

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei hingga November 2012. Pada penelitian pendahuluan yaitu pengamatan dan perbanyakan mikoriza dilakukan di Laboratorium Mikologi Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Sedangkan untuk penelitian selanjutnya bertempat di kebun percobaan Fakultas Pertanian, desa Jatikerto, kecamatan Kromengan, kabupaten Malang. Lokasi percobaan terletak pada ketinggian 303 meter di atas permukaan laut, Suhu minimal berkisar 18 – 21°C, suhu maksimal antara 30 - 33°C, dan curah hujan 100 mm/bln.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah, timbangan analitik, jangka sorong, meteran, oven, LAM, mikroskop, dan cangkul.

Adapun bahan yang digunakan adalah benih jagung ketan (*Zea mays ceratina*), pupuk anorganik NPK 15-15-15 sesuai perlakuan, CMA, dan bokashi. Untuk pengendalian hama dan penyakit digunakan pestisida. Sedangkan untuk pengamatan besar derajat infeksi mikoriza pada akar menggunakan larutan KOH 10%, larutan alkali H₂O₂, larutan HCl 0,01%.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang disusun secara non faktorial dengan perlakuan sebagai berikut:

- P₀ : Pupuk anorganik 100%
- P₁ : Bokashi + pupuk anorganik 100%
- P₂ : Bokashi + pupuk anorganik 75%
- P₃ : Bokashi + pupuk anorganik 50%
- P₄ : CMA + pupuk anorganik 100%
- P₅ : CMA + pupuk anorganik 75%
- P₆ : CMA + pupuk anorganik 50%
- P₇ : CMA + bokashi + pupuk anorganik 100%
- P₈ : CMA + bokashi + pupuk anorganik 75%
- P₉ : CMA + bokashi + pupuk anorganik 50%

Dosis CMA yang diberikan pada perlakuan adalah 5 tablet, dimana berat setiap tablet \pm 5 gram dengan jumlah spora 3-4. Selain CMA, dalam penelitian ini juga digunakan bokashi dan pupuk naorganik sebagai perlakuan yang lain. Pada perlakuan pemanfaatan bokashi, dosis yang digunakan adalah 28 ton ha⁻¹, sedangkan untuk perlakuan pupuk anorganik, dosis yang digunakan adalah dosis pupuk anjuran (rekomen-dasi) yaitu 350 kg ha⁻¹.

1. Untuk perlakuan pemupukan 100% NPK 15-15-15 : 350 kg ha⁻¹
2. Untuk perlakuan pemupukan 75% NPK 15-15-15 : 263 kg ha⁻¹
3. Untuk perlakuan pemupukan 50% NPK 15-15-15 : 175 kg ha⁻¹

3.4. Persiapan Penelitian

3.4.1. Sterilisasi tanah

Sterilisasi tanah dilakukan dengan menggunakan *autoclave*. Tanah yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam kantong plastik, kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* dan disterilkan pada suhu 121°C selama \pm 2 jam. Tanah yang disterilkan kemudian digunakan untuk perbanyak-an CMA.

3.4.2. Isolasi spora mikoriza

Isolasi spora dilakukan dengan mengambil tanah sampel sebanyak 100 gram, kemudian diperlakukan dengan metode *sieving* and *decanting*. Metode ini bertujuan untuk memisahkan spora mikoriza dari partikel tanah bahan organik. *Sieving* dilakukan secara berurutan pada saringan berdiameter 135 μ m, 55 μ m, 35 μ m. Suspensi yang tertinggal pada saringan 55 μ m dan 35 μ m selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse dengan ditambahkan larutan gula 60% sebanyak 1/3 dari volume suspense dan disentrifuse pada kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Fungsi sentrifuge disini adalah untuk menghomogenkan larutan, sehingga larutan tanah dan larutan gula akan terpisah. Larutan yang berat jenisnya lebih besar akan terendap di dasar tabung, dan spora-spora mikoriza akan terapung di atas larutan

Supernatan yang dihasilkan dari hasil sentrifuse selanjutnya langsung dituangkan ke dalam cawan petri dan dilakukan pengamatan mikroskopis. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara meletakkan satu spora di atas object glass. Dari pengamatan mikroskopis ini telah teridentifikasi jenis spora

adalah *Glomus* sp., dengan cirri-ciri spora bulat atau lonjong, berwarna coklat kemerahan, coklat kekuningan, dinding berwarna coklat (Hartoyo, *et al.*, 2011)

3.4.3. Perbanyak mikoriza

Perbanyak mikoriza bertujuan untuk menyediakan jumlah mikoriza yang dibutuhkan pada penelitian di lapang. Perbanyak mikoriza dilakukan dengan inang tanaman jagung yang ditanam pada gelas plastik dengan media tumbuh tanah steril. Tanah bermikoriza yang akan dibiakkan diinokulasikan sebanyak \pm 10 gram dan diletakkan 2 cm di bawah benih yang telah ditanam. Spora yang diinokulasikan diletakkan dalam corong kertas tisu, kemudian benih jagung dilapisi dengan tanah setebal 2 cm. Tanaman dipanen setelah berumur \pm 30 hari dengan cara membongkar akar beserta tanahnya untuk mendapatkan spora yang kemudian dihitung kerapatan spora mikorizanya di laboratorium.

3.4.4. Pembuatan tablet mikoriza

Tablet mikoriza dibuat dari tanah hasil perbanyak mikoriza. Tanah ditambah dengan sedikit air kemudian dicetak dengan pencetak hingga memadat dan menjadi tablet.

3.4.5. Perhitungan Jumlah Spora

Perhitungan jumlah spora dalam tanah dilakukan setelah berbentuk tablet. Menurut Waluyo (2005) populasi mikroorganisme setiap sampel tanah (g) dapat dihitung menggunakan rumus :

$$P = \frac{M}{10^{-4}} \times T$$

Keterangan :

- P : Populasi keragaman mikroorganisme setiap gram sampel tanah
- M : Jumlah mikroorganisme
- T : Jumlah sampel tanah (g)

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Persiapan lahan

Persiapan lahan dimulai dari pengolahan tanah dengan cara membalik dan memecah bongkahan tanah. Pengolahan dilakukan hingga tanah menjadi gembur, rata dan bersih dari sisa-sisa perakaran gulma. Setelah tanah diolah dibuat

bedengan bedengan dengan jarak antar bedengan 75 cm. Kemudian dibuat plot-plot percobaan dengan ukuran 2,25 m x 2,75 m.

3.5.2. Penanaman

Penanaman jagung dilakukan dengan cara menugal lahan yang telah diolah sedalam ± 5 cm. Sistem penanaman menggunakan sistem *double row* dengan jarak tanam jagung adalah 40 cm x 25 cm serta jarak tanaman antar bedeng 110 cm. Kemudian benih jagung dimasukkan sebanyak dua benih tiap lubang tanam.

3.5.3. Pengaplikasian cendawan mikoriza arbuskular (CMA)

Pengaplikasian tablet CMA dilakukan bersamaan ketika penanaman berlangsung. Pemberian CMA dilakukan pada perlakuan P₄, P₅, P₆, P₇, P₈ dan P₉ dengan dosis 5 tablet tiap lubang tanam dimana setiap tablet CMA mempunyai berat ± 3 gram. Pengaplikasian CMA dilakukan setelah dibuat lubang tanam. CMA dimasukkan ke dalam lubang tanam menggunakan bantuan kertas tisu yang dibuat seperti corong. Hal tersebut dilakukan agar CMA mempunyai tempat yang spesifik dan tepat pada lubang tanam, kemudian CMA dilapisi oleh tanah setebal ± 2 cm. Setelah CMA dilapisi oleh tanah, maka benih siap dimasukkan ke dalam lubang tanam.



Gambar 1. Cara aplikasi CMA

3.5.4. Pemupukan

Pemupukan dilakukan 3 tahap, yaitu pemupukan dasar, pemupukan susulan I, dan pemupukan susulan II. Perlakuan pemupukan dilakukan pada 3 taraf yang terdiri dari 350 kg ha⁻¹ (100%), 263 kg ha⁻¹ (75%), dan 175 kg ha⁻¹ (50%). Pemberian bokashi dilakukan 7 hari sebelum penanaman. Pemberian pupuk bokashi sebanyak 28 ton ha⁻¹ dilakukan pada perlakuan P₁, P₂, P₃, P₇, P₈, dan P₉. Kemudian pemupukan susulan dilakukan dengan pemberian pupuk NPK anorganik sesuai pada perlakuan P₄, P₅, P₆, P₇, P₈, dan P₉.

3.5.5. Penyiangan dan pembubunan

Penyiangan pertama dilakukan pada umur 14 hst. Penyiangan kedua dilakukan pada saat tanaman berumur 28 hst, bersamaan dengan waktu pemupukan dan saat terlihat gulma mulai tumbuh di sekitar tanaman.

Pembumbunan dilakukan dengan tujuan untuk menutup bagian di sekitar perakaran tanaman jagung agar batang menjadi kokoh, tidak mudah rebah, dan dilakukan untuk memperbaiki drainase serta mempermudah pengairan. Pembumbunan ini dapat dilakukan sewaktu-waktu atau pada saat pangkal batang hampir terlihat.

3.5.6. Pengairan

Pengairan dilakukan rutin sekali dalam 5 hari, terutama pada fase awal pertumbuhan dan keadaan cuacanya kering. Pengairan berikutnya disesuaikan dengan kondisi iklim.

3.5.7. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan cara memberikan insektisida. Hama yang umum mengganggu pertanaman jagung adalah tikus dan semut dan dikendalikan dengan menggunakan insektisida carbofuran. Penyakit yang banyak dijumpai pada tanaman jagung adalah penyakit bulai. Untuk penyakit dapat disemprot dengan propineb 70% dengan dosis 45 g/ tank isi 15 liter. Penyemprotan dilakukan pada saat tanaman jagung berumur 7 hst, 10 hst, dan 13 hst.

3.5.8. Panen

Jagung ketan yang dipanen untuk benih dipanen pada umur \pm 80 hari setelah tanam (hst). Panen dilakukan setelah jagung benar-benar masak secara fisiologis atau ditandai dengan menguningnya kelobot yang membungkus biji, mengeringnya tanaman jagung dan biji sudah mengeras.

3.6. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan pertumbuhan dan pengamatan hasil. Pengamatan pertumbuhan dilakukan secara non destruktif dan destruktif. Pengamatan non destruktif dilakukan dengan interval pengamatan 14 hari. Pengamatan dilakukan pada umur 14, 28, 42, dan 56 hst serta pada saat panen.

3.6.1. Pengamatan pertumbuhan tanaman

1. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diukur mulai dari permukaan tanah sampai dengan titik tumbuh teratas menggunakan meteran. Pengukuran pertama dilakukan ketika tanaman berumur 14 hst dengan interval 2 minggu sekali.

2. Jumlah daun

Dihitung semua daun yang muncul dan telah membentuk daun sempurna, kecuali daun yang sudah menguning dan mati.

3. Luas daun (cm²)

Hasil perhitungan luas daun digunakan untuk menganalisis Indeks Luas Daun (ILD), yang menunjukkan nisbah antara luas daun dengan luas tanah yang dinaungi. Menurut Sitompul dan Guritno (1995) diperoleh dengan rumus :

$$ILD = \frac{LD}{LA}$$

Keterangan : LD = luas daun total (cm²)

LA = luas area yang ternaungi/jarak tanam (cm²)

4. Bobot kering total tanaman

Pengamatan bobot kering total tanaman dilakukan dengan cara menimbang seluruh bagian tanaman yang telah di oven dengan suhu 80°C selama ± 2 x 24 jam hingga diperoleh bobot yang konstan. Pengamatan dilakukan pada 14, 28, 42, dan 56 HST. Hasil perhitungan ini digunakan untuk menganalisis laju pertumbuhan tanaman (CGR). Menurut Gardner, *et al.*, (1991), CGR dihitung dengan rumus:

$$CGR = \frac{W_2 - W_1}{T_2 - T_1} \times \frac{1}{GA} \text{ (g m}^{-2} \text{ /hari)}$$

Dimana:

W₂ : Bobot kering total tanaman pada saat pengamatan kedua (g)

W₁ : Bobot kering total tanaman pada saat pengamatan pertama (g)

T₂ : Waktu pengamatan kedua (hari)

T₃ : Waktu pengamatan pertama (hari)

GA : Luas tanah yang ternaungi (m²)

3.6.2. Pengamatan panen terdiri dari :

1. Bobot kering tongkol (g), dengan cara menimbang tongkol jagung tanaman yang telah dikeringkan.
2. Bobot pipilan kering tiap tongkol (g), tongkol yang telah dipanen dibersihkan dari kelobot yang menempel selanjutnya dikeringkan pada panas matahari. Biji yang sudah kering dipipil dari tongkolnya dan ditimbang.
3. Panjang tongkol (cm), panjang tongkol diukur mulai dari pangkal tongkol sampai ujung tongkol setelah klobot dikupas.
4. Diameter tongkol (cm), diameter tongkol diukur pada bagian tengah tongkol terbesar setelah kelobot dikupas.
5. Bobot 100 biji kering (g), bobot 100 biji kering diukur setelah biji jagung dipipil, diambil secara acak. Kemudian biji ditimbang masing-masing per sampel sebanyak 100 biji.

3.6.3. Infeksi mikoriza pada akar (%)

Besar infeksi mikoriza pada akar (%), pengukuran besar infeksi pada akar tanaman dilakukan pada saat panen. Pengamatan kolonisasi CMA pada akar tanaman dilakukan dengan teknik pembersihan dan pewarnaan akar dengan metoda Kormanik dan Mc. Graw.

Adapun cara kerja dari metoda Kormanik dan Mc Graw adalah dengan memilih akar halus (rambut akar) segar dengan diameter antara 0,2 hingga 2 mm, dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Akar yang sudah dicuci bersih dimasukkan ke dalam larutan KOH 10% dan dibiarkan selama 24 jam. Tujuannya adalah untuk mengeluarkan isi sitoplasma dari sel akar sehingga akan memudahkan dalam pengamatan infeksi CMA. Akar akan terlihat berwarna putih atau pucat. Akar tersebut dicuci dengan air mengalir selanjutnya direndam dalam larutan HCl 2% selama satu malam. Keesokan harinya akar dicuci kembali dengan air mengalir kemudian akar direndam dalam larutan *Trypan Blue* 0,05%, selanjutnya dalam larutan *Lacto Glycerol*.

Pengamatan total infeksi dilakukan dengan cara mengambil 10 potong akar yang sudah direndam dalam larutan *Lacto Glycerol* disusun di atas kaca preparat dan diamati di bawah mikroskop. Akar yang terinfeksi hifa, arbuskula atau

vesicular yang ditandai dengan (+). Sedangkan yang tidak terdapat hifa, arbuskular, atau vesicular ditandai dengan (-).

Menurut Musfal (2008), presentase akar yang terinfeksi dihitung berdasarkan rumus :

$$\% \text{ Akar terinfeksi} = \frac{\text{Jumlah akar yang terinfeksi (+)}}{\text{Jumlah seluruh akar yang diamati (+) dan (-)}} \times 100$$

3.7. Analisis Data

Data pengamatan yang diperoleh akan dianalisis menggunakan analisis ragam (uji F) pada taraf 5%. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji BNT taraf 5%.



3.8. Kerangka Operasional Penelitian

