

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli – Oktober 2004 di Jalan Banjarsari, Kelurahan Tembalang dan Laboratorium Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi F. MIPA UNDIP.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam Penelitian ini adalah : polybag, kantong plastik, ember, gunting, gelas ukur, pipet, erlenmeyer, cawan petri, timbangan ohaus, botol flakon, pisau silet, gelas obyek, gelas penutup, mikroskop, hot plate, autoklaf, aluminium foil, termohigrometer, pHmeter, lap kain, kertas label.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : benih kedelai varietas willis dari Balai Penelitian Tanaman Palawija (BPTP) Jepara, Mikoriza (*Glomus mosseae*) dari BIOTROP IPB Bogor, *Rhizobium japonicum* dari Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM, tanah pasir, H₂O, KOH 5%, asam laktat 10%, gliserol, tryphan blue 0,05 %.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Persiapan Benih Kedelai

Benih kedelai dipilih yang tidak cacat dan ukuran seragam. Benih kedelai direndam dalam air selama 24 jam, benih yang baik akan tenggelam, benih yang jelek akan terapung. Benih yang baik merupakan benih yang siap untuk diberi perlakuan.

3.3.2 Persiapan Media Tanam

Tanah pasir untuk media tanam diambil pada kedalaman 0 – 20 cm, dari pantai sedang sikucing Kendal pH 5,8. Tanah pasir dimasukkan dalam polybag. Kemudian tanah disterilisasi dengan cara diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

3.3.3 Perlakuan dan Penanaman

- **Inokulasi *Rhizobium japonicum***

Benih kedelai yang telah direndam dalam air selama 24 jam kemudian ditiriskan. Biakan *Rhizobium japonicum* (legin) dicampur merata dengan benih yang telah direndam air. Dosis inokulan legin yang diberikan adalah 0,03 gram per 8 gram benih kedelai. Benih yang telah diinokulasi segera ditanam pada media tanam (Yutono, 1985).

- **Inokulasi Mikoriza**

Inokulasi Mikoriza dengan cara : ± 50 spora (20 gram) mikoriza diletakkan di atas kertas, kemudian dimasukkan ke dalam lubang tanam sebelum biji ditanam, selanjutnya biji dimasukkan ke dalam lubang tanam, kemudian ditutup dengan tanah (Fakuara, 1988).

- **Inokulasi *Rhizobium japonicum* dan Mikoriza**

Benih yang telah diinokulasi dengan legin (inokulan bakteri *Rhizobium japonicum*) dimasukkan ke dalam lubang tanam yang telah diinokulasi mikoriza.

- **Tanaman Kedelai Tidak Diinokulasi (sebagai kontrol)**

Benih kedelai yang telah direndam dalam air selama 24 jam, selanjutnya ditanam pada media tanam.

Setelah bibit berumur 14 hari di persemaian, bibit tersebut dipindahkan ke polybag yang telah diisi media dan ditambah pupuk NPK 0,88 gram pertanaman. Satu polybag ditanami satu tanaman. Penanaman dilakukan dengan cara memindah bibit bersama media dari persemaian ke polybag.

3.3.4 Pemeliharaan

- Pemeliharaan dilakukan dengan melakukan penyiraman dua kali sehari, tiap pagi dan sore hari. Penyiraman dilakukan berdasarkan kapasitas lapang, dengan volume 550 ml.
- Pengendalian hama dan penyakit daun dilakukan dengan menggunakan insektisida dan fungisida. Untuk hama semacam ulat daun dilakukan secara manual.

3.3.5 Pemanenan

Pemanenan dilakukan setelah tanaman kedelai berumur 44 hari setelah tanam, pada saat bunga mulai muncul. Polybag digunting, kemudian tanaman dimasukkan dalam ember yang berisi air dan dibersihkan, selanjutnya dihitung parameter yang diamati.

3.4 Parameter Penelitian

3.4.1 Parameter utama

1. Jumlah bintil akar : Semua bintil akar pada tiap tanaman dihitung.
2. Berat bintil akar : Seluruh bintil akar pada tiap tanaman ditimbang.
3. Persen bintil akar efektif : Semua bintil akar dibelah, dicari warna yang jingga sampai merah muda.

$$\% \text{ bintil akar efektif} = \frac{\text{Jumlah bintil akar efektif}}{\text{Jumlah seluruh bintil akar}} \times 100\%$$

3.4.2 Parameter pendukung

Persen infeksi mikoriza

Akar tanaman kedelai diambil secara acak, selanjutnya dicuci bersih dengan akuades. Akar yang sudah bersih dipanaskan dalam larutan KOH 5% di atas hot plate sampai akar transparan, kemudian dicuci dengan akuades dan direndam selama 24 jam dalam akuades yang ditetesi asam laktat 10% sebanyak 2-3 tetes. Akar kemudian dibilas dengan akuades dan direndam dalam lactoglycerol (air : gliserol : asam laktat = 1 : 1 : 1) dengan trypan blue (0,05%) selama 1-2 menit, selanjutnya dimasukkan botol flakon yang telah diisi lactoglycerol dan siap untuk diamati persen infeksi mikoriza.

Penghitungan persen infeksi mikoriza menggunakan metode slide dengan cara sebagai berikut :

Akar yang telah diwarnai, diambil secara acak dan dipotong \pm 1 cm. Akar tersebut kemudian disusun dalam slide mikroskop. Akar yang terinfeksi akan terlihat adanya hifa, selanjutnya akar yang terinfeksi dihitung dari slide tersebut.

$$\% \text{ infeksi akar} = \frac{\text{jumlah akar yang terinfeksi}}{\text{jumlah seluruh contoh akar yang diamati}} \times 100\%$$

3.5 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan empat perlakuan, yaitu:

P₀ = Tanaman kedelai tidak diinokulasi (sebagai kontrol).

P₁ = Tanaman kedelai diinokulasi *Rhizobium japonicum*.

P₂ = Tanaman kedelai diinokulasi Mikoriza.

P₃ = Tanaman kedelai diinokulasi *Rhizobium japonicum* dan Mikoriza.

Masing-masing perlakuan dengan 4 ulangan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) pada taraf kepercayaan 99 %. Bila terdapat beda nyata antar perlakuan, dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 99 % (Gomez and Gomez, 1995).

