

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan terhitung dari bulan Agustus 2021- Februari 2022 di *Screen House* Universitas Muhammadiyah Malang dan Lahan Percobaan di Jalan Baiduri Tlogomas.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, sekop, gunting, pinset, wadah, gelas ukur, penggaris, tali/benang, ATK, alat dokumentasi.

Bahan yang digunakan adalah planlet pisang Cavendish siap aklimatisasi, pasir, fungisida, gelas plastik, karet, plastik petromax. Dan bahan yang digunakan setelah proses aklimatisasi adalah polybag ukuran 25x12,5 cm, pasir, tanah, kompos, berbagai macam bakteri.

3.3 Rancangan Penelitian

3.1.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Pada percobaan ini diberikan sebanyak 10 perlakuan, 3 ulangan, dan 3 sampel pada masing-masing perlakuannya sehingga diperoleh 90 sampel penelitian. Rancangan percobaan disajikan dalam tabel sebagai berikut :

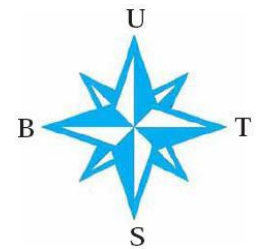
Tabel 1. Rancangan Percobaan Penelitian "Pengaruh Pemberian Berbagai Jenis Mikroba Terhadap Proses Pembibitan Hasil Aklimatisasi Tanaman Pisang Cavendish (*Musa acuminata*)"

		Perlakuan									
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
Ulangan	I	B1(I)	B2(I)	B3(I)	B4(I)	B5(I)	B6(I)	B7(I)	B8(I)	B9(I)	B10(I)
	II	B1(II)	B2(II)	B3(II)	B4(II)	B5(II)	B6(II)	B7(II)	B8(II)	B9(II)	B10(II)
	III	B1(III)	B2(III)	B3(III)	B4(III)	B5(III)	B6(III)	B7(III)	B8(III)	B9(III)	B10(III)

Keterangan: B1=*p.fluorescent* (Kontrol Positif); B2=*Ralstonia* sp. (Kontrol Negatif); B3=*Azospirillum* sp.(S₁T₁10⁻⁴⁽¹⁾); B4=*Micrococcus* spp.(S₁T₁10⁻⁴⁽²⁾); B5=*Micrococcus* spp.(S₁T₂10⁻⁴⁽¹⁾); B6=*Micrococcus* spp.(S₁T₄10⁻⁵); B7=*Rhizobium* sp.(S₁T₂10⁶⁽¹⁾); B8=*Rhizobium* sp. (S₁T₄10⁻³⁽¹⁾); B9=*Rhizobium* sp. (S₁T₆10⁻³⁽¹⁾); B10=*Nitrosomonas* sp.(S₁T₄10⁻⁴⁽³⁾); I=Ulangan I; II=Ulangan II; III=Ulangan III

Tabel 2. Denah Percobaan

I	II	III
B6	B10	B1
B3	B1	B6
B8	B4	B9
B5	B7	B7
B10	B6	B2
B2	B8	B10
B9	B5	B3
B1	B3	B4
B4	B9	B8
B7	B2	B5



Keterangan: B1=*p.fluorescent* (Kontrol Positif); B2=*Ralstonia* sp. (Kontrol Negatif); B3=*Azospirillum* sp.(S₁T₁10⁻⁴⁽¹⁾); B4=*Micrococcus* spp.(S₁T₁10⁻⁴⁽²⁾); B5=*Micrococcus* spp.(S₁T₂10⁻⁴⁽¹⁾); B6=*Micrococcus* spp.(S₁T₄10⁻⁵); B7=*Rhizobium* sp.(S₁T₂10⁶⁽¹⁾); B8=*Rhizobium* sp. (S₁T₄10⁻³⁽¹⁾); B9=*Rhizobium* sp. (S₁T₆10⁻³⁽¹⁾); B10=*Nitrosomonas* sp.(S₁T₄10⁻⁴⁽³⁾); I=Ulangan I; II=Ulangan II; III=Ulangan III

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Persiapan Planlet

Planlet pisang yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet pisang yang sudah siap aklimatisasi berumur kurang lebih sekitar 1,5-2 bulan dengan ciri-ciri memiliki tinggi 1-8 cm, jumlah daun 2-6. Sebelum melakukan aklimatisasi planlet dibersihkan dari agar.

3.4.2 Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*) dan NB (*Nutrient Broth*)

Menimbang semua bahan sesuai yang dibutuhkan dan dilarutkan dengan aquades. Masukkan dalam wadah dan diaduk sembari dipanaskan. Setelah media larut sepenuhnya atau media berubah menjadi bening, media dikering angin kan dan dimasukkan kedalam erlenmeyer, media yang sudah dingin kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan 1,5 ATM dan suhu 121°C selama kurang lebih 15 menit. Untuk pembuatan media agar, pelarutan media NB ditambah dengan agar.

3.4.3 Perbanyak Bakteri pada Media Padat

Bakteri yang akan di perbanyak dengan media padat diambil dengan mikropipet sebanyak 100 mikrolite, kemudian di masukan kedalam cawan petri yang sudah diberi media padat, dan ditunggu 1-3 hari hingga bakteri tumbuh. Setelah itu dilakukan pewarnaan untuk melihat bakteri yang tumbuh sesuai atau tidaknya dengan bakteri yang dibutuhkan.

3.4.4 Perbanyak Bakteri pada media cair

Perbanyak bakteri di lakukan pada media NB (*Nutrient Broth*), dilakukan proses percampuran bakteri dengan media cair NB yang dilakukan di dalam alat LAF. Kemudian bakteri didiamkan selama 2-3 hari untuk dilihat tumbuh atau tidaknya bakteri tersebut.

3.4.5 Sterilisasi Planlet dan Sterilisasi Media Tanam

Tahap sterilisasi dilakukan dengan cara mensterilkan planlet dengan hati-hati, kemudian dikeluarkan dari wadah untuk dicuci dengan air bersih hingga agar yang menempel pada akarnya hilang dan kemudian direndam pada larutan fungisida konsentrasi 2 g/liter selama 10 menit sebelum akhirnya ditanam ke dalam media tanam yang sudah disediakan dan ditaruh di ruang kultur selama dua minggu. Untuk media tanam disterilkan dengan merendam pasir kedalam larutan fungisida dengan konsentrasi 5 g/liter selama 30 menit.

3.4.6 Penanaman Planlet

Planlet yang sudah berumur 1 bulan setelah keluar dari botol dengan menggunakan media tanam pasir+tanah+kompos. Planlet dikeluarkan dari ruangan aklimatisasi kemudian dipindah kan kedalam polybag yang bervolume 25 × 12,5 cm. Dalam proses penanaman dilakukan dengan hati-hati agar akar planlet tidak patah ataupun rusak, kemudian planlet yang sudah di polybag ditata rapi pada rak yang telah disiapkan. Penanaman dilakukan pada pagi hari dan terlindung dari sinar matahari.

3.4.7 Pemeliharaan Planlet

Pemeliharaan planlet dilakukan dengan menyiram setiap dua kali sehari atau satu hari sekali dengan memperhatikan kelembaban media tanam. Jika sudah cukup basah, maka tidak perlu dilakukan penyiraman untuk menghindari pembusukan pada planlet. Penyiangan dilakukan agar pertumbuhan planlet tidak terganggu oleh gulma. Pemberian bakteri dilakukan setiap 1 minggu sekali sebelum pengamatan dilakukan, pemberian bakteri pada tanaman pisang sebanyak 1 ml atau 2-3 tetes/tanaman.

3.4.8 Pengambilan Sampel Tanah pada Sampel Penelitian

Mengambil sampel dari tanah area Rhizosfer tanaman kentang dengan 6 sampel yang berbeda-beda. Sampel yang diambil dicirikan dengan tanaman yang sehat, tidak terkena hama dan penyakit, serta lebih subur dari tanaman lainnya. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 250 gram dengan kedalaman 10-20 cm.

3.4.9 Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali dengan parameter pengamatan, yaitu sebagai berikut:

a. Tinggi tanaman (cm)

Parameter ini bermaksud untuk menghitung perkembangan tinggi batang tanaman pisang dalam proses pembibitan tiap minggunya sebagai efek dari pemberian perlakuan bakteri yang berbeda pada planlet. Pengamatan tinggi batang tanaman pisang dilakukan dengan cara mengukur dari pangkal bawah tanaman hingga kepada ujung batang di bawah pangkal pelepak.

b. Jumlah Daun (helai)

Parameter ini bermaksud mengetahui efek pemberian bakteri yang berbeda terhadap penambahan jumlah daun pada tanaman Pisang Cavendish. Caranya adalah menghitung jumlah daun tiap tanamannya satu minggu sekali.

c. Panjang Daun (cm)

Parameter ini bermaksud untuk mengetahui perkembangan panjang daun selama penelitian akibat efek dari pemberian bakteri yang berbeda-beda.

Perhitungan panjang daun dilakukan dari pangkal pelepah hingga ujung helaian daun Pisang. Pengamatan dilakukan satu minggu sekali.

d. Lebar Daun (cm)

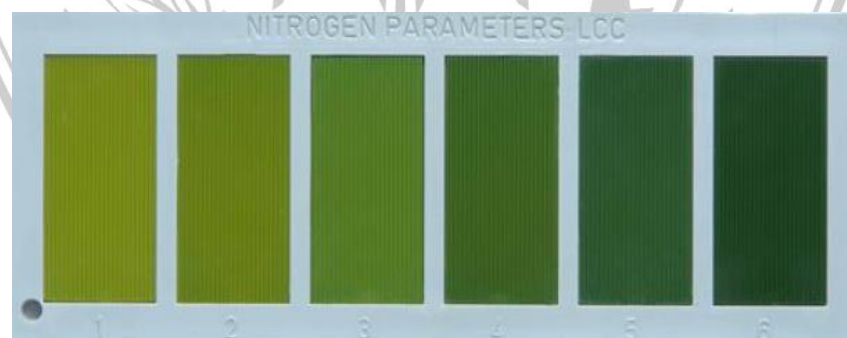
Parameter ini bermaksud untuk mengetahui perkembangan lebar helaian daun Pisang selama penelitian sebagai efek dari pemberian bakteri yang berbeda-beda. Perhitungan lebar daun dengan mencari lebar daun tertinggi untuk dimasukkan ke dalam data pada daun dari pelepah pertama bibit.

e. Diameter Batang (cm)

Parameter ini bermaksud untuk mengetahui perkembangan diameter batang bibit Pisang Cavendish selama penelitian sebagai efek dari pemberian bakteri yang berbeda-beda. Perhitungan diameter batang dilakukan pada dua tempat berbeda, yaitu pangkal bawah batang, dan bagian tengah batang menggunakan jangka sorong.

f. Warna Daun

Parameter ini dilakukan bermaksud untuk melihat gejala-gejala yang mungkin akan timbul akibat dari pemberian perlakuan bakteri yang berbeda-beda pada tanaman Pisang Cavendish. Pengamatan dilakukan dengan melihat warna daun pada hari akhir penelitian. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan *Modern Leaf Color Chart*.



Sumber: (Ali, *et al.*, 2017)

Gambar 1. NitrogenParameter LCC

g. Panjang Akar (cm)

Pengamatan dilakukan dengan 3 tahapan yaitu pada awal aklimatisasi sebelum planlet dimasukkan kedalam botol plastik, saat planlet pisang akan dipindahkan ke polybag, dan pada akhir pengamatan.

h. Jumlah Akar (Buah)

Parameter ini bermaksud untuk melihat perkembangan akar dari awal pemindahan hingga pada proses pembibitan. Penelitian ini dilakukan dengan menghitung jumlah akar pada awal dan akhir pembibitan.

i. Suhu Media Tanam (°C)

Pengamatan dilakukan dengan mengukur suhu media tanam menggunakan termometer tanah dan diamati setiap minggu.

j. pH Tanah

Pengamatan pH media tanam menggunakan termometer tanah dan diamati setiap minggu.

3.4.10 Metode Analisis Data

Data hasil pengamatan selanjutnya akan dilakukan analisis menggunakan Analisis Ragam (ANOVA) menggunakan program Microsoft Excel. Jika data menunjukkan pengaruh yang nyata maka akan dilanjutkan dengan analisis lanjutan menggunakan BNJ pada taraf 5% terhadap hasil penelitian.