

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan selama 6 bulan pada bulan Februari Juli 2017 di Laboratorium Bioteknologi dan *Greenhouse* Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta Jl. Lingkar Selatan, Taman Tirto, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, DIY.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi benih jagung sebagai tanaman inang, bibit singkong varietas Mentega, Kirik dan Ketan, pupuk kandang, air, Mikoriza *indigenus* Mediteran Gunungkidul, Mikoriza dari perakaran pandan pasir pantai Bugel, Mikoriza Komersial, tanah Mediteran, larutan KOH 10%, larutan HCl 1%, *Acid Fuchsin*, pupuk NPK, zeolit.

Alat-alat yang digunakan meliputi polybag, timbangan analitik, kertas saring, mikroskop, saringan bertingkat, pisau, *petridish*, botol semprot, botol jam, pinset, timbangan, *deglass*, kaca preparat, penggaris.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu tahap 1 adalah *trapping* Mikoriza dari berbagai sumber dengan tanaman jagung. Tahap 2 adalah uji kompatibilitas Mikoriza dari berbagai sumber pada tanaman singkong.

Tahap 1. *Trapping* Mikoriza dari berbagai sumber dengan tanaman jagung.

Penelitian eksperimen disusun dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan rancangan percobaan faktor tunggal yang terdiri dari 3 perlakuan berbagai sumber Mikoriza sebagai berikut :

A = *indigenous* Tanah Mediteran Gunungkidul

B = *Rhizosfer* tanaman pandan pantai Bugel

C = inokulum Mikoriza komersial

Setiap perlakuan diulang 3 kali sehingga diperoleh 9 unit, masing-masing terdiri dari 3 korban sehingga jumlah tanamannya adalah 27 polibag. (lampiran 4.1)

Tahap 2. Uji kompatibilitas Mikoriza dari berbagai sumber pada Tiga varietas singkong pada tanah Mediteran.

Penelitian eksperimen disusun dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan rancangan percobaan faktorial (3x3). Faktor 1 adalah Mikoriza dari berbagai sumber terdiri dari 3 aras yaitu: A = *indigenous* Tanah Mediteran Gunungkidul; B = *Rhizosfer* tanaman pandan pantai Bugel; C = inokulum Mikoriza komersial. Faktor 2 adalah varietas singkong terdiri dari 3 aras yaitu : P= Mentega; Q= Kirik; R= Ketan. Ada 9 kombinasi perlakuan, setiap perlakuan diulang 3 kali sehingga diperoleh 27 unit. Setiap unit terdiri dari 3 tanaman korban sehingga jumlah tanamannya adalah 81 polibag (lampiran 4.2).

D. Tata Laksana Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam 2 tahapan, yaitu :

1. Tahap Pertama : *Trapping* Mikoriza dari berbagai sumber dengan tanaman jagung

a. Persiapan media tanam

Persiapan media *trapping* Mikoriza dilakukan dengan cara membersihkan dan mengering-anginkan (lampiran 4.1a-lampiran 4.1f) lalu menimbang tanah *Rhizosfer* berbagai sumber (tanaman jagung di *indigenous* tanah Mediteran Gunungkidul, *rhizosfer* pandan pantai Bugel, dan tanah Mediteran dari Gunungkidul (lampiran 4.1). Tanah ditimbang sebanyak 2 kg/polibag pada masing-masing jenis tanah, dan menimbang pasir sebanyak 3 kg/polibag pada masing-masing jenis tanah. Pada *rhizosfer* pandan Gunungkidul dicampur dengan zeolite sebanyak 3kg/polybag (lampiran 4.1i).

Teknik pengisian media adalah polibag diisi pasir steril 1,5 kg, kemudian diisi tanah *rhizosfer* 2 kg dan terakhir ditutup dengan pasir steril 1,5 kg, sehingga media tanam tersusun atas pasir-tanah *rhizosfer*-pasir steril (Nurhayati, 2012), kecuali pada *rhizosfer* panda Gunungkidul yang dicampur dengan zeolit. Selanjutnya media tanam diberi air sampai kapasitas lapang dan diinkubasi selama 1 minggu. Setelah itu, diberi pupuk urea dengan dosis 5 gram/tanaman, dosis pupuk SP-36 3,75 gram/tanaman, dan dosis pupuk KCl 3,12 gram/tanaman dengan cara ditugalkan sedalam 5 cm dengan jarak 10 cm dari lubang tanam jagung (BALITBANG, 2016).

b. Penanaman

Setiap polibag dimasukan benih jagung sebanyak 2 biji dengan kedalaman 2 cm (lampiran 4.1j)

c. Pemeliharaan

i. Pemupukan : pupuk susulan diberikan pada saat tanaman berumur 3 atau 4 minggu setelah tanam dengan dosis urea sebesar 5 gram/tanaman. (lampiran 4.1m dan lampiran 4.1n)

ii. Pengairan

Setelah benih ditanam, dilakukan penyiraman intensif selama 1 minggu, kecuali bila tanah telah lembab maka tidak perlu dilakukan penyiraman. Pengairan berikutnya diberikan secukupnya selama 2 bulan. Setelah itu pengairan dihentikan dan tanaman dijemur di bawah terik matahari selama sebulan, untuk memberikan kondisi stress agar terbentuk spora mikoriza (lampiran 4.1o dan lampiran 4.1p)

iii. Pengamatan

Setiap bulan diambil tanaman korban dan diamati : infeksi Mikoriza, jumlah spora , identifikasi jenis spora mikoriza dan parameter perkembangan akar (lampiran 4.1q-lampiran 4.1t).

2. Tahap Kedua : Uji kompatibilitas Mikoriza dari berbagai sumber pada berbagai varietas tanaman jagung

a. Persiapan media tanam

Persiapan media tanam dilakukan dengan cara membersihkan tanah Mediteran *indigenous* Gunungkidul, dikering anginkan (lampiran 4.2a), lalu menimbang sebanyak 3 kg lalu dicampur dengan pupuk kandang sebanyak 500 gram/tanaman (lampiran 4.2b) kemudian diberi air sampai

kapasitas lapang dan diinkubasi selama 1 minggu (BPPKP Magelang, 2017). Pemupukan selanjutnya yaitu dengan upuk Urea 20 gram/tanaman, SP36 10 gram/tanaman dan KCl 10 gram/tanaman (Lampiran 2) setelah 1 minggu media diinkubasi. Pupuk diberikan dengan cara ditugalkan pada jarak 15 cm dari lubang tanam dengan kedalaman 10 cm.

b. Penanaman

Setiap polybag ditanam bibit singkong (20 cm) sedalam 5-10 cm secara tegak lurus, sesuai perlakuan. Selama sebulan dipelihara hingga mulai muncul akar (lampiran 4.2d).

c. Aplikasi Mikoriza

Apabila dari perhitungan jumlah spora didapatkan kurang lebih 50-60 spora/gram dan persentase infeksi kurang lebih 80% maka cukup diinokulasikan sebanyak 40 gram crude/tanaman dengan cara dimasukkan dalam lubang sebelum bibit singkong ditanam. Inokulum mikoriza hasil perbanyakan dari berbagai sumber, diberikan dengan metode *ring* pada setiap polibag dengan dosis 40 g/tanaman sesuai perlakuan (lampiran 4.1c)

d. Pemeliharaan :

i. Pemupukan

Pemupukan susulan diberikan setelah tanaman singkong berumur 3-4 bulan dengan dosis pupuk urea sebanyak 10 gram/tanaman, pupuk SP-36 5 gram/tanaman, dan pupuk KCl sebanyak 10 gram/tanaman. Pupuk

diberikan dengan cara ditugalkan pada jarak 15 cm dari tanaman dengan kedalaman 10cm.

ii. Pengairan

Kondisi lahan Singkong dari awal tanam sampai umur \pm 4–5 bulan hendaknya selalu dalam keadaan lembab, tidak terlalu becek. Pada tanah yang kering perlu dilakukan penyiraman dan pengairan dari sumber air yang terdekat. Pengairan dilakukan pada saat musim kering dengan cara menyiram langsung akan tetapi cara ini dapat merusak tanah. Sistem yang baik digunakan adalah sistem genangan sehingga air dapat sampai ke daerah perakaran secara resapan. Pengairan dengan sistem genangan dapat dilakukan dua minggu sekali dan untuk seterusnya diberikan berdasarkan kebutuhan.

e. Pengamatan

Setelah tanaman Singkong dipelihara selama 1 bulan, maka kemudian diamati efektivitas Mikorizanya dengan menghitung persen infeksi Mikoriza dan jumlah spora, sebagai berikut :

i. Isolasi spora MVA

Isolasi spora Mikoriza dilakukan dengan mengamati sampel tanah yang berasal dari rizosfer akar tanaman. Metode yang digunakan adalah wet sieving (penyaringan basah), yakni menyaring spora dengan penyaring bertingkat dengan ukuran mesh masing–masing 500, 250, 105, dan 53 μ m (Brundrett dkk., 1984). Sampel tanah sebanyak 10 g disaring dengan bantuan air mengalir. Spora selanjutnya dipindahkan pada kertas saring

yang telah diberi garis vertikal dan horizontal dengan ukuran kotak 2 cm x 2 cm untuk pengamatan. Spora–spora ini diamati dan dihitung jumlahnya di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x (Suharno dkk, 2014) dilarutkan dalam 1 liter aquades (1:4). Larutan dituang pada saringan, kemudian hasil saringan diamati di bawah mikroskop.

ii. Pengamatan infeksi MVA pada akar

Pengamatan infeksi spora MVA dilakukan dengan memotong akar tanaman singkong 1 cm sebanyak 3 x 20 potong per tanaman, kemudian direndam dengan larutan KOH 10% selama 24 jam, setelah itu akar dicuci dan direndam larutan HCl 1% selama 1 jam, dan direndam *acid fuchsin* selama 5 menit. Pengamatan ditujukan pada vesikula, hifa luaran, dan arbuskula dengan mikroskop perbesaran 40-400 kali (Kusumastuti, L. *et.al*, 2017).

E. Parameter Pengamatan

1. Tahap 1. *trapping* Mikoriza dari berbagai sumber dengan tanaman jagung

a. Persentase infeksi MVA (%)

Persentase infeksi MVA dilakukan pada bulan ke 1. 2 dan 3 dengan mengambil sampel 10 potongan akar tanaman jagung, dicat dengan *Acid Fuchsin*, kemudian diamati dengan mikroskop tentang persentase infeksi dengan rumus :

$$\text{Persentase Infeksi MVA} = \frac{\text{Jumlah akar yang terinfeksi}}{\text{Jumlah total akar yang diamati}} \times 100\%$$

b. Jumlah Spora (Spora/gram)

Pengamatan jumlah spora dilakukan pada bulan ke 1. 2 dan 3 dengan teknik penyaringan basah yaitu spora ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquades. Setelah itu disaring di saringan bertingkat lalu hasil saringan dituang pada corong yang telah diletakkan kertas saring. Selanjutnya jumlah spora diamati pada garis kertas saring di bawah mikroskop perbesaran 40x400 kali.

2. Tahap 2. Uji kompatibilitas Mikoriza dari berbagai sumber pada berbagai varietas singkong pada tanah Mediteran

a. Persentase infeksi MVA (%)

Persentase infeksi MVA dilakukan pada bulan ke 1. 2 dan 3 dengan mengambil sampel 10 potongan akar tanaman jagung, dicat dengan *Acid Fuchsin*, kemudian diamati dengan mikroskop tentang persentase infeksi dengan rumus :

$$\text{Persentase Infeksi MVA} = \frac{\text{Jumlah akar yang terinfeksi}}{\text{Jumlah total akar yang diamati}} \times 100\%$$

b. Jumlah Spora (Spora/ml)

Pengamatan jumlah spora dilakukan pada bulan ke 1. 2 dan 3 dengan teknik penyaringan basah yaitu spora ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquades. Setelah itu disaring di saringan bertingkat lalu hasil saringan dituang pada corong yang telah diletakkan kertas saring. Selanjutnya jumlah spora diamati pada garis kertas saring di bawah mikroskop perbesaran 40x400 kali.

c. Panjang akar (cm)

Pengukuran panjang akar tanaman menggunakan penggaris dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang. Pengamatan panjang akar dilakukan pada bulan ke 1, 2 dan 3 setelah tanam dan setelah diberi mikoriza pada tanaman korban dan hasilnya dinyatakan dalam satuan cm.

d. Tinggi Tanaman (cm)

Tinggi tanaman sampel diukur dari permukaan tanah sampai dengan titik tumbuh tanaman. Alat yang digunakan adalah penggaris atau meteran dengan satuan cm. Pengamatan dilakukan setiap minggu hingga masa vegetatif maksimal dimulai satu minggu setelah tanam.

e. Berat Segar Tanaman (gram)

Berat segar tanaman dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban bulan ke 1 2 dan 3 setelah aplikasi mikoriza lalu menimbang tanaman timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram.

f. Jumlah Daun (helai)

Pengamatan pertambahan jumlah daun dilakukan seminggu sekali dengan cara menghitung jumlah daun yang tumbuh pada masing-masing tanaman, dengan satuan helai.

3. Analisis Data

Hasil penelitian secara periodik dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan grafik dan histogram. Data hasil pengamatan agronomis dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (*Analisis of variance*) pada $\alpha=5\%$. Apabila ada beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf $\alpha=5$.