

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan selama 5 bulan pada bulan Januari hingga Mei di Laboratorium Agrobioteknologi dan Lahan Produksi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta Jl. Lingkar Selatan, Taman Tirto, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, DIY.

B. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan meliputi bibit singkong varietas Renek, pupuk kandang, air, Mikoriza *indigenus* Mediteran Gunungkidul, Mikoriza Komersial, tanah Regosol, larutan KOH 10%, larutan HCl 1%, *Acid Fuchsin*, pupuk NPK.

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

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimen menggunakan perlakuan faktor tunggal yang disusun dengan rancangan lingkungan RAKL (Rancangan Acak Kelompok Lengkap) yang terdiri dari 3 perlakuan **bentuk formula Mikoriza** yaitu : **A. spora murni**, **B. crude inokulum** dan **C. Pelet**. Setiap perlakuan diulang 3 kali sehingga diperoleh 9 unit. Setiap unit ditanam pada lahan berukuran 2x4 meter dengan jarak tanam 1 m², sehingga menghasilkan 8 tanaman yang terdiri dari 3 sampel, 3 korban, dan 2 cadangan sehingga jumlah tanamannya adalah 72 tanaman (*Layout* pada lampiran 1).

D. Tata Laksana Penelitian

1. Persiapan media tanam

Pengambilan sampel tanah dilapangan dilakukan di Gunung kidul pada tanah mediteran. Tanah yang diperkirakan mengandung mikoriza pada perakaran jagungnya diambil dibawah tajuk tegakan jagung sebanyak 0,5-1 kg. Sampel tanah diletakkan di kantung plastik yang telah diberi label sebelumnya, guna mengetahui nomor sampel. Kemudian sampel tanah dibawa ke laboratorium untuk dilakukan uji efektifitas mikoriza (Lampiran 4.a.1).

Setelah itu dilakukan pengolahan tanah terhadap lahan Regosol yang akan digunakan untuk menanam singkong Renek dan mengaplikasikan berbagai bentuk formula inokulum mikoriza indigenous Gunungkidul (Lampiran 4.b.1)

2. Formulasi Mikoriza

a. Inokulum Mikoriza Murni

Inokulum yang digunakan merupakan tanah rizosfer jagung yang diambil langsung dari biakan aslinya yaitu kawasan Mediteran (Lampiran 4.a.1). Inokulum murni dibuat dengan menggunakan metode sentrifugasi.

b. Inokulum Mikoriza *Crude*

Inokulum *crude* mikoriza merupakan inokulan yang dapat dikatakan sebagai inokulan kasar karena bentuknya yang dirancang seperti keadaan alaminya. Inokulum *crude* mikoriza yang digunakan merupakan cacahan dari akar jagung dan tanah rizosfer jagung yang berasal dari tanah Mediteran. Sebelum akar dan tanah dicampur, tanah Mediteran yang memiliki sifat lempung dapat dikering anginkan terlebih dahulu, sehingga mudah saat proses pencampuran. selanjutnya setiap tanaman ditambahkan inokulum sebanyak 20 gram/tanaman.

c. Inokulum Mikoriza *Pelet*

Inokulum *pelet* sejatinya memiliki bentuk yang tak jauh berbeda dengan bentuk granul atau butiran. Hanya saja *pelet* memiliki ukuran yang 2-3 kali lebih besar jika dibandingkan dengan bentuk butiran atau granul. Inokulum *pelet* ini berasal dari *crude* inokulum yang kemudian dimasukan ke mesin manual pencetak *pelet*. Kemudian inokulum tersebut ditambahkan pada setiap tanaman yaitu 20 gram/tanaman.

3. Persiapan bibit singkong Renek

Singkong Renek didatangkan langsung dari daerah asalnya yaitu Karanganyar dalam bentuk sudah menjadi potongan-potongan bibit stek yang siap untuk ditanam. Ukuran panjang bibit sendiri dibuat seragam dengan ukuran 20 cm.

4. Penanaman

Setiap lubang pada lahan yang telah dibentuk guludan ditanam bibit singkong (20 cm) sedalam 5-10 cm secara tegak lurus, sesuai perlakuan. Selama sebulan dipelihara hingga mulai muncul akar (Lampiran 4.b.2)

5. Aplikasi Mikoriza

Inokulum MVA dengan berbagai bentuk formula yang memiliki jumlah spora 50-60/gramnya dan persentase infeksi MVA 80% maka cukup untuk diinokulasikan sebanyak 20 gram/tanaman, dan apabila jumlah spora dan infeksi belum mencapai nilai yang maksimal maka pengaplikasiannya ditambahkan menjadi 2 kali lipatnya menjadi 40 gram/tanaman (Lampiran 4.b.3)

6. Pemeliharaan :

a. Penyiraman

Kondisi lahan Singkong dari awal tanam sampai umur \pm 4 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 (Lampiran 4.c.1).

b. Penyiangan

Penyiangan dilakukan saat gulma atau rumput tumbuh disekitar tanaman singkong, hal ini dilakukan agar gulma tidak menghalangi pertumbuhan singkong. Proses pencabutan rumput atau menyiangi gulma dilakukan secara manual pada saat gulma atau rumput mulai tumbuh (Lampiran 4.c.2).

c. Pemupukan

Pupuk susulan dilakukan dengan menaburkan pupuk Urea, SP-36 dan KCl. Pemupukan susulan diberikan setelah tanaman singkong berumur 2 bulan. Pupuk susulan diberikan dengan cara di tunggalkan pada jarak 15 cm dari tanaman dengan kedalaman 10 cm. Dosis pupuk Urea 80 gram/ petak, pupuk sp-36 40 gram/petak, KCl 80 gram/petak

d. Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian hama dan penyakit dengan cara mekanis, tetapi jika serangan melewati abang batas akan dilakukan pengendalian dengan kimia yaitu pestisida. Hama yang sering muncul ada tanaman singkong yaitu (Lampiran 4.c.3) :

ii. Tungau merah (*Tetranychus urticae*)

Untuk gejala hama ini ialah daun pada tanaman singkong menjadi kering, untuk ciri ciri tanaman singkong jika diserang hama ini ialah menghisap cairan bawah dan sehingga daun singkong akan menjadi kering. Cara pengendaliannya ialah dengan menyemprotkan air kepada tanaman singkong secara teratur dan menanam varietas lain yang toleran terhadap tanaman singkong. Selain itu dapat dikendalikan dengan penanganan kimiawi atau menggunakan pestisida, seperti Curacron. Larutkan Insektisida Curacron 0,5 - 1 mL kedalam 1 Liter air, masukan kedalam tabung sprayer atau botol semprotan, kemudian bisa langsung disemprotkan pada tanaman.

7. Panen

Singkong varietas Renek dapat dipanen pada umur 16 minggu setelah tanam. Herman (2016) menyatakan bahwa 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 umbi yang tertinggal dapat diambil dengan dicangkul (Lampiran 4.c.4).

8. 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). Spora dari sampel tanah sebanyak 100 g yang telah tertampung di saringan 53 μ m, kemudian dengan bantuan air mengalir dikumpulkan. 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 10x10 (Suharno dkk., 2014).

ii. Pengamatan infeksi MVA pada akar

Pengamatan infeksi 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 jumlah vesikula, arbuskula dan hifa internal maupun hifa eksternal dengan mikroskop perbesaran 10x10 kali (Kusumastuti, L. *et.al*, 2017).

E. Parameter Pengamatan

1. Perkembangan Mikoriza

a. Persentase infeksi MVA (%)

Persentase infeksi MVA dilakukan pada minggu 4, 8, dan 12 dengan mengambil sampel 10 potongan akar tanaman jagung, dicat dengan *Acid Fuchsin*, kemudian diamati dengan mikroskop tentang persentase infeksi dengan rumus :

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

b. Jumlah Spora (Spora/gram)

Pengamatan jumlah spora dilakukan pada minggu 4, 8, dan 12 dengan teknik penyaringan basah yaitu spora ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan dengan 500 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 10x10 kali.

2. Perkembangan Akar

a. Panjang akar (cm)

Pengukuran panjang akar tanaman menggunakan penggaris dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang. Pengamatan panjang akar dilakukan pada minggu 4, 8, dan 12 setelah tanam dan setelah diberi mikoriza pada tanaman korban dan hasilnya dinyatakan dalam satuan cm.

b. Proliferasi akar

Pengamatan proliferasi ini bertujuan untuk mengamati percabangan perakaran tanaman jagung. Pengamatan dilakukan dengan cara melihat

percabangan akar tanaman yang diletakan pada kaca bening dan kemudaian amati peracaban akarnya. Pengamatan dilakukan pada akhir penelitian. Poliferasi akar dinyatakan secara kualitatif dengan harkat pada tabel 1.

Tabel 1.Harkat proliferasi akar tanaman jagung manis

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 (gram)

Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang akar yaitu bagian leher akar hingga ujung akar yang masih segar dengan satuan gram.

d. Berat kering akar (gram)

Pengamatan dilakukan dengan menimbang akar tanaman yang telah dioven dengan suhu 70 °C selama 48 jam hingga bobotnya konstan dengan satuan gram.

3. Pertumbuhan Tajuk

a. Tinggi tajuk (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dari titik tumbuh sampai daun pucuk. Alat yang digunakan adalah penggaris atau meteran dengan satuan cm. Pengamatan dilakukan setiap minggu hingga masa vegetatif maksimal dimulai satu minggu setelah tanam.

b. Jumlah daun (helai)

Jumlah daun didapat dengan cara menghitung seluruh daun yang sudah membuka pada stek dari masing-masing perlakuan. Pengamatan dilakukan pada setiap 2 minggu sekali.

c. Luas daun (cm²)

Luas daun diukur dengan menggunakan LAM (*Leaf Area Meter*). Daun yang akan diukur, dipotong terlebih dahulu, lalu diukur menggunakan LAM dan dinyatakan dalam satuan cm², pengamatan dilakukan pada minggu ke 4, 8, dan 12 pada tanaman korban.

d. Berat segar tajuk (gram)

Berat segar tanaman dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban minggu 4, 8, dan 12 setelah aplikasi mikoriza lalu menimbang tanaman timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram.

e. Berat kering tajuk (gram)

Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang batang dan daun tanaman setelah dikeringkan dalam oven dengan suhu 70 °C selama 48 jam hingga bobotnya konstan dengan satuan gram.

4. Hasil Singkong**a. Jumlah ubi per tanaman**

Perhitungan jumlah ubi dilakukan dengan menghitung jumlah ubi (sehat dan busuk) pada satu tanaman yang berdiameter >1 cm.

b. Panjang singkong (cm)

Pengamatan panjang singkong dilakukan dengan mengukur menggunakan penggaris dari ujung pangkal atau pokok menuju ujung singkong terluar. Pengamatan dilakukan di bulan terahir dan dinyatakan dalam satuan sentimeter (cm).

c. Diameter singkong (mm)

Pengukuran diameter umbi dilakukan terhadap seluruh umbi yang ada pada setiap sampel. Diameter umbi diukur dengan menggunakan jangka sorong. Bagian yang diukur yaitu bagian tengah umbi, kemudian diameter seluruh umbi dijumlahkan dan dibagi sesuai jumlah umbi untuk diperoleh nilai rata-ratanya. Pengukuran diameter umbi dilakukan pada saat panen.

d. Berat Basah singkong (kilogram)

Pengamatan ini dilakukan dengan menimbang singkong yaitu bagian leher singkong hingga ujung singkong yang masih segar dengan satuan gram.

e. Hasil singkong (Ton/Ha)

Pengukuran hasil umbi atau singkong dilakukan terhadap seluruh umbi yang ada pada setiap sampel. Singkong dikumpulkan kemudian ditimbang dengan timbangan elektrik kemudian dinyatakan dalam satuan Ton/Ha.

F. 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 $\alpha=5$.