

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di lahan sawah Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta di Desa Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta. Waktu pelaksanaan pada bulan September–Januari 2008.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan :

Bahan yang digunakan dilapangan meliputi tanah regosol, larutan garam, benih Padi Merah-Putih, pupuk organik cair, sedangkan bahan yang digunakan di laboratorium yaitu medium LB.

Alat yang digunakan :

Alat yang digunakan di lapangan meliputi Baja, Cangkul, Sabit, Bambu, Label, Penggaris, Alat tulis, sedangkan alat yang digunakan di laboratorium yaitu, kompor, petridist, botol suntik, tabung reaksi, mikroskop, erlenmeyer dan autoklaf.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode percobaan lapangan dengan rancangan factorial 3 x 4 disusun dalam rancangan acak lengkap kelompok. Faktor pertama, Penyiapan benih, terdiri atas 3 aras yaitu

AA : benih direndam dalam air, benih yang tenggelam direndam dalam air selama 12 jam benih direndam dalam larutan garam 20 %,

AP : benih direndam dalam air, benih yang tenggelam direndam dalam larutan pupuk organik cair selama 12 jam.

GP : benih yang tenggelam direndam dalam larutan pupuk organik cair selama 12 jam;

Faktor kedua yaitu umur bibit terdiri atas 4 aras, yaitu :

U0 : benih langsung ditanam;

U1 : bibit ditanam umur satu minggu;

U2 : bibit ditanam umur dua minggu;

U3 : bibit ditanam umur tiga minggu.

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan 3 blok, dalam setiap blok terdapat 12 perlakuan, tiap petak terdiri dari 90 tanaman, dengan luas tiap petak 3 m x 2,7m dan jarak tanam 30 cm x 30 cm. Jumlah tanaman yang dibutuhkan sebanyak 3240 tanaman.

D. Tata Laksana Penelitian

Tahap 1. Persiapan

Persiapan yang dilakukan antara lain, yaitu :

a. Persiapan lahan

Persiapan lahan meliputi pengolahan tanah dengan membajak dan memberikan pupuk dasar sesuai standar pemupukan. Selain itu membuat bedengan

pada sekitar lahan yang digunakan. Sebelum tanah digunakan maka dilakukan uji awal mikrobial, yaitu dengan mengambil tanah dari setiap bagian dan mencampurnya hingga homogen, kemudian ditumbuhkan atau plating pada media LB (Luria Bertani) dengan konsentrasi NaCl 1,2 M. Uji awal ini dimaksudkan agar dapat dibedakan antara mikrobial yang ada pada tanah dan mikrobial yang berasosiasi dengan tanaman Padi Merah-Putih.

b. Persiapan laboratorium

Persiapan yang dilakukan meliputi :

1. Seleksi benih

Seleksi dilakukan untuk mengetahui biji yang layak ditanam atau mempunyai isi penuh/mentes. Seleksi ini dilakukan dengan cara merendam benih pada larutan garam dengan konsentrasi 20 % dalam waktu yang singkat. Benih yang tenggelam dimungkinkan mempunyai isi penuh/mentes, sedangkan yang mengapung mempunyai kualitas yang jelek jika ditanam. Setelah direndam dalam larutan garam maka benih yang tenggelam dicuci bersih sehingga larutan garam tidak menghambat pertumbuhan benih.

2. Uji perkecambahan

Uji perkecambahan ini dimaksudkan untuk mengetahui daya kecambah Padi Merah-Putih. Benih yang diuji mempunyai daya kecambah 100 %, baik pada seleksi garam maupun pada seleksi air Uji kecambah ini dilakukan dengan menggunakan 2 petridis, masing-masing petridis diisi benih Padi Merah-Putih

sebanyak 15 butir, satu petridist diisi benih yang diseleksi garam dan satunya diisi benih tanpa seleksi garam, kemudian benih dikecambahkan dan diamati perkecambahannya setiap hari dan dihitung daya kecambahnya dengan menggunakan rumus :

$$\text{Daya kecambah} = \frac{\text{Jumlah benih berkecambah normal}}{\text{jumlah benih yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

3. Pembuatan Medium dan Sterilisasi Alat

Pembuatan media dan sterilisasi alat di gunakan untuk karakterisasi dan identifikasi Rhizobakteri yang ada pada perakaran tanaman Padi Merah-Putih. Media yang digunakan adalah LB (Luria Bertani) dengan konsentrasi NaCl 1,2 M. Media disterilkan dalam autoklaf selama 30 menit dengan tekanan 1atm, sedangkan alat disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1atm.

Tahap 2. Penyemaian dan Penanaman

a. Perendaman benih

Benih yang akan digunakan dalam persemaian dilakukan seleksi benih dan direndam pupuk organik cair (POC) makro mikro sesuai perlakuan. Benih dengan perlakuan seleksi garam direndam dalam larutan garam kemudian direndam dengan larutan pupuk organik cair selama 12 jam, sedangkan benih dengan perlakuan seleksi air, benih direndam dengan air kemudian direndam dalam pupuk 12 jam. Benih dengan perlakuan air saja, benih direndam dalam air tanpa

b. Persemaian benih

Benih yang telah direndam kemudian disemai pada besek yang diisi pasir. Media pasir ini disiram larutan pupuk yang digunakan untuk perendaman benih. Persemaian ini dilakukan dengan menyemaikan benih yang berumur tiga minggu kemudian dua minggu dan yang berumur satu minggu. Pada benih yang berumur nol minggu tidak melalui tahap persemaian tetapi langsung ditanam di lapangan atau disawah. Dalam persemaian ini dilakukan perawatan dengan menjaga kondisi air atau kelembabannya dan tanaman dalam media persemaian disemprot dengan pupuk organik cair setiap dua hari sekali.

c. Penanaman

Benih yang telah disemai kemudian ditanam pada lahan yang telah diolah sesuai dengan blok-blok perlakuan. Pada penanaman Padi Merah-Putih ini menggunakan metode SITATU yaitu sistem tanam tunggal, dimana pada satu lubang tanam ditanami satu tanaman dengan cara geret sehingga membentuk huruf L. Cara geser ini dimaksudkan untuk mengurangi stres bibit dan rusaknya perakaran bibit.

d. Perawatan

Perawatan yang dilakukan meliputi :

1. Pengairan

Pada penelitian ini kondisi lahan diharapkan dalam keadaan macak-macak, sehingga lahan tidak membutuhkan pengairan yang banyak. Jika tanah mengalami

kekeringan maka perlu dilakukan pengairan, tetapi jika lahan terlalu basah maka air dikurangi sehingga lahan tetap dalam keadaan macak-macak

2. Pemupukan

Pemupukan dasar diberikan sebelum tanam menggunakan POC sebanyak 4.05 cc pupuk makro dan 2,025 cc pupuk mikro yang dilarutkan dalam 0,81 liter air.

Pemupukan susulan dilakukan pada hari ke-15 yang membutuhkan pupuk sebanyak 0,0324 cc pupuk makro dan 0,0162 cc pupuk mikro. Pada hari ke-30 membutuhkan pupuk sebanyak 0,0486 cc pupuk makro dan 0,0243 cc pupuk mikro sedangkan pada hari ke-45 dan hari ke-60 memerlukan pupuk sebanyak 0,0648 cc pupuk makro dan 0,0324 cc pupuk mikro (semuanya terhitung kebutuhan pupuk tiap petak lahan). Perhitungan kebutuhan POC tercantum pada lampiran 7.

e. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada minggu ke 3, 6, 9, dan 12

E. Parameter Pengamatan

a) Dinamika Populasi *Rhizobakteri*

1) Jumlah Populasi *Rhizobakteri*

Jumlah populasi *Rhizobakteri* dapat diamati dengan metode *plate count* dengan memperhatikan syarat-syarat sebagai berikut:

a) Jumlah koloni tiap petridish antara 30 – 300 koloni

- b) Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas Petridis (*spreader*).
- c) Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih dari 2 maka hasilnya dirata-rata, dan jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya.
- d) Jika dengan ulangan telah memenuhi syarat hasilnya dirata-rata

2) Macam *Rhizobakteri*

Berdasarkan karakteristik koloni dan sel, *Rhizobakteri* dapat diamati dengan cara, antara lain :

1. Ukuran koloni

Pengamatan ini dilakukan dengan cara menghitung diameter koloni (mm) dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris.

2. Bentuk koloni

Pengamatan ini dilakukan dengan cara mengamati bentuk koloni, bentuk tepi, struktur dalam dan elevasi pada medium LB

3. Bentuk sel

Diamati pada saat pengenceran gram.

4. Sifat gram

Diamati berdasar warna yang dihasilkan, jika berwarna merah berarti gram negatif, jika berwarna biru berarti gram positif

5. Uji Aerobisitas

Identifikasi pada medium Nutrien cair dengan mengambil 1 ml suspensi *Rhizobakteri* yang diinokulasi selama 2 x 24 jam pada suhu kamar. Pada medium ini diamati Pertumbuhan sel yang dihasilkan. Jika koloni tumbuh dipermukaan maka termasuk aerob, jika tersebar maka termasuk fakultatif anaerob, dan jika didasar tabung termasuk anaerob.

6. Pembentukan Nitrit, Nitrat dan Amonia

Pada medium nitrit, nitrat dan ammonia. Caranya dengan mengambil 1 ml suspensi biakan murni *Rhizobakteri* dicampur pada medium nitrat cair diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu kamar kemudian di tempatkan pada cawan porselin sebanyak 2 tetes dan ditambahkan 2 tetes asam salfanilat dan Napthylamin kemudian diamati reaksinya berdasarkan perubahan warna. Untuk nitrit dan nitrat perubahan warna terjadi, jika berubah warna menjadi merah berarti isolat ini mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit. Untuk uji ammonia perubahan warna terjadi setelah dipanaskan selama 5 menit(dilihat pada kertas lakmus), jika berubah berarti terbentuk ammonia.

7. Pembentukan spora

Caranya dengan menumbuhkan suspensi biakan murni *Rhizobakteri* pada medium irisan wortel.diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu kamar kemudian di tempatkan pada gelas benda dan dikering anginkan, setelah itu ditetesi dengan cat BCG dan dipanasi selama 3 menit. Setelah itu dicuci dengan larutan alcohol asam.

dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan kemudian dicat dengan cat safrain selama 10-15 hari, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, amati dengan mikroskop

b) Pertumbuhan dan hasil Tanaman padi

1) Berat kering tanaman

Cara pengamatan yaitu dengan menimbang berat tanaman sampel setelah dilakukan pengeringan menggunakan oven dan setelah berat tanaman konstan.

Pengamatan dilakukan pada minggu ke 3, 6, 9, dan 12

2) Laju pertumbuhan tanaman (LPT)

Pengamatan dilakukan dengan cara menimbang berat kering tanaman sampel setelah dilakukan pengeringan dengan oven laju pertumbuhan tanaman dapat

dihitung dengan rumus :

$$LPT = \frac{W2 - W1}{T2 - T1} (\text{gram} / \text{min ggu})$$

Keterangan :

W = Berat kering tanaman minggu ke (gram)

T = waktu (minggu)

3) Rasio tajuk akar

Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan berat kering tajuk

dengan berat kering akar. Pengamatan ini dilakukan pada minggu ke 3, 6, 9, dan

4) Berat 100 biji

Pengamatan ini dilakukan dengan cara menghitung 100 biji kemudian menimbanginya. Pengamatan ini dilakukan pada saat minggu terakhir atau pada saat panen. Dihitung dengan rumus :

$$W = \frac{(100 - ka)}{(100 - 14)} \times b$$

Keterangan :

W = Berat 100 biji kering pada ka 14 % (g)

Ka = Kadar air saat pengukuran (%)

B = Berat 100 biji pada saat pengukuran (g)

5) Hasil gabah (ton/ha)

Pengamatan dilakukan pada saat panen pada petak hasil masing-masing perlakuan yaitu dengan pengeringan butir gabah kemudian ditimbang, diukur kadar airnya kemudian dikonversikan dalam ton/ha pada kadar air 14% dengan

F. Analisis

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam pada taraf $\alpha = 5 \%$. Apabila ada beda nyata antar perlakuan yang diujikan, dilakukan uji lanjut dengan jarak ganda Duncan Multiple Range Test (*DMRT*) pada taraf $\alpha = 5 \%$. Data diperoleh dianalisis dengan grafik histogram dan