

## IV. METODE PENELITIAN

### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA. Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Februari 2001- April 2001.

### B. Alat dan Bahan

Alat : Silet, Bekker glass 100 ml, penangas pasir, mikroskop, gelas benda, gelas penutup, autoklaf, kantong kertas, polybag, cangkul, saringan tanah, sprayer, plastik transparan, neraca. Ohaus, erlemeyer, oven, spektrofotometer (spectronic-20), penggaris, pipet ukur 1ml, pipet ukur 5 ml, pipet ukur 10 ml, gelas ukur 25 ml.

Bahan : Tanah,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , aquadest, HCl 1N, lactofenol trypanblue, KOH 10 %,  $\text{HClO}_4$  60%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat,  $\text{HNO}_3$  1N,  $\text{HNO}_3$  2N, amonium vanadat, amonium molybdat, alkohol, pupuk urea, pupuk KCl, inokulum potongan akar mikoriza-VA dari PAU-IPB, pasir, biji kedelai varietas Sindoro.

## C. Cara Kerja

### 1. Persiapan Tanah

Tanah yang akan digunakan sebagai media tanam diukur pH, P total, P tersedia, N tersedia, N total, K tersedia dan K total. Tanah perkebunan seluas 24 m<sup>2</sup> dicangkul dengan kedalaman 20 cm. Tanah hasil cangkulan tersebut disaring menggunakan saringan tanah dengan ukuran mesh nomer 4, kemudian sebanyak 4 kg tanah hasil saringan dimasukkan kedalam kantong-kantong kertas berukuran 40x35 cm dan disterilkan dalam autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C. Tanah yang sudah disterilkan dimasukkan kedalam polybag berukuran 40x35 cm. Selanjutnya dibagi dalam 6 kelompok perlakuan.

### 2. Inokulasi mikoriza-VA, Penanaman dan Pemupukan

Inokulasi dilakukan dengan meletakkan potongan akar yang terinfeksi sesuai perlakuan pada kedalaman  $\pm$  5,5 cm dari permukaan tanah dalam polybag pada saat tanam. Penanaman dilakukan dengan cara menugalkan benih pada kedalaman 2,5 cm sebanyak 4 butir kedelai tiap polybag.

Pemupukan dasar dilakukan pada saat tanam dengan urea dan KCl masing-masing sebanyak 0,25 g/polybag. Setelah tanaman berumur 1 minggu dilakukan penjarangan dengan meninggalkan 1 tanaman terbaik dengan ukuran seragam pada tiap polybag. Pupuk susulan diberikan pada umur 20-30 hari setelah tanam dengan urea dan KCl masing-masing sebanyak 0,25 g/polybag.

### 3. Pemeliharaan

Meliputi penyiraman setiap pagi 1x sehari, pemberantasan hama menggunakan insektisida Akodan 35 ec secara semprot seminggu sekali dan mencabuti gulma yang tumbuh.

### 4. Pengamatan

Selama penelitian dilakukan pengamatan dan pengukuran sebanyak 3 kali. Pengamatan pertama dilakukan pada hari ke-14 setelah tanam. Pengamatan kedua pada hari ke-28 setelah tanam. Pengamatan ketiga pada hari ke-42 setelah tanam.

Adapun parameter yang diukur untuk setiap pengamatan adalah:

#### a. Jumlah Daun

Jumlah daun dihitung tiap tanaman, daun yang dihitung adalah yang sudah membuka.

#### b. Tinggi Tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dimulai dari permukaan tanah sampai puncak batang utama.

#### c. Berat Basah dan Berat Kering Tanaman (gram)

Tanaman bagian atas dipisah dengan bagian akar dan ditimbang berat basahnya. Kemudian dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 75-80<sup>0</sup>C selama 2 x 24 jam. Kemudian ditimbang berat keringnya sampai mencapai berat konstan.

d. Kandungan P jaringan tanaman

Dilakukan dengan menggunakan metode Yoshida (Lampiran 01) (Djoko, 1995).

e. Prosentase infeksi pada akar

Dihitung keberhasilan infeksi menurut metode visual Giovannetti dan Mosse (1980 dalam Iswandi 1992) dengan cara sebagai berikut:

Akar dicuci bersih dengan air. Bagian ujung akar rambut dipotong-potong sepanjang 1 cm lalu dimasukkan ke dalam bekker glass 100 ml, dan direndam dengan KOH 10 %. Rendaman itu dipanaskan menggunakan penangas pasir pada suhu 80-90 ° C, setelah potongan akar tampak transparan, kemudian didinginkan dan sisa KOH 10 % yang ada dibuang. Potongan akar dalam bekker glass 100 ml dicuci dengan air hingga air pencuci tampak jernih, pencucian terakhir dilakukan dengan HCl 1N. Dilakukan pengecatan potongan akar dengan lactofenol trypanblue 0,05 % dengan dipanaskan diatas penangas pasir pada suhu 90°C selama 5 menit. Setelah potongan akar tercat, sisa cat dibuang kemudian potongan akar yang tercat dipindahkan ke cawan petri dan diberi lactofenol secukupnya. Potongan akar yang telah diberi lactofenol trypanblue disusun pada gelas benda, masing-masing 10 akar pada tiap gelas benda. Infeksi akar diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x. Kemudian, akar yang terinfeksi dicatat panjangnya. Prosentase akar yang terinfeksi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{akar terinfeksi} = \frac{\text{panjang akar terinfeksi}}{\text{total panjang akar}} \times 100\%$$

#### D. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Pada penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap dengan enam perlakuan masing-masing perlakuan dengan empat kali ulangan. Perlakuan yang dimaksud adalah:

- M0 : Tanah tanpa inokulasi Mikoriza-VA
- M1 : Diberi perlakuan dengan 10 g inokulum akar/4kg tanah
- M2 : Diberi perlakuan dengan 20 g inokulum akar/4kg tanah
- M3 : Diberi perlakuan dengan 30 g inokulum akar/4kg tanah
- M4 : Diberi perlakuan dengan 40 g inokulum akar/4kg tanah
- M5 : Diberi perlakuan dengan 50 g inokulum akar/4kg tanah

Model penduga untuk rancangan ini adalah:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = nilai pengamatan pada perlakuan ke -i ulangan ke -j

$\mu$  = nilai tengah umum

$t_i$  = pengaruh perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = kesalahan (galat) percobaan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j

Analisis data menggunakan anova dengan taraf uji 5% ( $\alpha=0,05$ ) bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT( *Duncan Multiple Range Test*) pada taraf yang sama.