

BAB 4. METODE PENELITIAN

Dalam rangka pencapaian tujuan penelitian ini, maka secara umum penelitian dibagi dalam beberapa tahap percobaan seperti terlihat pada skema penelitian yang disajikan pada Gambar 2. Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Kimia Tanah, Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Riau, dan lahan gambut di beberapa Kabupaten di Provinsi Riau. Penelitian ini direncanakan selama 3 tahun yang terdiri atas 6 tahap percobaan yaitu:

Tahun 1 :

1. Isolasi mikrob tahan terhadap pH rendah dari serasah (akasia, kelapa sawit, jerami padi);
2. Pengujian optimasi pertumbuhan mikrob pada bahan organik;
3. Pengujian isolat sebagai dekomposer pada bahan baku limbah (padi, kedelai, dan TKKS).

Tahun 2

1. Pegujian beberapa mikrob potensial untuk aplikasi langsung;
2. Pengujian cara aplikasi kompos dan aplikasi langsung pada tanaman padi dan kedelai pada skala petak.

Tahap 3

1. Pengujian cara aplikasi pupuk organik kompos dan aplikasi langsung mikrob terhadap bahan organik pada tanaman padi dan kedelai pada skala lapangan.

PROSEDUR PENELITIAN TAHUN I

Pada Tahun I (2016) penelitian akan dilakukan sebanyak 3 tahap percobaan (tahap 1, tahap 2, dan tahap 3) sebagai berikut:

Tahap 1 : Isolasi Mikrob tahan terhadap pH rendah dari serasah (akasia, jerami padi, dan sawit)

Percobaan ini bertujuan untuk mengisolasi mikrob selulolitik yang berasal dari serasah (akasia, jerami padi, dan sawit) yang telah ditanam di lahan gambut sekaligus mengkoleksi dan menguji potensi selulasenya secara uji kualitatif.

Isolasi mikrob selulolitik dilakukan secara langsung dengan mengambil sampel serasah ketiga tanaman tersebut 1 g dan selanjutnya diencerkan larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) steril. Pengenceran dengan serial 10^{-4} - 10^{-7} masing-masing diambil sebanyak 0,1 mL dengan menggunakan pipet mikro berukuran 1 ml untuk ditumbuhkan secara *pour plate* di dalam cawan petri yang telah mengandung media selektif *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). Pengamatan dilakukan secara morfologi (makro maupun mikro (Cappucino & Sherman 1983)) dan uji fisiologi untuk melihat jenis mikrob selulolitik yang diperoleh. Uji fisiologi dilakukan setelah mikrob murni dan memiliki potensi selulolitik yang tinggi.

Setelah mendapatkan isolat mikrob selulolitik murni, maka dilanjutkan dengan melihat ketahanan mikrob isolat baru maupun isolat koleksi yang diperoleh sebelumnya pada pH asam. Percobaan dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 faktor yang terdiri atas perlakuan pH dan waktu inkubasi yang dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Beberapa mikrob ditanam pada media 20 ml CMC dan dimasukkan larutan buffer asetat dan pH diatur menurut perlakuan yaitu pH 3; pH 4; pH 5 dan pH 6 menggunakan pH-meter. Sebagai kontrol yaitu media CMC *broth* (cair) tanpa penambahan starter. Setelah diinkubasi selama 24, 48, 72, dan 96 jam dilakukan pengukuran OD (*Optical Density*) dengan Spektrofotometer ($\lambda = 600$ nm).

Kemudian dilakukan uji kualitatif selulase dengan menumbuhkan mikrob pada media selektif *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). Indeks selulolitik atau indeks aktivitas selulase (IAS) diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Kader & Omar 1998):

$$\text{Indeks selulolitik} = \frac{\text{diameter zona bening (mm)} - \text{diameter koloni (mm)}}{\text{diameter koloni (mm)}}$$

Tahap 2: Pengujian optimasi pertumbuhan mikrob pada beberapa bahan organik

Tujuan percobaan adalah untuk mendapatkan waktu optimum pertumbuhan mikrob selulolitik dan konsorsium mikrob selulolitik sebelum dilakukan perombakan

beberapa bahan organik sehingga mikroba tersebut dapat diaplikasikan langsung pada tanaman.

Percobaan dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor pertama terdiri perlakuan bahan organik dari jerami padi, limbah tanaman kedelai, tandan kosong kelapa sawit dan faktor yang kedua terdiri atas waktu inkubasi yaitu 0,2,4,6,8,dan 10 hari inkubasi. Pada setiap waktu inkubasi dilakukan pengukuran OD (*Optical Density*) dengan Spektrofotometer ($\lambda = 600 \text{ nm}$) (Hardiningsih *et al.* 2006) dan perhitungan jumlah total mikroba dalam cawan (TPC) (Sunatmo, 2009).

Tahap 3 : Pengujian isolat mikroba selulolitik potensial sebagai dekomposer pada bahan baku limbah (jerami padi, kedelai, dan TKKS)

Tujuan percobaan adalah untuk melihat waktu perombakan mikroba selulolitik terhadap bahan baku yang terdiri dari limbah jerami, kedelai, dan TKKS.

Percobaan dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor pertama terdiri atas perlakuan bahan organik dari jerami padi, limbah tanaman kedelai, tandan kosong kelapa sawit dan faktor yang kedua terdiri atas waktu pengomposan yaitu 15, 30, 45, 60 hari. Selanjutnya akan digunakan pada percobaan-percobaan berikutnya hingga diperoleh pupuk organik yang diperkaya mikroba di lahan gambut.