

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Tanggal 01 Februari – 31 Juni 2011 di Laboratorium Mikrobiologi dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI) JL. Raya Kendalpayak - Malang, Jawa Timur.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung, petridish, tabung erlenmeyer, bunsen, shaker, gelas ukur, pengaduk kaca, gembor, ose, autoclaf, timbangan analitik, incubator, kertas label, plastik, gunting, penggaris, nampan, pot, cetok, ember, ajir, dan tali rafia.

Adapun bahan- bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kedelai varietas Tanggamus, tanah Lampung yang sudah ditaruh kedalam 90 pot masing-masing sebanyak 6 kg. Isolat bakteri pelarut Fosfat terbaik I (M1) dan terbaik II (M2) yang diperoleh dari hasil koleksi BALITKABI pada penelitian sebelumnya, pupuk organik cair (P 2000 Z), pupuk anorganik (SP36), pupuk Urea, pupuk KCl, NaCl, Mannitol, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Yeast Extract, agar, Glukosa, $(NH_4)_2SO_4$, KCl, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, Ca_3PO_4 , $MnSO_4 \cdot H_2O$ dan Aquades.

3.3 Metode Pelaksanaan

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan tiga faktor dan diulang sebanyak 3 kali. Faktor I adalah Pupuk P 2000 Z. Faktor II adalah SP36. Faktor III adalah Inokulasi bakteri Pelarut P.

Faktor I terdiri dari:

Z1 : Tanpa pemberian pupuk organik cair (Kontrol)

Z2 : Dengan pemberian pupuk organik cair

Faktor II terdiri atas:

P1 : Tanpa pemberian SP-36 (Kontrol)

P2 : Dengan pemberian 3 gram SP-36/pot setara dengan 100 kg SP-36/ ha

P3 : Dengan pemberian 6 gram SP-36/pot setara dengan 200 kg SP-36/ ha

Lihat pada (Lampiran 2).

Faktor III terdiri atas:

I1: Tanpa inokulasi bakteri pelarut P (Kontrol)

I2: Inokulasi bakteri pelarut P multi isolat I (M1)

I3 : Inokulasi bakteri pelarut P multi isolat II (M2)

I4 : Inokulasi bakteri pelarut P multi isolat I+II (M I+2)

I5 : Inokulasi bakteri pelarut P komersial

Denah Kombinasi Perlakuan Dalam Rumah Kaca

Z1 Ulangan I			Z2 Ulangan I			Z1 Ulangan II		
P1I1	P2I1	P3I1	P3I3	P1I4	P2I4	P2I5	P1I2	P2I2
P1I2	P2I2	P3I2	P3I1	P1I2	P2I2	P2I1	P1I4	P2I4
P1I3	P2I3	P3I3	P3I5	P1I3	P2I3	P2I3	P1I3	P2I1
P1I4	P2I4	P3I4	P3I2	P1I1	P2I1	P2I2	P1I5	P2I5
P1I5	P2I5	P3I5	P3I4	P1I5	P2I5	P2I1	P1I1	P2I3

Z2 Ulangan II			Z1 Ulangan III			Z2 Ulangan III		
P3I5	P2I4	P1I4	P2I2	P3I3	P1I4	P3I2	P1I5	P2I3
P3I4	P2I3	P1I1	P2I1	P3I1	P1I5	P3I4	P1I2	P2I4
P3I2	P2I5	P1I3	P2I5	P3I5	P1I1	P3I1	P1I4	P2I2
P3I1	P2I1	P1I5	P2I3	P3I4	P1I3	P3I3	P1I3	P2I5
P3I3	P2I2	P1I2	P2I4	P3I2	P1I2	P3I5	P1I1	P2I6

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini meliputi dua tahap, yaitu di Laboratorium dan Rumah kaca.

Kegiatan laboratorium untuk menyiapkan inokulum bakteri pelarut Fosfat (P), membuat media Pikovskaya untuk menghitung populasi bakteri pelarut Fosfat (P) dalam 1 ml inokulum dan menghitung populasi bakteri pelarut Fosfat (P) dalam sampel tanah.

Kegiatan di rumah kaca untuk pemilihan benih yang akan ditanam, aplikasi media tanah, pemupukan, penanaman, pemeliharaan, menginokulasikan multi isolat bakteri, penyulaman, penjarangan, pemanenan dan pengamatan.

3.4.1 Di Laboratorium

3.4.1.1 Menyiapkan Inokulum Bakteri Pelarut Fosfat (P)

Media untuk inokulum adalah media NA Broth. Komposisi NA Broth antara lain : Pepton 15 gram, Yeast ekstrak 5 gram, NaCl 6 gram, Glukosa 1 gram, 1 liter aquades. Semua bahan tersebut dicampur menjadi satu. Kemudian dimasukkan ke dalam 3 tabung elemeyer masing-masing sebanyak 15 ml. Ujung mulut tabung ditutup dengan kapas. Disterilkan ke dalam autoclaf dengan 120°C selama 20 menit.

Mengambil 1 ml biakan bakteri pelarut Fosfat dari NA broth, dimasukkan kedalam tabung elemeyer yang berisi NA Broth sebanyak 15 ml. Diberi label pada permukaan tabung, dengan huruf K (kontrol), M1, dan M2. Digojok selama 7 hari dan dihitung populasi bakteri pelarut Fosfat, kemudian diinokulasikan pada tanaman.

3.4.1.2 Menghitung Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (P) dalam 1 ml Inokulum

Media untuk menghitung populasi bakteri pelarut Fosfat (P) di dalam 1 ml inokulum adalah media Pikovskaya. Komposisi media pikovskaya antara lain: Glukosa 5 gram, MgSO₄.7H₂O 0,05 gram, Yeast Extract 0,25 gram, Agar 10 gram, (NH₄)₂ SO₄ 0,25 gram, KCl 0,1 gram, FeSO₄.7H₂O 0,002 gram, Ca₃PO₄ 2,5 gram, NaCl 0,1 gram, MnSO₄. H₂O kira-kira 3 butir, aquades 500 ml. Media tersebut disterilkan ke dalam autoclaf dengan 120°C selama 20 menit, kemudian dituang ke dalam petridish.

Menghitung populasi bakteri pelarut Fosfat pada isolat yang diinokulasikan pada tanaman bertujuan agar dapat mengetahui jumlah koloni yang terdapat pada 1 ml isolat tersebut dengan cara pengenceran.

Pengenceran yang dilakukan di dalam laminar flow dan didekatkan dengan api bunsen. Tabung elemeyer yang berisi isolat diberi label 10^{-1} . Setelah itu diambil 1 ml dengan mikropipet dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan pada tabung reaksi yang berisi larutan steril sebanyak 9 ml dan diberi label 10^{-2} , lepas dan tarik sampai 3 kali pada mikropipet, ganti tups setiap kali pengenceran dan seterusnya sampai pengenceran kelima. Pada pengenceran keempat dan kelima, dimasukkan kedalam petridish yang berisi media picovskaya. Dihitung koloni yang terbentuk.

3.4.1.3 Menghitung Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (P) dalam Sampel Tanah

Menghitung populasi bakteri pelarut Fosfat pada sampel tanah bertujuan agar dapat mengetahui jumlah koloni yang terdapat pada sampel tanah. Dengan cara pengenceran. Pengencerannya dilakukan dengan cara mengambil sampel tanah, lalu saring dan ditimbang sebanyak 10 gram, diletakkan dalam laminar flow dan didekatkan dengan api bunsen, dimasukkan 10 gram sampel tanah kedalam tabung elemeyer yang berisi 90 ml larutan aquades steril dan ditutup ujung tabung dengan kapas dan digojok kira-kira 1 jam. Pada tabung elemeyer ini diberi label 10^{-1} , kemudian diambil 1 ml dengan mikropipet dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan pada tabung reaksi yang berisi larutan steril sebanyak 9 ml dan diberi label 10^{-2} , lepas dan tarik sampai 3 kali pada mikropipet, ganti tups setiap kali pengenceran dan seterusnya sampai pengenceran kelima. Pada

pengenceran keempat dan kelima, dimasukkan kedalam petridish yang berisi media pikovskaya sampai 3 kali ulangan. Diamati dan dihitung koloni yang terbentuk yang ditandai dengan reaksi positif pada media pikovskaya padat dengan membentuk daerah yang berwarna putih bening (“*holozone*”) di sekeliling koloni.

Setelah diamati selama 5 hari, jumlah populasi bakteri pelarut Fosfat di dalam tanah dketahui sebagai berikut:

$$= \frac{1.21}{10^2}$$

$$= 123,4 \times 10^2$$

$$= 12300/1 \text{ gram Tanah}$$

3.4.2 Di Rumah Kaca

3.4.2.1 Pemilihan Benih Kedelai

Benih yang digunakan pada penelitian ini adalah varietas Tanggamus, karena varietas ini termasuk pada varietas tahan masam serta tahan terhadap kutu kebul. Benih-benih ini dipilih benih yang baik dan tidak rusak akibat proses penyimpanan, seperti mengerut atau berlubang.

3.4.2.2 Persiapan Media Tanah

Tanah ditimbang (6 kg) dimasukkan kedalam masing-masing sebanyak 90 kaleng, kemudian menatanya menurut denah percobaan dan ulangannya. Label tanaman dibuat menggunakan kertas karton dan ditulis dengan spidol permanen kemudian dimasukkan kedalam plastik, lalu label disteples menurut perlakuan di kawat kaleng tanah yang akan ditanami kedelai.

3.4.2.3 Penanaman Benih

Tanah dipupuk terlebih dahulu menggunakan pupuk organik cair P 2000 Z sesuai dengan perlakuan dengan takaran 160 ml per kaleng pada saat 5 hari sebelum penanaman. Memasukkan 3 benih kedelai yang sudah dipilih sebelumnya kedalam tanah yang sudah dilubangi, kemudian dipupuk dengan memasukkan pupuk Urea 1g, KCl 2g, SP 2g dan 4g sesuai dengan perlakuan pada lubang lain di samping lubang tanam, kemudian disiram dengan air sebanyak 1 gelas/pot untuk melembabkan benih dan meresapkan pupuk kedalam tanah.

3.4.2.4 Inokulasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanaman

Inokulasi dilakukan pada saat tanaman berusia 10 hari. Inokulasi bakteri pelarut Fosfat (P) yang sudah disiapkan di laboratorium dilakukan dengan cara mengambil 80 ml inokulan dengan menggunakan gelas ukur. Kemudian disiramkan merata ke tanah disamping tanaman. Inokulasi dilakukan pada pot dan disesuaikan dengan label.

3.4.2.5 Penyulaman

Penyulaman dilakukan pada saat tanaman berumur satu minggu setelah tanam, yaitu terhadap tanaman yang mati atau pertumbuhannya yang kurang bagus.

3.4.2.6 Penjarangan

Penjarangan dilakukan dengan cara memotong batang tanaman kedelai didalam pot yang berisi lebih dari 2 batang, dan disisakan 2 batang tanaman kedelai agar kompetisi yang terjadi antar tanaman dalam memperoleh nutrisi tidak terlalu besar.

3.4.2.6 Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan cara penyiraman yang dilakukan setiap hari, penyiangan dilakukan dengan mencabut rumput-rumput yang tumbuh disekitar tanaman. Penyemprotan dengan pestisida dilakukan 2 kali dalam satu minggu untuk melindungi tanaman dari hama dan penyakit, mengikat batang tanaman pada ajir menggunakan tali rafia agar tanaman dapat berdiri tegak.

3.4.2.7 Pemanenan

Pemanenan dilakukan pada saat tanaman kedelai berusia siap panen. Cara pemanenan dengan mencabut tanaman dari tanah, mengambil polongnya dari tanaman, kemudian memasukkan pada kantong-kantong sesuai dengan label yang tertulis pada bagian luar kantong. Selanjutnya dilakukan pengamatan.

3.4.2.8 Pengamatan

Pengamatan meliputi:

1. Tinggi tanaman

Mengukur tinggi tanaman pada saat tanaman akan dipanen menggunakan penggaris panjang.

2. Berat tanaman kering

Menimbang berat tanaman setelah tanaman dipanen dan dioven selama 3 hari, menggunakan timbangan analitik.

3. Berat biji

Menimbang semua biji yang bagus dan yang rusak menggunakan timbangan analitik.

4. Konversi 100 biji

Menghitung konversi biji yang diperoleh dari berat biji total.

Rumus menghitung konversi:

$$\frac{100}{\text{Jumlah biji}} \times \text{Berat biji}$$

