

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada lahan alang-alang di Kelurahan Segalamider, Kecamatan Tanjung Karang Barat, Kota Bandar Lampung. Lokasi percobaan secara geografis terletak pada lintang $05^{\circ}-23'$ LS dengan garis bujur $105^{\circ}-14'$ BT pada ketinggian 173 meter dari permukaan laut. Penelitian dilakukan di lapangan sedangkan analisis bakteri tanah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian sedangkan analisis contoh tanah dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan bulan November 2012.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah contoh tanah yang diambil dari setiap perlakuan yaitu : Tanpa Olah Tanah (TOT), Olah Tanah Minimum (OTM), dan Olah Tanah Intensif (OTI) yang masing-masing diambil pada kedalaman 0-20 cm. Bahan untuk menghitung total bakteri yaitu larutan fisiologis (8,5 g NaCl dalam 1 liter aquades), media *Nutrient Agar* (NA) dan aquades.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah plastik bening, gunting, isolasi, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, botol semprot, autoklaf, mikropipet, gelas ukur, mikroskop, corong, QCC (*Quebec Colony Counter*) dan alat-alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 6 ulangan. Terdapat tiga perlakuan yaitu: TOT = Tanpa Olah Tanah, OTM = Olah Tanah Minimum dan OTI = Olah Tanah Intensif.

Data yang diperoleh dilakukan uji homogenitasnya dengan uji Bartlett dan uji aditifitas dengan uji Tukey selanjutnya dianalisis sidik ragam, kemudian dilakukan juga uji korelasi antara variabel utama total bakteri tanah dengan variabel pendukung pH, C-organik, N-total, suhu, dan kelembapan tanah. Setelah itu dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sejarah Lahan Penelitian

Lahan yang digunakan pada penelitian ini merupakan lahan alang-alang usia lebih dari 10 tahun. Selama 10 tahun, pengelolaan dilakukan hanya dengan memotong alang-alang setiap satu bulan sekali yang dibiarkan agar berdampak terhadap kandungan bahan organik tanah. Lahan tersebut tidak pernah dilakukan pengolahan tanah dan penanaman tanaman, hingga penelitian musim pertama pada tahun 2010. Penelitian musim pertama dengan menggunakan sistem

pengelolaan lahan dengan penggunaan tiga sistem olah tanah, yaitu tanpa olah tanah, olah tanah minimum dan olah tanah intensif. Hasil penelitian yang ditanami jagung pada musim pertama terhadap total bakteri tanah tidak berpengaruh nyata (Priyadi, 2011). Setelah penelitian musim pertama, dilakukan pemberaan lahan selama satu tahun agar berdampak terhadap kandungan bahan organik tanah. Untuk menindaklanjuti hal tersebut dilakukan penelitian musim tanam kedua dengan menggunakan tanaman kedelai.

3.4.2 Cara Pengambilan Sampel di Lapangan

Contoh tanah diambil dari lokasi lahan alang-alang di desa Blora Indah Kelurahan Segalamider, Tanjung Karang Barat. Sampel tanah diambil dengan menggunakan bor tanah dari lokasi penelitian. Contoh tanah diambil sebanyak lima titik setiap ulangan, sampai kedalaman 20 cm disetiap titik pengambilan. Kemudian contoh tanah yang diambil pada setiap titik dikompositkan berdasarkan ulangan.

Pengambilan sampel awal dilakukan dua minggu sebelum pengolahan tanah, pengambilan sampel tanah kedua setelah satu hari pengolahan tanah, pengambilan sampel ketiga pada masa vegetatif maksimum (64 HST), dan pengambilan sampel keempat (99 HST) dilakukan satu hari sebelum panen tanaman kedelai.

3.4.3 Tata Laksana Penelitian

Pada saat 2 minggu sebelum pelaksanaan penelitian lahan bekas pertanaman sebelumnya dilakukan pembuatan plot percobaan kembali. Lahan alang-alang yang dipilih dibatasi (diplot) dengan tali plastik sesuai dengan ukuran dan

banyaknya petak percobaan. Petakan setiap cara pembukaan lahan dilakukan secara acak. Setelah diplot kemudian lahan dibatasi sesuai dengan perlakuan cara pembukaan lahan yang sudah ditentukan pada penelitian sebelumnya. Plot percobaan dibuat secara kelompok dengan enam kelompok dan tiga perlakuan olah tanah. Lahan dibagi menjadi 18 petak percobaan sesuai dengan perlakuan dan dengan ukuran tiap petaknya 4m x 2m dengan jarak antar petak yaitu 0,3 meter.

Pada perlakuan OTI, pengolahan tanah dimulai dengan pembabatan alang-alang, kemudian tanah diolah sebanyak 2 kali. Mula-mula tanah dicangkul sedalam lebih kurang 20 cm secara merata, kemudian dilakukan penghancuran bongkahan pertama. Tanah diratakan dan sisa alang-alang dibuang dikeluarkan dari petak perlakuan. Untuk perlakuan OTM, lahan tidak disemprot menggunakan herbisida tetapi hanya dilakukan pembabatan gulma dan pengolahan tanah seperlunya yaitu hanya sedalam 10 cm. Gulma yang telah dibabat dikembalikan kembali yang digunakan sebagai mulsa. Pada perlakuan TOT, lahan disemprot menggunakan herbisida Round Up yang berbahan aktif Glifosat dengan dosis 4 liter ha⁻¹ untuk mematikan gulma yang tumbuh, dan kemudian gulma yang mati tersebut dibiarkan dan digunakan sebagai mulsa. Lahan ditanami tanaman benih kedelai Anjasmoro sebagai indikator. Setiap petakan dibuat lubang tanam dengan jarak 25 x 25 cm sampai kedalaman 3-5 cm setelah itu ditanami benih kedelai. Benih ditanam secara tugal sebanyak dua benih tiap lubang. Setelah tanaman tumbuh disisakan satu tanaman pada tiap lubang. Sampel tanah untuk analisis bakteri dan analisis pendukung diambil pada dua minggu sebelum pengolahan tanah, satu hari

setelah pengolahan tanah, masa vegetatif maksimum dan satu hari sebelum panen tanaman kedelai.

Pemberian pupuk dasar N,P,K dilakukan dengan sedikit memodifikasi dosis pemupukan Pulung (2009). Pada setiap plot percobaan diberikan pupuk dosis N : 100 kg ha^{-1} , P_2O_5 : 200 kg ha^{-1} dan K_2O : 100 kg ha^{-1} . Pupuk diberikan secara tugal dikiri-kanan lubang tugal benih, dengan jarak 10-15 cm di samping tanaman selanjutnya ditutup kembali dengan tanah. Pemberian pupuk diberikan secara bertahap, 1/3 pupuk urea ditambah 1/3 pupuk KCL dan seluruh pupuk TSP diberikan pada awal tanam. Sedangkan sisanya diberikan pada 1 bulan setelah tanam dan pada pertumbuhan masa vegetatif maksimum.

Penyiangan gulma pertama dilakukan dua minggu setelah tanam dan penyiangan selanjutnya dilakukan 2 minggu kemudian, penyulaman dilakukan pada waktu tanaman berumur 1 minggu melalui sulam benih. Untuk mencegah hama dan penyakit dilakukan penyemprotan pestisida yang memiliki bahan aktif fipronil dengan konsentrasi 4 ml liter^{-1} air. Penyemprotan pestisida bertujuan untuk mencegah tanaman dari serangan hama dan penyakit. Panen kedelai dilakukan apabila warna polong masak telah berwarna coklat muda.

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Variabel Utama

Variabel utama yang diamati adalah total populasi bakteri tanah. Untuk menghitung total populasi bakteri tanah menggunakan metode cawan agar. Metode hitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat

hidup akan berkembang menjadi satu koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan suatu indeks bagi organisme yang dapat hidup yang terkandung dalam sampel. Pengukuran jumlah bakteri dilakukan dengan menggunakan metode cawan agar dengan teknik sebagai berikut.

3.5.1.1 Pembuatan Seri Pengenceran

Pembuatan seri pengenceran dilakukan dengan memodifikasi (Arif *et al.*, 2009). Pembuatan larutan fisiologis (8,5 g NaCl dalam 1 liter aquades). Larutan fisiologis sebanyak 9 ml dimasukkan ke dalam Erlenmeyer serta tabung reaksi sebanyak 7 buah. Tabung reaksi dan Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil, selanjutnya tabung reaksi dan Erlenmeyer yang berisi larutan fisiologis diautoklaf selama 20 menit pada temperatur 121 °C. Setelah itu didinginkan pada suhu 42-45 °C sebelum digunakan. Untuk mendapatkan larutan 10^{-1} , dilakukan dengan memasukkan 10 g tanah yang telah diayak ke dalam 90 ml larutan fisiologis steril dan dikocok dengan menggunakan vorter secara perlahan. Kemudian 1 ml larutan pengenceran 10^{-1} dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis dengan menggunakan pipet sehingga diperoleh seri pengenceran 10^{-2} dan seterusnya hingga diperoleh seri pengenceran 10^{-8} .

3.5.1.2 Pembuatan Media Bakteri

Media biakan bakteri yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri tanah yaitu media *Nutrient Agar*. Kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 20 menit, media didiamkan pada temperatur sekitar 45 °C (Anas, 1989).

3.5.1.3 Pengamatan Bakteri

Pengamatan dilakukan setelah hari ke 3 setelah inkubasi. Menghitung jumlah koloni yang muncul pada tiap kali pengamatan. Bila dilihat dari warna, elevasi, (cembung, rata, cekung), pinggir koloni (bergerigi, mulus, berhifa). Untuk memudahkan penghitungan pada cawan petri dapat digunakan *Quebec Colony Counter*. Untuk menghitung jumlah mikroorganisme dari sampel tanah yang dihitung adalah dengan mengalikan rata-rata jumlah koloni dengan faktor pengencer.

$$\text{CFUs/ml (sampel tanah)} = \text{rata-rata koloni/cawan} \times \text{faktor pengencer.}$$

Hasil ini kemudian dikonversi ke jumlah mikroorganisme dalam 1 gram tanah kering mutlak dengan memperhitungkan kadar air tanah.

3.5.2 Variabel Pendukung

Variabel pendukung yang diamati adalah:

1. pH tanah, dengan metode elektrometik,
2. C-organik tanah (%) dengan menggunakan metode Walkley and Black,
3. N-total (%) dengan menggunakan metode Kjeldahl,
4. Suhu tanah (°C),
5. Kelembapan tanah (%), dan
6. Kadar air tanah (%)

Uji korelasi antara variabel utama (total bakteri) dengan variabel pendukung pH tanah, C-organik (%), N-total (%), suhu tanah (°C), dan kelembapan tanah (%).