15 *g/polybag*
- A1 M0 : Pemberian pupuk kandang ayam 100 *g/polybag* dan tanpa pemberian MA
- A1 M1 : Pemberian pupuk kandang ayam 100 *g/polybag* dan pemberian MA 5 *g/polybag*
- A1 M2 : Pemberian pupuk kandang ayam 100 *g/polybag* dan pemberian MA 10 *g/polybag*
- A1 M3 : Pemberian pupuk kandang ayam 100 *g/polybag* dan pemberian MA 15 *g/polybag*



3.4. Pelaksanaan penelitian

3.4.1. Pengambilan tanah

Pengambilan tanah di lahan Jatikerto, Malang pada kedalaman 0-30 cm. Sebagian dari tanah yang diambil digunakan untuk pengukuran analisis dasar kimia tanah yaitu analisis P (P total dan P tersedia), pH dan C-organik tanah. Selanjutnya tanah yang sudah diambil lalu dikeringudarkan dan diayak.

3.4.2. Persiapan Penanaman

a. Persiapan media

Tanah yang sudah dikeringudarkan dan diayak lalu dihomogenkan bersamaan dengan pupuk kandang sesuai perlakuan dengan cara diaduk sampai rata. Setelah homogen kemudian dimasukkan ke dalam *polybag* 5 kg kering angina (kadar air awal Alfisol = 8 %), lalu disusun berdasarkan denah percobaan.

b. Persemaian bibit

Sebelum benih di tanam di *polybag* terlebih dahulu di semai. Tujuan persemaian ialah untuk meminimalisir kematian bibit sewaktu awal pertumbuhan. Persemaian dilakukan selama 14-16 hari lalu dilakukan seleksi.

b. Penanaman

Penanaman dimulai dengan membuat lubang tanam 2 cm pada media tanam, lalu menambahkan mikoriza sesuai perlakuan. Mikoriza yang diberikan dalam bentuk granular dengan komposisi 11 spora /1 g pupuk mikoriza jenis *glomus* dan *acalauspora*. Setelah penambahan mikoriza pada lubang tanam kemudian bibit dimasukkan ke dalam media tanam yaitu 1 bibit/lubang tanam lalu ditutup kembali dengan tanah.

c. Pemupukan

Aplikasi pupuk dasar sesuai dosis anjuran yaitu Urea 430 kg/ha, SP-36 yaitu 270 kg/ha, KCL 160 kg/ha yang diberikan sekali saat tanam pada sisi kiri-kanan tanaman.

d. Pemeliharaan tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman dan penyiangan. Penyiraman dilakukan 2 kali sehari yaitu pagi dan sore hari. Untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhannya, selada memerlukan air sebanyak 380 ml/hari. Penyiangan tanaman selada dilakukan dengan mencabut gulma secara manual.

e. Panen

Pemanenan selada dapat dilakukan pada umur tanaman 30-45 hari setelah tanam dengan cara membuka *polybag* dan membersihkan tanah pada daerah perakaran tanaman untuk mendapat bobot kering tanaman. Tanaman dipindahkan kemudian dioven. Akar tanaman diambil sebagian untuk pengamatan infeksi mikoriza pada perakaran tanaman.

3.5. Variabel Pengamatan

3.5.1. Tinggi Tanaman

Pengukuran tinggi tanaman selada dilakukan pada saat 1, 2, 3 dan 4 MST. Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dengan cara mengukur tanaman mulai dari pangkal batang (batas dengan akar penyangga) sampai ujung daun yang terpanjang menggunakan penggaris dalam satuan centimeter (cm) lalu dicatat hasilnya.

3.5.2. Jumlah Daun Tanaman

Pengukuran tinggi tanaman selada dilakukan pada saat 1, 2, 3 dan 4 MST. Perhitungan jumlah dilakukan dengan cara menghitung jumlah helai daun pada tiap sampel tanaman. Perhitungan jumlah daun tanaman selada dilakukan pada daun yang telah membuka.

3.5.3. Bobot Segar Tanaman

Penimbangan bobot segar tanaman selada dilakukan setelah masuk masa panen yaitu dengan mencabut tanaman secara hati-hati agar tanaman tidak rusak dan akar tidak putus. Tanaman dibersihkan dari tanah-tanah yang menempel, setelah itu tanaman dikeringanginkan selama ± 15 menit kemudian ditimbang dengan timbangan analitik dengan satuan gram (g).

3.5.4. Bobot Kering Tanaman

Tanaman selada yang akan dihitung bobot keringnya dimasukkan ke dalam amplop dan diberi label. Tanaman selada di oven pada suhu 110 °C selama 24 jam di laboratorium kimia Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Setelah di oven 24 jam kemudian ditimbang dengan timbangan analitik dengan satuan gram (g).

3.5.5. Serapan P Tanaman

Serapan hara P adalah jumlah hara P yang masuk ke dalam jaringan tanaman. Manfaat dari angka serapan hara yaitu untuk mengetahui efektifitas pemupukan, pengangkutan hara dalam tanaman dan mengetahui takaran rekomendasi pemupukan. Analisa serapan P tanaman dilakukan pada akhir tanam dengan menggunakan metode destruksi basah. Destruksi basah merupakan penghancuran semua bagian tanaman dengan asam keras dan temperature tinggi. Sampel yang telah diambil dibersihkan lalu dioven dengan suhu (70-75 °C). Bagian tanaman tersebut dihaluskan dan disaring dengan kehalusan 1 mm lalu didestruksi basah dengan campuran asam sulfat pekat dan hydrogen peroksida. Pengukuran kadar hara P dalam larutan destruksi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer, yaitu mengukur nilai absorban larutan. Rumus perhitungan serapan hara yaitu :

$$\text{Serapan P} = \text{Kadar Hara (\%)} \times \text{Bobot Kering (g)}$$

3.5.6. Jumlah Spora Mikoriza

Perhitungan jumlah spora yaitu untuk mengetahui jumlah spora yang telah menginfeksi dan berkembang pada perlakuan yang dilakukan. Teknik yang digunakan dalam isolasi spora mikoriza yaitu teknik *wet-sieving* dan *decanting* atau teknik penyaringan basah. Perhitungan jumlah spora dilakukan dengan mengambil 100 g/media tanam setiap perlakuan kemudian dilakukan penyaringan basah lalu penambahan larutan gula dan sentrifuge dan selanjutnya diamati dengan mikroskop. Pengamatan jumlah spora meliputi morfologi secara mikroskopis spora kemudian diidentifikasi dengan pedoman yang digunakan untuk menentukan jenis MA yang ditemukan.

3.5.7. Infeksi Akar (Kolonisasi Akar)

Pengamatan infeksi akar bertujuan untuk mengetahui persentase akar yang diinfeksi oleh mikoriza. Metode yang dilakukan yaitu menggunakan teknik pewarnaan akar (*staining akar*), karena karakteristik anatomi yang mencirikan ada tidaknya infeksi mikoriza tidak dapat dilihat secara langsung. Oleh karena itu, akar-akar tersebut diwarnai dan diamati menggunakan mikroskop. Perhitungan infeksi akar dimulai dengan mengambil akar tanaman bagian ujung (masih aktif tumbuh) dan dipotong sepanjang 2 cm. Pewarnaan menggunakan *trypan blue*

(Koske dan Gemma, 1989) lalu diamati melalui mikroskop dengan meletakkan akar yang telah diberi warna ke dalam kaca preparat. Bulatan-bulatan berwarna gelap (biru jika digunakan *trypan blue* dan merah jika digunakan *acid fuchsin*) adalah vesikel yang saling bersambungan satu sama lain, atau misellium-misellium yang berbentuk pohon yang membelit pada sel-sel akar disnut arbuskel sedangkan benang-benang halus pada akar tanaman disebut sebagai hifa. Perhitungan persentase infeksi (Alkareji, 2008):

$$\% \text{ infeksi} = \frac{\text{akar yang terinfeksi}}{\text{akar yang diamati}} \times 100\%$$

3.5.8. Efektifitas

Efektivitas adalah pencapaian target output yang diukur dengan cara membandingkan output perlakuan dengan output perlakuan lainnya. Suatu kegiatan dikatakan efektif jika output seharusnya lebih besar daripada output sesungguhnya. Menurut Sivan dan Chet (1986) efektivitas adalah suatu ukuran yang menyatakan seberapa jauh target (kuantitas, kualitas, dan waktu) telah tercapai. Semakin besar persentase yang dicapai, maka semakin tinggi efektivitasnya.

Rumus efektifitas (Sivan dan Chet, 1986) :

$$E = \frac{\text{Perlakuan} - \text{Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistic untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan meliputi analisis ragam (uji F taraf 5 %). Apabila ditemukan perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Untuk mengetahui hubungan antar variabel dilakukan uji korelasi dan regresi.