

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-November 2014 yang di *Green House* Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Maulana Malik Ibrahim, Malang. Identifikasi dan perbanyakkan mikoriza serta bakteri *P. fluorescens* dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Pengambilan tanah dilakukan di Cangar, Kecamatan Bumiaji Malang.

1.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cetok, cangkul, kantong, polibag, plastik, pisau, timbangan, ayakan bertingkat berdiameter (2 mm; 1mm; 45 μ m), timbangan, cawan petri, Ring sampel, Sentrifuge, enlenmeyer, spektrofotometer, bunsen, pipet, plastik wrap. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, Benih jagung, tanah Andisol, air, aquades, media NA, isolat bakteri dan MA.

1.3. Rancangan Penelitian

Adapun metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari sepuluh perlakuan, masing-masing polibag kemudian diinokulasi dengan bakteri *P. fluorescens* dan MA dengan dosis yang telah ditentukan (Tabel 3).

Tabel 1 Perlakuan dan dosis Inokulasi MA dan *P. fluorescens*

Perlakuan	Dosis Inokulasi MA dan <i>P. fluorescens</i>
Tanpa inokulasi	Kontrol
M ₁ P ₁	10 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁵ cfu/ml)
M ₁ P ₂	10 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁷ cfu/ml)
M ₁ P ₃	10 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁹ cfu/ml)
M ₂ P ₁	20 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁵ cfu/ml)
M ₂ P ₂	20 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁷ cfu/ml)
M ₂ P ₃	20 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁹ cfu/ml)
M ₃ P ₁	30 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁵ cfu/ml)
M ₃ P ₂	30 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁷ cfu/ml)
M ₃ P ₃	30 Spora MA+ <i>P. fluorescens</i> (10 ⁹ cfu/ml)

Volume aplikasi bakteri *P. fluorescens* masing-masing adalah dengan konsentrasi 4 ml/polibag. Dari sepuluh perlakuan tersebut masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

3.4. Persiapan Penelitian

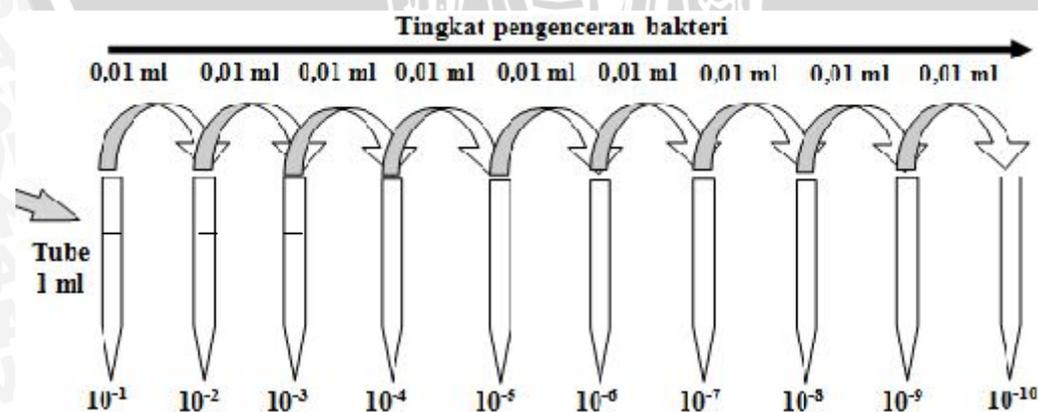
1.4.1. Analisis dasar

Tanah yang diperoleh dari lokasi pengambilan sampel yakni di Cangar, Bumiaji, Malang selanjutnya dilakukan analisis dasar. Analisis dasar dilakukan sebelum pelaksanaan penelitian yang tujuannya untuk mengetahui kondisi tanah yang digunakan sebagai bahan percobaan penelitian serta mengetahui kandungan unsur hara pada tanah tersebut. Adapun analisis dasar yang dilakukan meliputi kadar air tanah, tekstur, unsur hara N, P, K tanah, pH, C-organik, Kerapatan MA, dan *P. fluorescens*.

1.4.2. Persiapan Inokulum

Inokulum yang digunakan dalam penelitian ini adalah agen hayati Mikoriza Arbuskula (MA) yang diisolasi dari lahan pertanian Desa Joyogrand pada tanaman jagung, untuk mendapatkan total kebutuhan spora dibutuhkan 20 kali pengambilan sampel tanah dan masing-masing sampel ± 5 kg, sedangkan bakteri *P. fluorescens* diperoleh dari koleksi dari jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Brawijaya Malang.

Mikoriza yang telah diisolasi dan dipisahkan berdasarkan jenisnya kemudian disimpan pada botol fial film yang berisi aquadest selama ± 2 minggu, jenis mikoriza yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Glomus sp.* Isolat bakteri *P. fluorescens* yang telah didapatkan kemudian dilakukan pengenceran berdasarkan dosis perlakuan (Gambar 5).



Gambar 1. Skema pengenceran bakteri

1.4.3. Persiapan Tanah

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini adalah Andisol yang didapatkan dari Cangar, Kecamatan Bumiaji, Malang. Selanjutnya tanah diambil dan dilakukan analisis dasar terkait dengan unsur hara pada tanah tersebut meliputi kadar air tanah, tekstur, unsur hara N, P, K, pH, C-Organik, kerapatan MA dan *P. fluorescens*. Tahap terakhir sebelum digunakan sebagai media tanam adalah sterilisasi dengan menggunakan formalin 5% dengan dosis 2.5 ml/kg, proses sterilisasi ini berlangsung selama 15 hari baru keudian tanah bias digunakan untuk media tanam.

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Penanaman Benih Jagung

Penanaman benih jagung dilakukan pada media polibag berukuran 5 kg yang telah diisi tanah, penanaman di *Green House* Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Maulana Malik Ibrahim, Malang.

3.5.2. Inokulasi MA dan *P. fluorescens*

Inokulasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan langsung menginokulasikan bakteri *P. fluorescens* dan MA kedalam contong tissue yang diisi benih, adapun perlakuan bakteri dan MA yang diinokulasikan adalah tanpa inokulasi MA dan bakteri *P. fluorescens*, 10 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^5 cfu/ml), 10 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^7 cfu/ml), 10 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^9 cfu/ml), 20 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^5 cfu/ml), 20 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^7 cfu/ml), 20 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^9 cfu/ml), 30 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^5 cfu/ml), 30 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^7 cfu/ml), 30 Spora MA+ *P. fluorescens* (10^9 cfu/ml). Volume aplikasi bakteri *P. fluorescens* masing-masing adalah dengan konsentrasi 4 ml/polibag. Inokulasi dilakukan bersamaan pada saat benih ditanam.

3.5.3. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman dilakukan setiap 2 hari sekali, mulai awal tanam sampai selesai. Kegiatan pemeliharaan tanaman meliputi, penyiraman, pembersihan, dan perawatan tanaman.

1.5. Parameter pengamatan

Parameter yang diamati dan diukur untuk mengetahui kemampuan Bakteri *P. fluorescens* dan MA dalam meningkatkan penyerapan P dan pertumbuhan tanaman jagung dilakukan pada berbagai variabel seperti tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun, serapan P tanaman, jumlah, kerapatan spora, pH. Tinggi tanaman, jumlah daun, dan diameter batang diamati pada saat tanaman berumur 10 hst, 20 hst, 30 hst, 40 hst, dan 50 hst, pengukuran P, Kerapatan spora, dan Bakteri (Tabel 4).

Tabel 2. Parameter dan Metode Pengamatan penelitian

Objek	Parameter Pengamatan	Waktu Pengamatan (HST)	Metode
Tanaman	Tinggi Tanaman (cm)	10, 20, 30, 40, 50	Pengukuran
	Diameter Batang (cm)	10, 20, 30, 40, 50	Pengukuran
	Jumlah daun (helai)	10, 20, 30, 40, 50	Perhitungan
	Serapan P	50	Pengabuan Basah (HNO ₃ + HClO ₄)
	Biomassa tanaman (akar, tajuk)	50	Destruktif
	Total panjang akar	50	Newman, T nnant
Tanah	C-organik	50	Welkey and Black
	P-tersedia	50	P-Bray
	pH	50	Glass Elektrode
	Kerapatan Spora MA	50	Pengayakan basah
	Total populasi bakteri	50	Power plate

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan kemudian dilakukan analisis Ragam pada taraf 5 % dan apabila terdapat pengaruh perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5%.

