

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Agrobioteknologi dan lahan percobaan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Juni 2019.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquades, mikoriza *indigenous* Mediteran Gunungkidul, bibit singkong varietas Renek, KOH 10%, HCl 1%, *Acid Fuchsin*, perekat Indostik, pupuk NPK (KCl, Urea, SP-36), pupuk kandang.

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik, *beaker glass* 500 ml dan 250 ml, botol suntik, saringan dekantasi, pipet, botol semprot, kertas saring, *petridish*, mikroskop, oven, alat penghitung, kaca, pinset, kaca preparat, penggaris, cangkul, kamera, label, pensil, gunting, label, plastik, kain merah, alat semprot.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) menggunakan rancangan percobaan faktor tunggal. Perlakuan yang dicobakan yakni metode aplikasi formula *crude* inokulum dengan berbagai metode aplikasi yaitu:

A = *Coating*;

B = *Rhizosfer*;

C = *Ring placement*;

Adapun 3 perlakuan terdiri dari 3 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 sampel, 3 korban, dan 2 cadangan sehingga membutuhkan 72 unit perlakuan (*layout* pada lampiran 1).

D. Cara Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 3 tahap, yaitu:

1. Tahap Isolasi Spora Mikoriza

Persiapan dilakukan dengan pengambilan tanah perakaran jagung di wilayah Gunungkidul Yogyakarta. Pengambilan tanah pada tanaman jagung di tanah Mediteran yang siap panen (lampiran 4.a.1), sehingga diharapkan terdapat banyak spora mikoriza di perakarannya. Pengambilan tanah *rhizosfer* pada kedalaman 0-20 cm. Dari hasil pengambilan akan diambil 3 sampel untuk pengamatan pertama (infeksi akar dan jumlah spora) serta sisanya akan dilakukan pembuatan formula *crude* (formula kasar).

Tahap pengujian 3 sampel diawali dengan pemisahan tanah dengan perakaran (lampiran 4.a.2). Tanah yang didapat dilakukan penimbangan sebanyak 100 g/sampel (lampiran 4.b.1) Kemudian tanah dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan tambahkan aquades sebanyak 500 ml. Campuran di aduk selama 3 menit hingga homogen. Lalu diamkan hingga terjadi pengendapan (pelet) selama 10 menit (lampiran 4.b.2)

Langkah selanjutnya, supernatan dituangkan ke dalam saringan bertingkat dengan diameter 0,66 mm, 0,250 mm, 0,090 mm, 0,045 mm, dan 38 μ m (lampiran 4.b.3). Pemisahan partikel dan penyaringan mikoriza menjadi tujuan saringan dekantasi yaitu pengambilan pada saringan 38 μ m. Selanjutnya diambil dengan pipet dan disaring pada kertas saring bergaris dengan urutan penomoran, lalu diletakan di cawan petri dan amati dengan mikroskop lalu hitung jumlah spora/100 g tanah (lampiran 4.b.4)

2. Tahap Pengamatan Infeksi Mikoriza pada Akar

Akar jagung yang didapatkan diambil dan dicuci bersih, lalu dipotong pada akar tersier 1-2 cm sebanyak 60 potong/sampel dari 3 ulangan, sehingga terdapat 180 potong akar. Akar tersebut kemudian dimasukan ke dalam botol dan rendam dengan KOH 10% 2 ml selama 24 jam. Kemudian bilas dengan aquades 3-5 kali menggunakan pipet hingga sisa KOH bersih. Selanjutnya akar direndam dengan menggunakan HCl 2 ml selama 1 jam, lalu buang HCl dan tambahkan cat *Acid Fuchsin* 5 menit (lampiran 4.b.7). Perendaman semakin lama semakin baik. Ambil akar dan tata di atas preparat lalu di amati vesikula,

arbuskular, hifa internal dan hifa eksternal dengan mikroskop. Hitung persentase infeksi mikoriza (lampiran 4.b.8).

Apabila dari perhitungan jumlah spora didapatkan $\pm 50-60$ spora/gram dan persentase infeksi 80-100% maka cukup di inokulasikan sebanyak 20 g *crude*/tanaman. Apabila *crude inoculum* belum layak diaplikasikan (jumlah spora dan persentase infeksi kurang dari ketentuan) maka inokulasi ditambahkan menjadi 2 kali lipatnya menjadi 40 g per tanaman.

3. Tahap Persiapan Inokulum dan Lahan serta Aplikasi *crude* Inokulum Mikoriza *Indigenous* Gunungkidul pada Bibit Singkong Renek.

a. Persiapan Lahan

Persiapan lahan dilakukan 3 hari sebelum tanam, lahan diolah agar menjadi gembur dengan menggunakan traktor dan pembuatan petak dengan cangkul yang dibuat sebanyak 9 petak, masing-masing petak dengan lebar 2 m dan panjang 4 m, dengan jarak antar petak 0,5 m, dan tinggi setiap petak 0,5 m (lampiran 4.c.1). Setiap petak akan ditanam 8 tanaman sehingga total singkong yang ditanam sebanyak 72 tanaman. Pada setiap petak diambil 3 tanaman sampel, 3 tanaman korban, dan 2 cadangan (lampiran 1.d).

b. Persiapan Bibit

Bibit singkong yang baik telah berumur sekitar 10-12 bulan. Pemilihan bibit dipilih dari batang tanaman yang bagus, ukuran sedang, mata tunas rapat dan bebas dari penyakit (lampiran 4.c.2). Penggunaan batang singkong sebagai bibit yang baik pada bagian tengah yaitu 30 cm diatas pangkal batang dan 30 cm dibawah daun terbawah yang masih menempel ketika panen (Arianto, 2018). Penyiapan bibit batang singkong dilakukan 3 hari penyimpanan untuk menghilangkan getah, karena apabila masih ada getahnya akan memudahkan penyakit tanaman masuk atau menyerang.

c. Pembuatan Formula Mikoriza

Formula mikoriza yang dihasilkan berupa formula *crude* dengan sifat kasar. Pembuatan formula *crude* yang dilakukan dengan mencacah perakaran jagung kecil-kecil (1 cm) dan dicampur dengan tanah *rhizosfer* (lampiran 4.c.3). Formula ditimbang 20 g per tanaman dengan syarat jumlah spora didapatkan $\pm 50-60$ spora/g dan persentase infeksi 80-100%. Apabila

jumlah spora *crude* inokulum belum memenuhi maka penimbangan 2 kali lipat menjadi 40 g per tanaman (lampiran 4.c.4). Formula *crude* inokulum diaplikasikan pada saat tanam.

d. Penanaman

Penanaman dilakukan setelah stek batang singkong dalam keadaan kering atau tidak bergetah hal ini akan membuat tunas cepat tumbuh. Jarak tanam yang digunakan pada pola tanam monokultur adalah 100 cm x 100 cm. Penanaman stek batang dilakukan secara tegak lurus sedalam 5-10 cm (Titik, 2010; Prihandana dkk., 2018). Penanaman dilakukan pada sore hari dan dilanjutkan dengan penyiraman (Jamaludin, 2018) Penanaman dilakukan dengan menarik tali untuk meluruskan lubang tanam. Kegiatan penanaman diikuti dengan pemasangan patok dan label menurut tiap perlakuan (lampiran 4.c.5).

e. Aplikasi Inokulum Mikoriza

Aplikasi mikoriza dilakukan bersamaan dengan penanaman pada setiap lubang tanam dengan menurut perlakuan yaitu *coating*, *rhizosfer* dan *ring placement*. Pada pengaplikasian *coating* dilakukan dengan mencelupkan batang stek singkong ke larutan perekat Indostick dan di balutkan ke *crude* inokulum mikoriza kurang lebih 10 cm (sesuai kedalaman tanam singkong) (lampiran 4.c.6). *Rhizosfer* dilakukan dengan mencampur langsung pada lubang tanam di daerah kemunculan akar (lampiran 4.c.7). Sedangkan *ring placement* dilakukan aplikasi melingkar di sekitar tanaman (lampiran 4.c.8).

4. Pemeliharaan

a. Penyiraman

Kondisi lahan singkong hendaknya selalu dalam keadaan lembab, tidak terlalu banyak air. Pada tanah yang kering perlu dilakukan penyiraman dan pengairan dari sumber air yang terdekat dan diberikan berdasarkan kebutuhan. Penyiraman dilakukan dengan cara penggenangan (lampiran 4.d.1).

b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan saat gulma atau rumput tumbuh disekitar tanaman singkong, hal ini dilakukan agar gulma tidak menghalangi

pertumbuhan singkong dan tidak mengakibatkan persaingan tanaman. Proses pencabutan rumput atau menyiangi gulma dilakukan secara manual dengan menggunakan cangkul dan sabit (lampiran 4.d.2). Penyiangan dilakukan dengan membalik tanah agar pertumbuhan gulma atau rumput dapat di manfaatkan sebagai pupuk.

c. Pemupukan

Pemupukan dilakukan yaitu pupuk dasar dan pupuk susulan yaitu dengan pupuk kompos, urea, SP-36 dan KCl. Pemupukan dasar diaplikasikan pada saat mulai munculnya perakaran yaitu pada umur 5-7 Hari Setelah Tanam (HST) sehingga diharapkan tidak terjadi pencucian unsur hara. Sedangkan pupuk susulan diaplikasikan pada umur 2-3 bulan. Pupuk susulan diberikan melingkar dengan jarak 15 cm dari tanaman dengan kedalaman 10 cm (lampiran 4.d.3). Dosis pupuk urea 80 g/petak, pupuk SP-36 40 g/petak, KCl 80 g/petak.

d. Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dengan cara mekanis, tetapi jika serangan melewati ambang batas akan dilakukan pengendalian dengan kimia yaitu pestisida (lampiran 4.d.4). Beberapa hama dan penyakit yang sering muncul ada tanaman singkong yaitu :

1) Tungau merah

Gejala yang ditimbulkan yaitu daun menjadi kering, hal ini di karenakan tungau yang menyerap cairan dari bawah daun. Tungau merah mudah berkembang di daerah kering dengan penyebaran melewati angin maupun alat-alat pertanian. Penyerangan tungau merah dapat dicirikan dengan daun menguning dari sekitar tulang daun. Hama tersebut dapat dikendalikan dengan menggunakan insektisida yaitu Matador atau Curacron. Dosis pengaplikasian yaitu Matador 1 ml per 1 liter air, sedangkan Curacron yaitu 1,5-3ml per 1 liter air

2) Bercak daun coklat

Gejala yang ditimbulkan yaitu bercak berwarna coklat kemudian mengering dan mati. Penyakit ini dapat dikendalikan dengan fungisida yaitu Daconil WP. Dengan menggunakan dosis 1 g per 1 liter air.

3) Bakteri hawar daun (*Casava Bacterial Blight=CBB*)

Gejala yang ditimbulkan pada batang dan daun terlihat jaringan muda dan dinding bagian luar pembuluh kayu terjadi mati pucuk.

5. Panen

Singkong varietas Renek dipanen pada umur 20 minggu setelah waktu tanam. Singkong dapat dipanen pada saat pertumbuhan daun bawah mulai berkurang, warna daunnya mulai menguning dan banyak yang rontok. Menurut Yosika (2011) singkong dipanen dengan cara mencabut batangnya, apabila didapati ubi yang tertinggal dapat diambil dengan dicangkul (lampiran 4.e.1).

E. Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dengan melakukan pengamatan yaitu persentase infeksi mikoriza, jumlah spora, perkembangan akar, pertumbuhan tanaman dan hasil. Pengamatan dilakukan pada awal dan minggu ke 4, 8, 12 pada tanaman korban. Sedangkan pada tanaman sampel dilakukan pengamatan setiap 2 minggu sekali hingga minggu 20 dari pengamatan vegetatif tanaman singkong Renek. Pengamatan hasil dilakukan pada minggu 20 dari hasil panen yang didapatkan. Parameter yang di amati antara lain:

1. Persentase Infeksi Mikoriza dan Jumlah Spora

a. Persentase infeksi MVA (%)

Pengamatan persentase infeksi MVA dilakukan pada awal sebelum pengaplikasian serta pada minggu ke 4, 8, dan 12 dengan mengambil sampel 30 potongan/sampel tanpa melakukan ulangan. Akar di beri KOH 10% lalu bilas dan HCl 1% lalu bilas serta pemberian *Acid Fuchsin*, kemudian diamati dengan mikroskop. Infeksi MVA pada akar dihitung dari adanya arbuskula, vesikula dan hifa internal dan hifa eksternal (lampiran 4.b.6).

Penghitungan menggunakan rumus Giovannety & Mosse (Setiadi & Setiawan dalam Wayan dkk., 2015) sebagai berikut:

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/100 g)

Pengamatan jumlah spora dilakukan pada minggu ke-4, 8, dan 12 dengan teknik penyaringan basah yaitu spora ditimbang sebanyak 100 g kemudian dilarutkan dengan 500 ml air. Setelah itu disaring menggunakan saringan bertingkat lalu hasil saringan dituang pada corong yang telah diletakkan kertas saring dengan 16 kotak yang berukuran 2x2 cm. Selanjutnya jumlah spora diamati pada garis kertas saring di bawah mikroskop perbesaran 40x 10 kali (lampiran 4.b.5).

2. Perkembangan Akar

a. Panjang akar (cm)

Pengamatan panjang akar dilakukan pada minggu ke-4, 8, 12 pada tanaman korban. Panjang akar diukur menggunakan penggaris mulai dari pangkal tanaman hingga ujung akar terpanjang (lampiran 4.f.1).

b. Proliferasi (+)

Pengamatan proliferasi akar diketahui dengan mengamati percabangan perakaran singkong pada tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-4, 8, 12. Proliferasi akar dapat dilakukan dengan cara meletakkan di kaca bening dan diamati percabangan akarnya (lampiran 4.f.2).

Proliferasi akar dinyatakan secara kualitatif dengan harkat, disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Harkat proliferasi akar tanaman singkong Renek

Harkat	Keterangan	Skor
(++++)	Perakaran yang memiliki percabangan yang rumit serta banyak secara vertikal dan horizontal.	4
(+++)	Perakaran yang memiliki percabangan yang cukup banyak	3
(++)	Perakaran yang memiliki percabangan akar yang sedang	2
(+)	Perakaran yang memiliki percabangan akar yang sedikit	1
(-)	Perakaran yang tidak memiliki percabangan	0

c. Berat segar akar (g)

Pengamatan berat segar akar dilakukan pada minggu ke-4, 8, 12. Pengamatan berat segar akar dilakukan dengan cara mencabut tanaman kemudian menimbang akar yang sudah dibersihkan. Akar ditimbang menggunakan timbangan analitik (lampiran 4.f.3).

d. Berat kering akar (g)

Pengamatan berat kering akar dilakukan dengan penjemuran dibawah sinar matahari selama 24 jam dan dioven pada suhu 80°C sampai beratnya konstan. Pengamatan berat kering akar dilakukan dengan menimbang akar yang sudah kering oven menggunakan timbangan analitik (lampiran 4.f.4).

3. Pertumbuhan Tanaman

a. Tinggi tanaman (cm)

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan setiap 2 minggu sekali hingga minggu ke-20. Tinggi tanaman diukur dari batang bagian bawah (permukaan tanah) hingga pucuk tunas paling tinggi. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan penggaris (lampiran 4.g.1).

b. Jumlah daun (helai)

Pengamatan jumlah daun dilakukan setiap 2 minggu sekali hingga minggu ke-20. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah daun yang tumbuh pada masing-masing tanaman.

c. Luas daun (cm²)

Pengukuran luas daun dilakukan dengan memisahkan bagian batang. Kemudian diukur menggunakan alat LAM (*Leaf Area Meter*) (lampiran 4.g.2).

d. Berat segar tajuk (g)

Pengamatan berat segar tajuk dilakukan pada tanaman korban minggu ke-4, 8, dan 12. Pengamatan berat segar tajuk dilakukan penimbangan dengan timbangan analitik setelah bagian-bagian tanaman dipisahkan (lampiran 4.g.3).

e. Berat kering tajuk (g)

Pengamatan berat kering tajuk dilakukan dengan penjemuran dibawah sinar matahari selama 24 jam dan dioven pada suhu 80°C sampai beratnya konstan. Pengamatan berat kering akar dilakukan dengan menimbang akar yang sudah kering oven menggunakan timbangan analitik (lampiran 4.g.4).

4. Parameter Hasil Singkong

a. Jumlah ubi per tanaman

Pengamatan jumlah ubi dilakukan pada panen minggu ke-20. Pengamatan dilakukan dengan menghitung dengan angka setiap ubi dari setiap tanaman singkong Renek (lampiran 4.e.4).

b. Panjang ubi (cm)

Pengamatan panjang ubi dilakukan pada panen minggu ke-20. Pengamatan panjang ubi diukur dari pangkal hingga pucuk ubi. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan penggaris.

c. Diameter ubi (cm)

Pengamatan diameter ubi dilakukan padminggu ke-5. Pengamatan diameter ubi dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dari setiap ubinya, dan dilakukan pengulangan sebanyak 3x.

d. Berat ubi per tanaman (kg)

Pengamatan berat ubi dilakukan pada saat panen minggu ke-20. Pengamatan berat ubi dilakukan dengan menimbang hasil ubi yang didapatkan per tiap tanaman (lampiran 4.e.2).

e. Berat per ubi (g)

Pengamatan berat ubi dilakukan pada berat ubi pertanaman yang dibagi dengan jumlah ubi per tanaman, sehingga didapatkan berat per ubi.

f. Hasil ubi per Hektar (ton/ha)

Pengamatan hasil ubi dilakukan pada saat panen minggu ke-20. Pengamatan hasil ubi dilakukan dengan menimbang hasil ubi yang didapatkan. Nilai tersebut dikonversikan dalam luasan ha dan dinyatakan dalam satuan ton/ha.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan grafik dan histogram. Data hasil pengamatan agronomis dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (*Analisis of varience*) pada taraf kesalahan 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Jika terdapat pengaruh beda nyata antar perlakuan dilanjutkan uji jarak berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kesalahan 5% untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan.