

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat Dan Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di *Green House* Fakultas Pertanian UMY yang terletak di Desa Tamantirto, kasihan, Bantul, Yogyakarta pada bulan Oktober-Januari 2014.

B. Bahan Dan Alat Penelitian

1. Bahan yang digunakan :

- a) Bahan tanam : Benih padi varietas IR-64 (Toko saprodi Yogyakarta)
- b) Bahan perlakuan : Empat isolat *Rhizobacter Indigenous* Merapi (hasil penelitian Ir. Agung Astuti, MSi), medium LBA dan LBC (lampiran 4).
- c) Media tanam : pasir Merapi, pasir pantai Bugel, tanah Regosol kawasan Tamantirto
- d) Pupuk : Pupuk kandang = 5 ton/ha, Pupuk Urea = 200 kg/ha, Pupuk SP-36 = 150 kg/ha, dan Pupuk KCl = 100 kg/ha (lampiran 7).
- e) Pestisida : Winder 100 EC (0,25-0,5), Winder 25 WP (0,125-0,5) dan Greeta 500 EC (1-2 ml/L).

2. Alat yang digunakan :

- a) Alat perbanyakan isolat (*Glass ware*, alat inokulasi *danshaker*).
- b) Alat tanam : Polybag ukuran 35 x 40.

- c) Alat analisis : Botol semprot, mikroskop, oven, cawan penampung, *petridish*, *colony counter*, timbangan.
- d) Alat inokulasi : Timbangan elektrik, *beaker glass*, pengaduk, *erlenmeyer*, tabung reaksi, *petridish*, jarum ose, mikropipet, autoklaf, lampu bunsen.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimen yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan percobaan faktorial (3 x 3). Faktor 1 adalah tanah marginal terdiri dari 3 aras yaitu : (R) Regosol KL 40%, (M) Pasir Merapi, (P) Pasir Pantai Faktor 2 adalah macam inokulasi *Rhizobacteri Indigenous* Merapi terdiri dari 3 aras yaitu : (C0) Tanpa Inokulum, (C2) Inokulum Campuran MB-MD, (C3) Inokulum Campuran MA-MB-MD. Sehingga diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang 3 kali, sehingga ada 27 unit percobaan. Setiap unit terdiri dari 3 tanaman sampel dan 3 tanaman korban dan 1 tanaman cadangan sehingga total ada 189 tanaman (lampiran 1).

D. Cara Penelitian

1. Perbanyak inokulum

a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang terbuat dari logam dan gelas dicuci bersih dan dibungkus kertas payung, kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121⁰C tekanan 1 atm selama 30 menit.

b. Pembuatan medium perbanyak isolat

Medium perbanyak yang digunakan yaitu LBC sesuai kebutuhan (lampiran 4). Membuat medium perbanyak LBC yaitu dengan cara mengambil bahan sesuai kebutuhan (lampiran 3) kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml dan erlenmeyer sebanyak 150 ml. Tabung reaksi dan erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan kertas payung kemudian disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121⁰C tekanan 1 atm selama 15-20 menit.

c. Identifikasi dan Karakterisasi

Identifikasi koloni dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat MA, MB dan MD dari hasil pembiakan kultur murni pada medium LBA koleksi penelitian Ir. Agung Astuti, MSi. dkk (2013) menggunakan metode permukaan (*surface plating method*). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Agung_Astuti dkk. (2013 a) didapat 4 isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yaitu MA, MB, MC dan MD. Keempat isolat memiliki kemampuan melarutkan Phospat, Nitrifikasi dan Amonifikasi dan tidak mampu memfiksasi N, akan tetapi isolat MA, MB dan MD memiliki kemampuan

melarutkan Phospat, Nitrifikasi dan Amonifikasi yang paling baik dibandingkan dengan isolat MC, sehingga dalam penelitian digunakan 3 isolat yaitu MA, MB dan MD.

d. Perbanyak inokulum

Rhizobacteri diperoleh setelah pemurnian diperbanyak pada medium Luria Bertani Cair (LBC) dengan cara menumbuhkan 1 ose bakteri pada 10 ml LBC + NaCl 5% selama 24 jam, lalu diinokulasikan pada *erlenmeyer* dengan 150 ml LBC + NaCl 5% diinkubasi dengan metode kultur gojog selama 48 jam hingga diperoleh jumlah bakteri setara $\pm 10^8$ CFU/ml (lampiran 4)

2. Penyiapan Media Tanam

a. Tanah Regosol

Tanah Regosol yang diayak dan dibersihkan dari kotoran kemudian dikering-anginkan selama seminggu. Setelah kondisi kering angin tercapai, sampel tanah tersebut disaring dengan mata saring 2 mm. Setelah tanah disaring kemudian dimasukkan kedalam polybag ukuran 35 x 40 sebanyak 8 kg. Kemudian diberi pupuk kandang dengan dosis 5 ton/ha, Pupuk Urea 200 kg/ha, Pupuk SP-36 150 kg/ha, dan Pupuk KCl 100 kg/ha. (Lampiran 8). Kemudian polybag disusun di *Green House* sesuai *lay out* (Lampiran 1).

b. Tanah pasi Merapi dan tanah pasir pantai Bugel

Media tanam tanah pasir dibersihkan dengan cara diayak kemudian disaring dengan mata saring 2 mm. Tanah kemudian dimasukkan kedalam polybag sebanyak 8 kg kemudian diberi Pupuk kandang dengan dosis 5 ton/ha, Pupuk Urea 200 kg/ha,

Pupuk SP-36 150 kg/ha, dan Pupuk KCl 100 kg/ha. (Lampiran 8). Kemudian polybag disusun di *Green House* sesuai *lay out* (Lampiran 1).

3. Pengaturan Kadar Lengas dan Kapasitas Lapang Tanah Marginal

a. Tanah Regosol KL 40%

Mengukur kadar lengas kapasitas lapang (KLKL), dengan cara mengukur kadar lengas kering udara (KLKU) yaitu menimbang botol timbang kosong dan tutupnya (a gram) dan mengambil contoh tanah kering udara kira-kira separuh volume botol timbang lalu ditimbang (b gram). Botol timbang dengan tutup terbuka dimasukkan dalam oven pada suhu 105-110⁰C selama 4 jam, setelah itu didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (c gram), kemudian menghitung KLKU dengan rumus (lampiran 6):

$$KLKU = \frac{b - c}{c - a} \times 100\%$$

Kemudian mengukur kadar lengas kapasitas lapang (KLKL) dengan mengambil contoh tanah kering udara secukupnya, dibungkus kain kasa dan direndam dalam gelas piala berisi air selama 15 menit, kemudian digantung (ditiriskan) pada statis selama 24 jam. Kemudian contoh tanah diambil pada bagian tengahnya, dimasukkan dalam botol timbang kira-kira separuh botol timbang kemudian ditimbang dengan tutupnya (b gram).

$$\text{Menghitung KLKL dengan rumus : } KLKL = \frac{b - c}{c - a} \times 100\%$$

Setelah itu mengukur kebutuhan air tanaman pada kapasitas lapang dengan rumus:

$$\text{Kebutuhan air pada kapasitas lapang} = \underline{KLKL - KLKU} \times \text{berat tanah}$$

Menghitung KLKl 40% dengan rumus : $KLKL = \frac{b-c}{c-a} \times 100 \times \frac{40}{100\%}$

Perhitungan penambahan air dapat dilihat pada lampiran 7.

4. Pembibitan

a. Seleksi benih dengan larutan garam

Seleksi benih dilakukan dengan cara memasukkan benih ke dalam wadah yang berisi air dan dicampur dengan garam $\pm 20\%$ dari volume air yang digunakan. Kemudian benih tersebut diaduk sampai benih terpisah antara yang terapung dan tenggelam. Benih yang tenggelam adalah benih yang bagus untuk dibibitkan. Selanjutnya benih yang tenggelam diambil dan dibilas dengan air sampai bersih dan dikeringanginkan.

b. Pemeraman Dan Persemaian

Setelah 12 jam, benih diangkat dan diperam dalam karung yang tertutup hingga 24 jam dan diletakkan ditempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Setelah 24 jam bibit diangkat, ditaburkan diatas besek yang sudah berisi media tanah yang dicampur kompos. Selanjutnya *besek* diletakkan ditempat yang terkena sinar matahari langsung selama 2 minggu. Benih yang disemaikan dipelihara dengan cara disiram agar media tempat persemaian selalu lembab.

Pada penerapannya dilapangan pembibitan yang dilakukan melebihi tenggat waktu yang ditetapkan yaitu lebih dari 14 hari dikarenakan untuk menyesuaikan jadwal yang berubah dari sebelumnya, hal ini dilakukan dengan pertimbangan waktu

pembibitan yang lebih lama 3 hari tidak akan berpengaruh pada kualitas bibit yang akan digunakan

5. Tahap Aplikasi Inokulum *Rhizobacteri* Pada Bibit Padi.

Penanaman dan pemindahan bibit dilakukan pada saat umur bibit 17 hari setelah persemaian. Terlebih dahulu dilakukan inokulasi *Rhizobacteri* dengan cara perendaman, sebagai berikut: Mencabut bibit dengan hati-hati dari petak persemaian, kemudian akar bibit padi direndam dalam 2 ml suspensi *Rhizobacter* yang dibiakkan dalam medium LBC + NaCl 5%, dengan kerapatan 10^8 cfu/ml selama 1 jam. Jumlah inokulum dari isolat *Rhizobacteri* MA, MB, MD yang dibutuhkan tersaji pada (lampiran 5).

Pada pelaksanaannya perendaman bibit pada suspensi campuran inokulum MB menggunakan tambahan 200 ml air, hal ini adalah kesalahan yang disebabkan kepanikan penulis saat penerapan teori penelitian kedalam praktik di lapangan, dan untuk keseragaman persamaan akhirnya disamakan antara perlakuan MB+ MD dan MA+MB+MD dengan penambahan 200 ml air.

6. Penanaman

Setelah perendaman akar bibit pada suspensi *Rhizobacteri* , penanaman dilakukan dengan cara ditanam 2 bibit dalam 1 polybag.

7. Pemeliharaan

a. Pengairan

Pemeliharaan tanaman padi setelah aplikasi inokulum meliputi pengairan yang dilakukan 1 hari sekali selama 2 minggu dan selanjutnya penyiraman dilakukan 3 hari sekali (melihat kondisi tanah) sesuai dengan perlakuan kadar lengas masing-masing (pengaturan kebutuhan air). Dengan cara menghitung evapotranspirasi tanaman padi. Mengatur kebutuhan air sesuai kadar lengas dengan cara menimbang tanaman setiap 3 hari sekali yaitu:

$$\text{Jumlah siraman} = \text{KL tanah} - (\text{berat timbangan} + \text{berat tanaman koreksi})$$

(Lampiran 7).

Pada penyiraman dengan kondisi pertumbuhan tanaman yang semakin bertambah berat yang akan mengakibatkan evapotranspirasi yang terjadi semakin besar sehingga berat tanaman harus ditimbang menggunakan tanaman koreksi (data tanaman koreksi diambil dari penelitian saudara Catur Wibowo) dan dijadikan acuan untuk penambahan air.

b. Pemupukan

Teknologi penggunaan pupuk kandang = 50000 kg/ha, Urea=200 kg/ha, SP-36=150 kg/ha dan KCl=100 kg/ha. Pupuk dasar menggunakan pupuk kandang 100% dan SP-36 100%. Kemudian setelah 14 hari setelah tanam diberikan Urea 30% dan KCl 50%. Ketika umur 30 hari setelah tanam berikan Urea 40%, kemudian 60 hst Urea 30% dan KCl 50% (Anonim, 2011). Total kebutuhan pupuk yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 8.

c. Penyiangan

Penyiangan gulma dilakukan dengan cara mencabuti gulma pada polybag. Penyiangan dilakukan pada saat gulma sudah ada yang tumbuh di sekitar tanaman padidalam polybag.

d. Pengendalian hama dan penyakit

Hama yang sering menyerang pada tanaman padi:

i. **Walang Sangit (*Leptocorixa acuta*)**

Walang sangit merupakan hama yang menghisap cairan bulir pada fase masak susu. Kerusakan yang ditimbulkan walang sangit menyebabkan beras berubah warna, mengapur serta hampa. Hal ini dikarenakan walang sangit menghisap cairan dalam bulir padi. Fase tanaman padi yang rentan terserang hama walang sangit adalah saat tanaman padi mulai keluar malai sampai fase masak susu. Pengendalian dianjurkan dilakukan pada saat gabah masak susu pada umur 70-80 hari setelah tanam dengan disemprot insektisida Greta 500EC (1-2 ml/L). Akan tetapi dikarenakan serangan yang didapati tidak terlalu banyak dan bisa dikendalikan secara manual maka serangan walang sangit yang ada cukup dikendalikan dengan manual dan dilakukan rutin setiap hari saat penyiangan.

8. Pengamatan dan Pemanenan

Pengamatan dilakukan mulai dari 1 minggu setelah tanam, menjelang panen hingga pada saat panen. Pemanenan dilakukan setelah padi menguning (95% malai padi menguning dari sejumlah malai pada rumpun/tanaman)

E. Parameter yang Diamati.

Dalam penelitian ini variabel pengamatan meliputi pertumbuhan vegetatif dan pertumbuhan generatif dengan tahapan antara lain:

1. Pengamatan Tanaman Sampel Mingguan

a. Tinggi Tanaman (cm)

Tinggi tanaman sampel diukur dari pangkal batang atau permukaan tanah sampai dengan ujung daun yang tertinggi, alat yang digunakan adalah penggaris dengan satuan cm. Pengamatan dilakukan 1 minggu sekali dimulai satu minggu setelah perlakuan dan berhenti ketika titik maksimum perkembangan vegetatif yang ditandai dengan keluarnya malai.

b. Jumlah Anakan Per Rumpun

Pengamatan jumlah anakan per rumpun dilakukan setiap 1 minggu sekali setelah perlakuan dan berhenti ketika titik maksimum perkembangan vegetatif yang ditandai dengan keluarnya malai.

2. Tanaman Korban

Pengamatan terhadap tanaman korban dilakukan pada minggu ke-2, ke-4 dan ke-6 meliputi :

a. Dinamika Populasi *Rhizobacteri* (Cfu/ml)

Pengamatan dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban dan mengisolasi bakteri yang tumbuh pada zona perakaran dengan metode *plate count*, dengan cara mengambil sampel tanah 1 gram dilarutkan dalam 99 ml air steril dengan seri pengecatan 10^3 , 10^4 , 10^5 kemudian diambil 0,1 ml dan diinokulasikan secara

surface plating pada medium Luria Bertani Agar dengan kadar NaCl 5%. Diinkubasi selama 48jam, lalu dihitung jumlah bakteri yang tumbuh dengan *colony counter*. Dari isolat yang tumbuh, kemudian dihitung jumlah macam mikrobia berdasarkan syarat:

1. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300 koloni.
2. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri (*Spreader*).
3. Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih kecil dari 2 maka hasilnya dirata-rata, dan jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya.
4. Jika dengan ulangan setelah memenuhi syarat hasilnya dirata-rata

b. Pertumbuhan Tanaman

1. Panjang Akar (Cm)

Dengan mengukur akar terpanjang tiap tanaman pada hari terakhir pengamatan tanaman sampel.

2. Berat Segar Akar (g)

Dengan cara mencabut tanaman, memotong akarnya kemudian ditimbang menggunakan timbangan elektrik, dinyatakan dalam gram.

3. Berat Kering Akar (g)

Dengan mengeringkan akar yang telah ditimbang berat segarnya dibawah sinar matahari, lalu dioven sampai berat konstan kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering akar, dinyatakan dalam gram

4. Berat Segar Tajuk (g)

Dengan cara mencabut tanaman, memotong tajuknya kemudian ditimbang menggunakan timbangan elektrik, dinyatakan dalam gram.

5. Berat Kering Tajuk (g)

Dengan mengeringkan tajuk yang telah ditimbang berat segarnya dibawah sinar matahari, lalu dioven sampai berat konstan kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering tajuk, dinyatakan dalam gram.

c. Hasil

1. Jumlah Bulir.

Tanaman pada setiap petak hasil dihitung ada berapa jumlah malainya.

2. Berat Biji Tiap Tanaman (g)

Pengamatan dilakukan dengan menimbang berat bulir basah tiap tanaman.

3. Berat 1000 Biji (g).

Pengamatan berat 1000 biji dilakukan dengan cara menimbang berat gabah 1000 biji dari petak hasil masing-masing perlakuan yang telah dikeringkan, kemudian mengukur kadar airnya dengan dikonversikan pada kadar air 14% dengan rumus :

gram = ———

a = berat 1000 biji pada kadar air 14 %

b = berat 1000 biji pada kadar air terukur

4. Hasil (Ton/ha)

Pengamatan dilakukan pada saat panen dari tiap unit hasil perlakuan yaitu dengan mengeringkan bulir gabah kemudian ditimbang diukur kadar airnya kemudian dikonversikan dalam ton/ha pada kadar air 14% dengan rumus :

H = ———

H = hasil gabah/ha pada kadar air 14%

A = luas lahan dalam satuan ha (10.000 m²)

B = jarak tanam

C = berat bulir pertanaman

KA= kadar air biji terukur

F. Analisis Data

Data pertumbuhan sampai minggu ke 6 dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (*analisis of variance*) dengan uji F pada taraf kesalahan 5%. Selanjutnya jika ada pengaruh nyata antar perlakuan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang berbeda dilakukan uji jarak berganda Duncan pada taraf kesalahan 5%.Data hasil pengamatan secara periodik dianalisis dengan grafik. Sedangkan data hasil dianalisis menggunakan histogram