

### **III. METODE PENELITIAN**

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

Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Juli 2017 yang bertempat di UB Forest Kecamatan Karangploso Kabupaten Malang. Tempat tersebut dilakukan untuk mengambil sampel tanah dan akar tanamannya. Sampel yang digunakan pada sistem tumpangsari tanaman Mahoni dan beberapa tanaman semusim. Plot pengamatan berada pada koordinat 49 UTM latitude 676482 dan longitude 9133185 hingga latitude 676110 dan longitude 9133608 (Lampiran 1 dan Lampiran 7).

Untuk analisis sampel tanah dan akar hingga tahap isolasi MA dilakukan di Laboratorium Biologi, Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Analisis bahan organik, P-tersedia dan pH tanah dilakukan di Laboratorium Kimia, Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.

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

Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah adalah pisau atau sekup, kantong plastik ember, cangkul, kantong plastik, dan spidol serta kertas label. Meteran dan tali rafia digunakan untuk mengukur dan menandai plot. Alat untuk pengamatan di laboratorium adalah saringan 250  $\mu\text{m}$ , 105  $\mu\text{m}$  dan 53  $\mu\text{m}$ , tabung sentrifuse, cawan petri, pinset spora, mikroskop, kaca preparat dan kamera.

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dan identifikasi mikoriza yaitu *aquadest* sebagai pelarut dan air gula dengan konsentrasi 60%, sedangkan untuk menghitung kolonisasi MA mikoriza pada akar menggunakan bahan akar tanaman, KOH 10%, HCl 2% dan *trypan blue* dalam laktofenol 0.05%. Kemudian bahan yang digunakan unyuk analisa kimia tanah (bahan organik, p-tersedia dan pH tanah) seperti  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , indikator Difenilamina,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , pengekstrak Bray 1, Reagen B dan *aquadest*.

#### **3.3. Metode Penelitian**

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode survei terlebih dahulu. Kemudian pengambilan sampel tanah menggunakan *Random Sampling* yaitu setiap pengambilan sampel dilakukan secara acak. Metode tersebut

merupakan metode pengembangan oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Sahner *et al.*, (2015).

Plot-plot yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan penggunaan lahan yang berada disana. Plot-plot tersebut terdiri dari Kawasan Lindung (KL), Mahoni + Talas (MT), Mahoni + Rumput Gajah (MR), Mahoni + Cabai (MC) dan Mahoni + Kunyit (MKY). Masing-masing plot memiliki 3x ulangan. Jarak antar ulangannya minimal 200 meter. Kemudian masing-masing plot memiliki 3 sub-plot untuk diambil sampel tanahnya. Secara keseluruhan akan didapatkan 45 sampel yang akan diidentifikasi mikoriza pada tanah. Untuk sampel tanah yang digunakan analisis MA dan kimia tanah sebanyak 2 kg per sub-plot dengan kedalaman 20 cm.

Kemudian untuk pengambilan sampel akar pada tanaman semusim dilakukan pada jarak 10 cm dari tanaman. Sedangkan untuk pengambilan sampel akar tanaman mahoni dan tanaman pada hutan lindung dilakukan pada jarak 20 cm dari tanaman. Sampel akar diambil sebanyak 5 g per sub-plot.

### **3.4. Pelaksanaan Penelitian**

Ada 3 tahap pelaksanaan penelitian yang dapat dilakukan yaitu (1) pengambilan sampel tanah (2) Isolasi dan Identifikasi MA, dan (3) Pewarnaan dan identifikasi MA pada Akar tanaman.

#### **1.4.1. Pengambilan Sampel Tanah dan Akar Tanaman**

Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan metode *random sampling* pada setiap plotnya, setiap plot ditentukan berdasarkan jenis tanaman yang berbeda. Setelah menentukan jenis tanaman yang digunakan sebagai plot, ditentukan koordinatnya. Ukuran yang digunakan setiap plotnya yaitu 20 x 20 meter. Masing-masing plot memiliki 3 sub-plot. Ukuran masing-masing sub-plot yaitu 5 x 5 meter (Lampiran 2). Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan menggunakan bor tanah atau cangkul dengan kedalaman yang ditentukan berkisar 20 cm dari permukaan tanah. Untuk pengambilan akar tanaman semusim dilakukan pada jarak yang berkisar antara 2-5 cm dan pada tanaman mahoni berkisar 5-10 cm. Sampel yang telah diambil kemudian dimasukkan kedalam plastik dan dianalisis di Laboratorium.

#### 1.4.2. Isolasi dan Identifikasi MA

Analisis mikoriza pada setiap sampel dilakukan dengan metode ayakan basah (*Wet Sieving*). Metode ini merupakan metode yang dikembangkan oleh Brundett *et al* (1996). Langkah-langkah dari metode ayakan basah dapat dilihat pada (lampiran 3c). Metode ini digunakan untuk memisahkan antara tanah dengan spora MA.

#### 1.4.3. Pewarnaan dan identifikasi kolonisasi MA pada Akar tanaman

Perhitungan kolonisasi MA pada akar tanaman dilakukan menggunakan sampel akar yang diambil dari *rhizosfir* di lapangan. Pengamatan kolonisasi MA dilakukan dengan teknik pembersihan dan pewarnaan akar (lampiran 3d). Metode ini berdasarkan pemaparan yang dilakukan oleh Brundrett *et al.*, (1996). Bagian akar tanaman yang diamati yaitu bulu akar.

### 3.5. Parameter Pengamatan

Sampel tanah dan akar tanaman yang telah diambil dari masing-masing plot, kemudian dilakukan pengamatan berdasarkan parameter pengamatan penelitian. Parameter pengamatan dalam penelitian ini yaitu Identifikasi spora mikoriza, kolonisasi mikoriza pada akar tanaman, bahan organik tanah, P-tersedia, pH tanah, Luas Bidang Dasar (LBD) dan kerapatan tajuk (Tabel 1).

**Tabel 1.** Parameter pengamatan keanekaragaman MA di UB Forest Malang

No	Pengamatan	Variabel yang diamati	Metode Pengamatan
1.	Identifikasi spora mikoriza	Jumlah dan jenis mikoriza per 100 g tanah	<i>Wet Sieving</i>
2.	Kolonisasi mikoriza pada akar tanaman	Persentase koloni MA yang menginfeksi akar tanaman	<i>Staining</i>
3.	Bahan organik	Kandungan bahan organik tanah	<i>Walkey and Black</i>
4.	P-Tersedia	Kandungan unsur hara fosfor yang tersedia bagi tanaman	<i>Bray I</i>
5.	pH tanah	Tingkat kemasaman tanah	pH dengan pelarut H <sub>2</sub> O
6.	Luas Bidang Dasar	Lingkar lilit dan DBH batang tanaman	Pengukuran lingkar
7.	Kerapatan Tajuk	Persentase kerapatan tajuk	" <i>Pixel</i> "

Setiap parameter dilakukan untuk melihat pengaruhnya dalam keanekaragaman MA. Langkah kerja pada setiap parameter pengamatan yang dilakukan dalam keanekaragaman MA dapat dilihat pada (Lampiran 3). Setelah data pada setiap parameter didapatkan, kemudian dilakukan analisis data untuk melihat pengaruhnya terhadap jumlah spora MA yang didapatkan.

### **3.6. Analisis Data**

Data yang akan didapatkan, selanjutnya dilakukan tabulasi data untuk melihat perkembangan dan validasi (kebenaran) data yang telah dianalisis. Kemudian dilakukan analisis sumber keberagamannya atau ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk melihat perbedaan variabel yang diukur pada penggunaan lahan di UB Forest dengan menggunakan aplikasi *GenStat*. Jika diketahui keberagamannya terdapat perbedaan yang signifikan akan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf 5% untuk melihat perbedaan secara nyata atau tidak antar penggunaan lahan.

Untuk mengetahui tingkat keeratan antara jumlah spora mikoriza dengan parameter pengamatan yang lain (kerapatan tajuk, LBD, bahan organik tanah, P-tersedia tanah dan pH tanah) dilakukan uji korelasi. Untuk mendapatkan nilai korelasi menggunakan aplikasi Ms. Excel.