

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 11 September – 30 Desember 2017 di Rumah Kasa dan Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Lingkungan Pertanian Pati, serta Laboratorium Residu Bahan Agrokimia Bogor.

3.1. Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian di Laboratorium yaitu *Microbiology Nutrient Broth*, agar, aquades, alkohol, Na_2SO_4 , Aseton *grade for analysis* dan mikroba konsorsia (*Bacillus aryabhatai*, *Delftia acidovorans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium geocarposphaerae*, *Pseudomonas alcaligenes* dan *Bacillus amyloliquefaciens*). Bahan yang digunakan di lapang yaitu bibit bawang merah varietas bima, tanah yang diambil dari daerah Demak dengan jenis tanah vertisol, insektisida Dursban dengan bahan aktif klorpirifos, pupuk kompos, pupuk biokompos, urea, KCl, SP-36, biochar, biopestisida, serta air.

Alat yang digunakan yaitu ember, sekop, timbangan analitik, botol semprot, botol air mineral, gelas takar air, gelas ukur, pipet ukur, erlenmeyer, cawan petri, *autoclaf*, *shaker*, *laminar airflow*, jarum ose, pipet, botol kaca, bunsen, plastik wrap, sentrifuge, *soxhlet*, kromatografi gas Varian 450 GC yang dilengkapi dengan *Electron Capture Detector* (ECD) dan kolom VF-1701 *pesticides*, pisau/cutter, karet gelang, aluminium foil, karung, amplop, penggaris, alat tulis, masker, dan sarung tangan.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan Percobaan. Penelitian ini dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 3 dan diulang sebanyak 4 kali. Faktor pertama biokompos dengan 2 taraf perlakuan yaitu D1= kompos dan D2= biokompos. Faktor kedua mikroba konsorsia dengan 3 taraf perlakuan yaitu L0= urea prill, L1= urea prill diselimuti biochar, dan L2= urea prill diselimuti biochar diperkaya mikroba konsorsia. Kombinasi perlakuan sebanyak 6 dengan 4 kali ulangan, sehingga terdapat 24 pot percobaan dimana setiap pot terdiri dari 3 tanaman bawang merah.

3.2.2. Prosedur Penelitian. Penyiapan media tanam dilakukan dengan menimbang tanah yang telah diambil dari daerah Demak dengan jenis tanah vertisol sebanyak 24 pot dengan berat 7 kg/pot. Tanah kemudian di masukkan dalam ember yang telah disiapkan.

Penyiapan pupuk kompos dilakukan dengan menimbang kompos sebanyak 12 plastik dengan berat 17,5 g/pot yang digunakan untuk perlakuan. Pembuatan Biokompos dilakukan dengan menyiapkan kompos dan biochar dengan perbandingan 4 : 1 kemudian dicampur secara merata. Setelah merata kemudian ditimbang dengan berat 17,5 g/pot yang kemudian digunakan untuk perlakuan.

Pembuatan urea berlapis biochar dilakukan dengan menyiapkan urea dan biochar dengan perbandingan 80 : 20 yaitu 1 kg urea dan 200 g biochar serta 40 mL molase ditambah dengan air sebanyak 80 mL kemudian dimasukkan dalam botol semprot dan dikocok sampai tercampur. Urea dimasukkan dalam grinder kemudian

ditambahkan dengan biochar sedikit demi sedikit lalu disemprot dengan molase secara berkabut kemudian ditambahkan biochar dan disemprot molase lagi, diulangi sampai biochar habis. Setelah pelapisan selesai, urea berlapis biochar dikeringkan dibawah sinar matahari dan dibolak-balik sampai kering. Urea berlapis biochar yang telah kering jika digenggam tidak menggumpal. Urea berlapis biochar ditimbang dengan berat 0,7 g/pot yang digunakan untuk perlakuan.

Larutan insektisida dibuat dengan cara menghitung kebutuhan insektisida dengan konsentrasi 5 ppm untuk 7 kg tanah didapat konsentrasi 0,175 mL/pot. Insektisida dengan bahan aktif klorpirifos dipipet dan dimasukkan dalam 3 botol air mineral masing-masing sebanyak 1,4 mL dan ditambah air sebanyak 200 mL, kemudian dikocok sampai homogen. Ketiga botol kemudian ditambah dengan air hingga volume menjadi 16 L. Setiap botol larutan insektisida diaplikasikan pada 8 ember tanah. Pengaplikasian insektisida dilakukan dengan menuang tanah yang ada diember pada sak kemudian 2 L larutan insektisida diambil dan dicampurkan pada tanah sampai merata. Tanah kemudian dimasukkan kembali pada ember dan ditata pada meja dan didiamkan selama 3 jam.

Peremajaan mikroba dilakukan dengan pembuatan media untuk mikroba yaitu media agar dan media cair. Media cair dibuat dengan cara menimbang *Microbiology Nutrient Broth* sebanyak 0,48 g kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambah 300 mL, lalu tutup dengan alumunium foil dan karet kemudian kocok. Media agar dibuat dengan cara menimbang *Microbiology Nutrient Broth* sebanyak 0.32 g dan agar sebanyak 3,3 g kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan 200 mL aquades, lalu tutup dengan alumunium

foil dan karet kemudian dikocok. Ketiga bahan kemudian disterilisasi pada *autoclaf* selama ± 2 jam. Media yang telah steril kemudian dituang pada cawan petri. Penuangan media agar dilakukan dengan menyiapkan media agar yang telah steril, cawan petri, dan alkohol. Penuangan dilakukan pada *Laminar Air Flow* dengan menghidupkan api bunsen, kemudian semprot tangan dengan alkohol agar steril. Media agar tersebut kemudian dituang menjadi 18 cawan petri. Cawan petri selanjutnya disimpan dalam *Laminar Air Flow* sampai mengeras. Proses peremajaan mikroba dilakukan dengan menyiapkan mikroba, media agar, jarum ose, alkohol, bunsen, *Laminar Air Flow*, dan plastik wrap. Mikroba yang digunakan yaitu *Bacillus aryabhatai*, *Delftia acidovorans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium geocarposphaerae*, *Pseudomonas alcaligenes* dan *Bacillus amyloliquefaciens*. *Laminar Air Flow* dan bunsen dihidupkan kemudian tangan disemprot dengan alkohol agar media tidak terkontaminasi mikroba lain. Jarum ose dipanaskan pada api bunsen sampai berpijar kemudian biarkan dingin. Mikroba diambil menggunakan jarum ose lalu goreskan pada media agar baru. Jarum ose dicuci pada alkohol lalu panaskan kembali setiap berganti mikroba. Cawan petri kemudian ditutup dan dililit dengan plastik wrap, kemudian diletakkan secara terbalik pada *Laminar Air Flow* dan biarkan selama 1 – 2 hari sampai mikroba tumbuh.

Perbanyakan mikroba dilakukan dengan cara menyiapkan mikroba yang telah diremajakan, media cair, botol kaca, jarum ose, alkohol, aluminium foil, dan karet. *Laminar Air Flow* dan bunsen dihidupkan kemudian tangan disemprot dengan alkohol. Media cair yang telah dibuat dituang pada 6 botol kaca. Jarum ose

dipanaskan pada api bunsen sampai berpijar kemudian dibiarkan dingin. Mikroba dimasukkan pada setiap botol kaca dengan cara mikroba diambil menggunakan jarum ose sebanyak 2 – 3 goresan kemudian dicelupkan pada media cair lalu tutup botol dengan aluminium foil dan karet. Jarum ose dicuci menggunakan alkohol dan panaskan pada api bunsen setiap berganti mikroba. Botol yang telah berisi mikroba selanjutnya di-shaker selama 24 jam atau sampai muncul benang halus pada media tersebut, yang artinya mikroba telah berkembang biak.

Pembuatan urea berlapis biochar diperkaya mikroba konsorsia dilakukan dengan menimbang 500 g urea berlapis biochar yang telah dibuat. Mikroba yang telah di-shaker dimasukkan pada botol semprot dengan volume 100 mL. Mikroba konsorsia tersebut disemprotkan pada urea berlapis biochar. Urea yang telah diselimuti biochar dan mikroba konsorsia ditimbang dengan berat 0,7 g/pot. Sisa urea berlapis biochar dan mikroba konsorsia yang telah dibuat dimasukkan kedalam amplop.

Pengaplikasian perlakuan dilakukan secara bertahap yaitu faktor pertama (kompos dan biokompos) dilakukan setelah 3 hari inkubasi tanah dengan cara ditaburkan pada permukaan tanah kemudian dibiarkan selama 7 hari. Faktor kedua (urea, urea berlapis biochar, serta urea berlapis biochar dan mikroba konsorsia) diaplikasikan setelah 7 hari pengaplikasian faktor pertama dengan cara ditaburkan dipermukaan tanah sesuai dengan dosis dan kode perlakuan yang telah ditentukan.

Penanaman dilakukan bersamaan dengan pengaplikasian faktor kedua dengan menyiapkan bibit bawang merah kemudian bagian ujung bibit dipotong sebanyak 1/3 dari umbi. Bibit kemudian ditanam pada pot sebanyak 3 bibit/pot. Pemupukan

lanjutan yaitu SP-36 pupuk SP-36 sebanyak 0,7 g/pot setara 200 kg/ha (72 kg P_2O_5 /ha) diberikan pada saat tanam. Pupuk KCl sebanyak 0,7 g/pot setara 200 kg/ha (120 kg K_2O /ha) diberikan 2 kali pada saat tanam dan umur 36 HST. Pupuk urea sebanyak 0,7 g/pot setara 200 kg/ha (88 kg N/ha) yang diberikan pada saat tanam, 14 HST, dan 36 HST.

Tahap perawatan dilakukan dengan menyiram tanaman pada pagi/sore hari sesuai kondisi tanah dan tanaman. Penyiraman dilakukan dengan memberikan air pada setiap pot dan ditakar kemudian dicatat. Dilakukan pencabutan gulma dan pembubunan pada tanaman bawang merah serta penyulaman pada bibit yang mati atau pertumbuhannya terganggu. Penyemprotan biopestisida dilakukan setiap 2 minggu sekali guna mencegah hama dan penyakit tanaman bawang merah. Panen dilakukan setelah tanaman berumur 60 HST dengan cara tanaman dicabut dari tanah kemudian ditempatkan pada amplop sesuai label.

Pengambilan sampel tanah dilakukan sebanyak 3 kali yaitu 3 hari setelah aplikasi insektisida yang digunakan untuk perkiraan awal residu pada tanah, 3 hari setelah pengaplikasian perlakuan, dan setelah panen. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil 3 sendok tanah pada tiap pot dengan lokasi yang berbeda secara dikomposit. Tanah tersebut kemudian dilakukan analisis residu klorpirifos.

Analisis residu insektisida dilakukan dengan metode QuEChER. Metode ini digunakan untuk menganalisa kandungan residu pestisida pada sampel tanah. Metode ini mengutamakan prinsip analisa yang cepat (*Quick*), mudah (*Easy*), murah (*Cheap*), efektif (*Effective*), handal (*Rugged*), dan aman (*Save*). Metode ini

dilakukan dengan menimbang sampel (tanah/umbi) sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan kedalam botol teflon atau botol kaca volume 50 mL, kemudian ditambah 10 mL aceton p.alarutan dikocok selama 1 menit hingga homogen, kemudian ditambah bubuk Sodium sulfat (NaSO_4) anhidrat dan 1 g Sodium klorida (NaCl). Larutan kemudian disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Hasilnya kemudian disaring dengan kertas saring, ekstrak ditampung pada tabung reaksi berskala volume 10 mL kemudian diinjeksikan kedalam instrument GC untuk analisis organoklorin. Kandungan residu insektisida pada sampel dihitung berdasarkan rumus dari Komisi Pestisida (1997) dan data dianalisis secara deskriptif:

$$\text{Residu (ppm)} = A \frac{C}{B} \times \frac{D}{E} \times \frac{F}{G}$$

Keterangan:

- A = konsentrasi larutan standar ($\mu\text{g/mL}$)
- B = luas puncak standar
- C = luas puncak contoh
- D = volume larutan standar yang disuntikkan (μL)
- E = volume larutan contoh yang disuntikkan (μL)
- F = volume pengenceran (mL)
- G = bobot awal contoh (g)

3.2.3. Parameter Pengamatan. Pengamatan dilakukan pada semua tanaman.

Variabel-variabel yang diamati adalah:

1. Tinggi tanaman, diukur dari pangkal tanaman hingga bagian tertinggi tanaman.

Pengamatan dimulai 1 minggu setelah tanam, dan kemudian dilakukan pengamatan setiap satu minggu sekali.

2. Jumlah daun, dihitung secara manual per pot, pengamatan dilakukan setelah 1 minggu tanam kemudian diamati setiap minggu.
3. Berat tanaman bawang merah, dihitung setelah panen dengan cara menimbang berat basah segar daun dan umbi bawang merah per pot.
4. Konsentrasi Awal Insektisida klorpirifos pada tanah, sampel tanah diambil 3 hari setelah inkubasi secara komposit kemudian analisis laboratorium untuk mengetahui konsentrasi klorpirifos awal pada tanah.
5. Konsentrasi akhir insektisida klorpirifos pada tanah, sampel tanah diambil setelah panen secara komposit kemudian analisis laboratorium untuk mengetahui konsentrasi klorpirifos akhir pada tanah.
6. Akumulasi konsentrasi insektisida klorpirifos pada umbi bawang merah, dilakukan pengambilan sampel umbi secara komposit setelah panen, selanjutnya dianalisis konsentrasi residu pada umbi tersebut.

3.3. Analisis Data

Model linier aditif Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial yang menjelaskan setiap nilai pengaruh sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = Hasil pengaruh biokompos ke i dan mikroba konsorsia ke j;
i: 1, 2 dan j: 1, 2, 3

μ = Nilai tengah umum

α_i = Pengaruh biokompos pada level ke-i

β_j = Pengaruh mikroba konsorsia pada level ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi antara perlakuan biokompos dan mikroba konsorsia pada perlakuan ke-i dan perlakuan ke-j.

ϵ_{ijk} = galat percobaan untuk faktor biokompos ke-i dan faktor mikroba konsorsia ke-j pada ulangan ke-k.

Hipotesis statistik disajikan sebagai berikut:

Pengaruh utama faktor perbedaan biokompos

H0 : $\alpha_1 = \alpha_2 = 0$

Tidak ada pengaruh pemberian biokompos terhadap penurunan konsentrasi insektisida klorpirifos pada pertanaman bawang merah.

H1 : Paling sedikit ada satu $\alpha_i \neq 0$

Ada pengaruh pemberian biokompos terhadap penurunan konsentrasi insektisida klorpirifos pada pertanaman bawang merah.

Pengaruh utama faktor perbedaan mikroba konsorsia

H0 : $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = 0$

Tidak ada pengaruh pemberian mikroba konsorsia terhadap penurunan konsentrasi insektisida klorpirifos pada pertanaman bawang merah.

H1 : Paling sedikit ada satu $\beta_j \neq 0$

Ada pengaruh pemberian mikroba konsorsia terhadap penurunan konsentrasi insektisida klorpirifos pada pertanaman bawang merah.

Pengaruh interaksi biokompos dan mikroba konsorsia

H0 : $\alpha_1\beta_1 = \alpha_1\beta_2 = \alpha_1\beta_3 = \alpha_2\beta_1 = \alpha_2\beta_2 = \alpha_2\beta_3 = 0$

Tidak ada pengaruh interaksi biokompos dan mikroba konsorsia terhadap penurunan konsentrasi insektisida klorpirifos pada pertanaman bawang merah.

H1 : Paling sedikit ada satu $\alpha_i\beta_j \neq 0$

Ada pengaruh interaksi biokompos dan mikroba konsorsia terhadap penurunan konsentrasi insektisida klorpirifos pada pertanaman bawang merah.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis ragam (uji F) untuk mengetahui pengaruh perlakuan dan apabila ada pengaruh nyata perlakuan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).