

BAB III.

METODE PENELITIAN

A. Tempat penelitian

Pengambilan sampel tanah, dan sampel untuk bahan isolat bakteri dilakukan di desa Sungai Rengas Kabupaten Kubu Raya (0° 0,2048 Lintang selatan 109° 14,7487 Bujur Timur). Tempat analisa dilakukan di Laboratorium hama dan Penyakit Fakultas pertanian UNTAN, LPPT Bogor, Lab. PAU Institut Pertanian Bogor, BIOTEK dan LPPT Universitas Gajah Mada. Uji di rumah kaca dan di lapangan dilakukan di Desa Sungai Rengas Kabupaten Kubu Raya.

B. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan September 2014 hingga Maret 2016

C. Pelaksanaan Penelitian

1. Tahapan Kegiatan Penelitian

Kegiatan penelitian ini terdiri dari 4 kajian.

- a. **Kajian 1:** Isolasi dan karakterisasi bakteri pelarut fosfat dari tanaman padi lokal di tanah sulfat masam.
- b. **Kajian 2:** Identifikasi molekuler dan filogenetik bakteri pelarut fosfat indegenus dari tanah sulfat masam Kalimantan Barat.
- c. **Kajian 3:** Mekanisme Pelarutan P oleh bakteri pelarut fosfat.
- d. **Kajian 4a.** Potensi Bakteri Pelarut Fosfat indegenus Tanah Sulfat Masam terhadap Pertumbuhan Padi Kultivar “Mentik susu” (Studi di rumah kaca).
Kajian 4b. Potensi Bakteri Pelarut Fosfat indigenus Tanah Sulfat Masam Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Gabah Padi Kultivar “Mentik Susu” (Studi di Lapangan)

2. Bahan dan Alat Penelitian

Secara umum bahan yang digunakan diantaranya media TSA (Tryptone soya agar), TSB (Tryptone soya broth), Pikovskaya, medium untuk uji siderofor, medium untuk uji indol. Sedangkan alat-alat yang digunakan alat sterilisasi (*autoclav*), *petridish*, tabung reaksi, pipet, shaker getar, ose.cangkul, traktor, kompos, alcohol, Pikovskaya medium, HPLC, pH meter, spektrofotometer, electrophoresis. Pupuk fosfat alam, kompos, urea, SP-36, KCl

3. Cara Penelitian dan Analisis

Kajian 1: Isolasi dan karakterisasi bakteri pelarut fosfat dari tanaman padi lokal di tanah sulfat masam

Sampel Bakteri Pelarut Fosfat

Bakteri pelarut fosfat yang dipergunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tanaman padi sehat yang tumbuh di tanah sulfat masam yang terletak pada 0°0,2048 Lintang Selatan, 109° 14,7487 Bujur Timur, di Desa Sungai Rengas Kecamatan Sungai Kakap Kalimantan Barat, dengan pH tanah 3,9. Padi diambil dengan mengikutsertakan tanah yang ada pada daerah perakaran, kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik tertutup, dan disimpan dalam suhu 10°C.

1. Isolasi sampel yang berasal dari rhizosfir

Isolasi dilakukan dengan cara menimbang sampel tanah 1 g tanah, dilarutkan dalam air fisiologis steril sebanyak 90 ml dalam erlenmeyer. Aduk rata dengan batang pengaduk dan biarkan sebentar. Ambil supernatannya sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades. Buat larutan seri hingga konsentrasi 10^{-5} . Untuk keperluan isolasi diambil 1 ml sampel kemudian diletakkan ke dalam petridish steril yang telah berisi larutan TSA (tryptone soya agar) steril. Banyaknya ulangan 3. Petridish yang telah berisi sampel ditutup rapat dan diletakkan di dalam suhu ruang selama 7 hari. Isolat yang tumbuh diamati secara morfologi (bentuk, sudut, warna,

permukaan, pinggiran), lalu diperbanyak di dalam agar miring. Media pada agar miring juga menggunakan TSA, hanya diletakkan di dalam tabung reaksi. Untuk membiakkannya ambil satu ose sampel, lalu di *streak* ke dalam agar miring, kemudian diamati selama 7 hari.

2. Isolasi sampel yang berasal dari jaringan akar padi lokal

Sampel yang berasal dari akar padi, dilakukan dengan cara menimbang 1 g akar padi yang sudah dicuci dengan aquadest steril, lalu direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian angkat dan celupkan ke dalam chloroc, biarkan selama 2 menit, kemudian angkat dan direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, terakhir direndam dalam air destilasi steril selama 3 menit dan keringanginkan sebentar. Sampel kemudian digerus menggunakan mortar, tambahkan 9 ml air destilasi steril. Pipet 1 ml supernatant lalu masukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air destilasi steril, lalu dibuat konsentrasi seri hingga 10^{-5} . Pipet 1 ml sampel masukkan ke dalam petridish steril yang telah berisi larutan TSA steril buat dengan banyaknya ulangan 3. Tutup petridish rapat letakkan di dalam ruangan dengan suhu ruang selama 7 hari. Bakteri yang muncul diamati baik pada sampel rhizosfir maupun jaringan akar. Lalu diperbanyak di agar miring (menggunakan tabung reaksi yang berisi larutan TSA). Untuk memperbanyaknya dibiakkan ke dalam agar miring, dengan cara 1 ose sampel dibuat *streak* pada media agar miring, biarkan selama 7 hari pada suhu ruang.

Kemampuan Melarutkan Fosfat

Kemampuan bakteri untuk melarutkan fosfat dilakukan dengan menggunakan media selektif Pikovskaya, caranya 1 ose inokulum biakan murni di inokulasikan ke media Pikovskaya Agar (10 gr glukosa, 0,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 7,69 g Fe_2PO_3 ; 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,002 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5 g yeast ekstrak; 20 g agar; 1000 mL akuades) (Saraswati *et al*, 2012). Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening mengelilingi koloni, dibandingkan dengan warna media kontrol.

Kemampuan Memproduksi Indol

Kemampuan isolat bakteri memproduksi fitohormon melalui uji senyawa indol dengan cara letakkan 1 ose bakteri di dalam media Tryptone soya broth (5 ml) yang telah ditambahkan L-Tryptophan (Casein 15 g, soybean extract 5 g, NaCl 5 g, L -Tryptophan 0,1% dan aquades 1000 ml). Setiap kultur terdapat 3 ulangan.

kali termasuk kontrol yang tidak diinokulasi. Setelah itu diinkubasi dengan cara dishaker selama 72 jam pada temperatur ruang. Untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi senyawa indol dengan memberikan 2-3 tetes larutan *reagent kovak's* (5.0 g *p*-dimethylaminobenzaldehyde, 75,0 ml amyl alcohol, 25,0 ml conc. HCl) Reaksi positif jika terbentuk cincin berwarna pink sampai merah tua, sedangkan reaksi negatif jika warna cincin tersebut berwarna hijau kekuningan (Lelliott dan Stead, 1987).

Produksi siderofor

Media yang digunakan terdiri dari 20 g Sucrose, 2 g L.Asparagines, 1 g K_2HPO_4 ,

0,5 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dalam 1 liter air destilasi ber pH 7.0. Biakan diinkubasi pada suhu $27^{\circ}C$ selama 1x 24 jam. Setelah diinkubasi biakan di sentrifugasi dengan kecepatan 1100 rpm selama 30 menit, lalu disaring dengan membran nitrocellulose 0,2 μ m. Untuk menganalisis dibutuhkan 3 mL supernatan dan tambahkan 1 mL $FeCl_3$ 0,01M sebagai sumber senyawa besi terbatas. Sebagai pembanding digunakan tanpa $FeCl_3$. Untuk mendeteksi siderofor dilakukan pengukuran nilai absorban dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang λ 500 nm.

Kajian 2: Identifikasi molekuler dan filogenetik bakteri pelarut fosfat indegenus dari tanah sulfat masam Kalimantan Barat.

1. Identifikasi Morfologi Bakteri

commit to user

Pengambilan Sampel

Sampel tanaman padi yang digunakan merupakan varietas Mentik Susu yang diambil pada Januari 2013 di lahan pasang surut Desa Sungai Rengas (0° 0,2048 Lintang Selatan; 109° 14,7487 Bujur Timur) yang berada dalam Kecamatan Sungai Kakap yang memiliki luas wilayah 453,17 km². Sampel padi yang diambil merupakan tanaman padi lokal sehat yang tumbuh subur pada lahan sulfat masam. Padi diambil dengan mengikutkan tanah yang berada pada daerah perakaran, kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik, lalu disimpan dalam suhu 10°C.

Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Bakteri

Bakteri diisolasi dari rizosfer dan endofit akar padi, menggunakan metode tuang pada media *Trypton Soya Agar* (TSA). Bakteri dari rizosfer diisolasi dengan mengambil 1 gram sampel tanah rizosfer dicampur dengan 9 mL akuadest steril, dan dilakukan pengenceran berseri hingga pengenceran 10⁻³. Bakteri endofit diisolasi dengan menimbang sebanyak 1 gram akar padi kemudian disterilisasi permukaan (direndam dalam NaOCl 3% 2 menit, rendam dalam EtOH 96% 1 menit, bilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali). Jaringan akar padi yang telah steril ditambahkan 9 mL akuadest kemudian digerus hingga hancur. Selanjutnya sebanyak 0,1 mL suspensi dari masing-masing sampel tanah dan ekstrak akar diambil, kemudian hasil pengenceran 10⁻¹, 10⁻², dan 10⁻³ disebarkan pada cawan Petri lalu dituang dengan media TSA hingga memadat. Hasil isolasi diinkubasi pada suhu 26-28°C selama 4 hari. Koloni yang tumbuh menyebar dengan baik, dipurifikasi pada media TSA baru dan diinkubasi selama 4 hari pada temperatur ruang. Koloni bakteri yang dapat tumbuh dengan baik dikarakterisasi secara morfologi makroskopis dan mikroskopis yang sebelumnya dilakukan pewarnaan Gram pada koloni tunggal (Olympus Optilab, 400x magnification).

2. Identifikasi Molekuler dan Filogenetik Isolat Bakteri Pelarut Fosfat

commit to user

Isolasi DNA Genom dari bakteri Pelarut P

Sampel untuk identifikasi merupakan isolat bakteri terpilih yang memiliki kemampuan melarutkan P tertinggi. Masing-masing isolat bakteri ini kemudian ditumbuhkan dalam media TSB (Tryptone Soya Broth) yang ditempatkan pada erlenmayer, dishaker selama 24 jam pada suhu ruang. Isolasi genom bakteri terpilih dilakukan mengikuti protocol Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell) dari Geneaid (Lertcanawanichakul 2015). Tahapan isolasi DNA diawali dari prealisis dinding sel bakteri berumur 24 jam, dengan memasukkan ke dalam tabung Eppendorf yang berisi 6-7 butir *glass beads* dan campuran 200 μ L *buffer* TE (20 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA, 1% Triton X-100, pH 8.0) dan dilakukan sentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 10 000 rpm sehingga akan terpisah menjadi supernatan dan endapan berupa pelet. Supernatan dibuang dan ditambahkan 200 μ L *buffer* TE kemudian divorteks selama 10 menit hingga sel menjadi lisis.

Tahapan dilanjutkan dengan penambahan 200 μ L *buffer* lisozim segar (20 mg/mL lisozim, 20 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA, 1% Triton X-100 pH 8,0) ke dalam tabung Eppendorf dan diresuspensi hingga homogen, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit sambil dibolak balik setiap 2-3 menit.

Tahapan lisis dilakukan dengan menambahkan 200 μ L *buffer* GB kemudian dikocok selama 5 detik dan diinkubasi pada suhu 60⁰C selama 10 menit sambil dibolak balik setiap 3 menit. Selanjutnya isolasi DNA masuk tahapan DNA yaitu 200 μ L etanol absolut dimasukkan pada tabung Eppendorf kemudian diresuspensi hingga homogeny. Campuran tersebut kemudian dipindahkan ke dalam kolom GD yang telah dipasangkan dengan tabung mikro, kemudian disentrifugasi 2 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Hasil sentrifugasi dibuang supernatannya dan masuk tahapan pencucian yaitu sebanyak 400 μ L, larutan WI ditambahkan ke dalam kolom GD dan disentrifugasi selama 30 detik dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan dibuang dari tabung koleksi dan dilakukan penambahan 600 μ L *buffer* pencuci (telah ditambahkan etanol absolut) pada kolom GD. Tabung Eppendorf

kemudian disentrifusi selama 30 detik pada kecepatan 10.000 rpm dan dibuang supernatannya. Tabung Eppendorf kembali disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 10.000 rpm hingga sampel DNA benar-benar kering.

Tahapan akhir dari isolasi DNA adalah kolom GD dipindahkan ke tabung Eppendorf baru dengan menambahkan 50 μL *buffer* elusi ke bagian tengah dari matriks kolom GD dan diinkubasi selama 15 menit sampai *buffer* elusi menyerap ke dalam DNA. Tabung Eppendorf kembali disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 10 000 rpm. Sampel DNA yang baik untuk digunakan dalam tahapan PCR apabila kemurnian DNA berkisar antara 1.8-2. Kemurnian dan kuantitas DNA hasil isolasi diukur menggunakan Nanodrop 2000 *spectrophotometer* (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA).

Amplifikasi gen 16S rRNA Bakteri Pelarut P

DNA bakteri diamplifikasi melalui reaksi Polymerase Chain Reaction (PCR) menggunakan T1-thermocycler (Biometra, Goettingen, Germany). PCR dilakukan pada genom bakteri dengan menggunakan 2 pasang primer gen 16S rRNA, yaitu 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) dan 1492R (GGTTACCTTGTACGACTT) (Lane 1985). Sebanyak 25 μL volume reaksi terdiri dari 12,5 μL GoTag Green Master Mix, 2x 0,25 μL masing-masing primer (60 pmol), 5 μL cetakan DNA (100 ng/ μL) dan 7 μL *nuclease free water*. Gradient suhu yang digunakan dalam PCR adalah predenaturasi 94°C selama 1 menit, annealing 65°C selama 45 detik, elongasi 72°C selama 2 menit, post elongasi 72°C selama 7 menit, dan *cooling* 4°C selama 15 menit. PCR dilakukan hingga mencapai 30 siklus (Zhang *et al.* 2013).

Elektroforesis DNA

Hasil PCR yang diperoleh selanjutnya di elektroforesis menggunakan gel Agarose 1% (1 g Agarose, 100 mL buffer TBE 1x). DNA hasil PCR diambil sebanyak 4 μL kemudian ditambahkan 1 μL Loading Dye, resuspensi lalu dimasukkan ke dalam sumur gel Agarose 1%. Selanjutnya dialiri listrik dengan tegangan 220V dan kuat arus 75mA selama 45 menit. Hasil elektroforesis gel, direndam dalam pewarna EtBr (Ethidium Bromida 10%) selama 10 menit,

kemudian dibilas dengan air ddH₂O. Selanjutnya DNA target tunggal diobservasi pada G:Box gel documentation (Syngene, Frederick, MD, USA) untuk melihat target pita DNA berukuran 1400 pasang basa (bp).

Analisis Bioinformatik dan Konstruksi Pohon Filogenetik Gen 16S rRNA Bakteri Pelarut P

Produk PCR gen 16S rRNA bakteri pelarut P yang diperoleh, diurutkan DNANYA mengikuti protokol standard DNA sequencer (ABI PRISM 3100) menggunakan Sequencing Service Company (1st Base Malaysia). Semua sekuen gen 16S rRNA dibandingkan dengan strain pembanding yang tersedia di database GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Analisis filogenetik dilakukan menggunakan software MEGA 6. Pohon filogenetik dikonstruksi dengan metode neighbor-joining yang dievaluasi dengan analisis bootstrap 1000 kali (Saitou dan Nei, 1987).

Kajian 3. Mekanisme Pelarutan P oleh Bakteri Pelarut Fosfat

Uji kemampuan melarutkan P secara kuantitatif

Menguji besarnya P yang dapat dilarutkan secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan larutan Pikovskaya Broth dengan sumber P berasal dari tricalcium fosfat dan batu alam fosfat. Masukkan isolat bakteri sebanyak 1 ose biakan murni diinokulasikan pada media Pikovskaya Broth (10 g glucose, 0,5g (NH₄)₂SO₄; 5 g Ca₃(PO₄)₂; 0,1 g MgSO₄.7H₂O; 0,002 g MnSO₄.H₂O; 0,002 g FeSO₄.7H₂O, 0,5 g yeast extract; 1000 ml aquadest), sebanyak 9 ml medium Pikovskaya broth diletakkan dalam tabung reaksi dan di shaker selama 5 hari. Setelah itu dilakukan analisis dengan menggunakan Spektrofotometer, yang diamati berdasarkan nilai absorbansinya. Selain itu dilakukan pula pengukuran pH medium dengan menggunakan pH meter.

Analisis asam-asam organik

Analisis asam organik dilakukan dengan cara memasukkan 1 ml larutan isolat ke dalam 100 ml media Pikovskaya broth lalu diinkubasi menggunakan inkubator goyang selama 14 hari. Setelah itu disentrifusi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Supernatant disaring dengan kertas nitroselulose 0.2 μ m, dimasukkan ke dalam tabung ependof. Analisis asam organik menggunakan alat HPLC (*high Chromatp*) dengan menyuntikkan sebanyak 20 μ l dengan kecepatan konstan (analisis dilakukan di lab PAU UGM)

Kajian 4a. Potensi bakteri pelarut fosfat indegenus tanah sulfat masam terhadap pertumbuhan padi (studi di rumah kaca)

Media persemaian dan media tanam

Media persemaian menggunakan campuran tanah, dan pasir dengan perbandingan 1:1 yang telah disteril, sedangkan untuk menanam dalam polibag digunakan media tanam tanah sulfat masam yang sebelumnya telah dikeringanginkan dan diayak, kemudian disterilkan.

Inokulasi benih

Benih direndam dalam larutan Tryptone Soya Broth (TSB) steril ditempatkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml yang telah diinokulasi bakteri dan dishaker selama 5 menit. Perendaman benih dilakukan selama 1 x 24 jam.

Persemaian benih

Media untuk persemaian benih digunakan campuran antara tanah dengan pasir dengan perbandingan 1:1 yang telah disterilisasi terlebih dahulu selama 3 jam.

Benih yang sudah direndam disemai pada bak plastik dengan panjang 20 cm x 10 cm x 5 cm yang telah berisi media semai. Persemaian dilakukan selama 7 hari. Bibit dipindahkan setelah berumur 7 hari.

Rancangan

Penelitian menggunakan rancangan faktorial dengan pola acak lengkap. Faktor pertama adalah bakteri pelarut fosfat (B), terdiri dari b_0 = tanpa bakteri, b_1 = *Paenibacillus alvei* strain NBRC 3343, b_2 = *Paenibacillus alvei* strain DSM29, b_3 = *Bacillus cereus* ATCC 14579, b_4 = *Bacillus cereus* strain ATCC 14579, b_5 = semua bakteri. Faktor kedua batu fosfat alam (P) terdiri dari p_0 = tanpa RP, dan p_1

= 3,0 g RP, sedangkan faktor ketiga adalah kompos (K) terdiri dari k_0 = tanpa kompos, dan k_1 = 0,6 kg kompos, terdapat 3 ulangan, dengan 3 buah sampel..

Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada tinggi tanaman, anakan/rumpun, P tersedia, dan pH tanah

Analisis Statistik

Analisis menggunakan Anova (sidik ragam) pada tinggi tanaman dan anakan/rumpun. jika berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncant multile range test 0.05.

Kajian 4b. Potensi bakteri pelarut fosfat indigenus tanah sulfat masam terhadap pertumbuhan dan hasil padi (studi di lapangan).

Media persemaian

Media persemaian sama seperti pada studi di rumah kaca, menggunakan campuran tanah, dan pasir dengan perbandingan 1:1 yang telah disteril, sedangkan untuk menanam dalam polibag digunakan media tanam tanah sulfat masam yang sebelumnya telah dikeringanginkan dan diayak, kemudian disterilkan.

Inokulasi benih

Benih direndam dalam larutan Tryptone Soya Broth (TSB) steril ditempatkan dalam erlenmeyer sebanyak 50 ml yang telah diinokulasi bakteri (1ose) dan dishaker selama 5 menit. Perendaman benih dilakukan selama 1 x 24 jam.

Persemaian benih

Media untuk persemaian benih digunakan campuran antara tanah dengan pasir dengan perbandingan 1:1 yang telah disterilisasi terlebih dahulu selama 3 jam.

Benih disemai pada bak plastik dengan panjang 20 cm x 10 cm x 5 cm yang telah berisi media semai. Persemaian dilakukan selama 7 hari. Bibit dipindahkan setelah berumur 7 hari.

Pelaksanaan di lapangan

Tanah diolah dengan traktor sampai siap tanam. Bedeng tanaman berukuran 6 m x 2 m, jarak antar bedengan 50 cm, jarak antar kelompok 70 cm. Benih diinokulasi selama 1 x 24 jam dengan cara direndam dalam medium tryptone soya broth (TSB) kemudian diletakkan dalam incubator goyang selama 5

menit. Media semai menggunakan campuran antara tanah dengan pasir yang telah dicuci bersih dengan perbandingan 1 : 1, kemudian disterilisasi terlebih dahulu selama 3 jam. Bibit ditanam di lapangan pada umur 7 hari setelah semai, dengan jarak tanam 30 x 30 cm. tanaman per lubang hanya satu (1).

Perlakuan i_6 = tanaman dipupuk urea sebesar 300 kg/ha atau setara dengan 360 g per petak, 200 kg SP 36 atau 240 g per petak, dan 100 g KCl atau 120 gr per petak. Urea dan KCl diberikan 2 kali pada umur 7 hari dan 40 hari setelah tanam, sedangkan SP 36 diberikan sekaligus pada saat tanam.

Pengamatan dilakukan pada tinggi tanaman, jumlah anakan/ rumpun, jumlah anakan produktif/rumpun, jumlah gabah/malai, berat gabah/rumpun, berat gabah/malai, berat gabah/ petak, berat 1000 biji. Disamping itu dilakukan analisis P tersedia, kadar pirit, kadar Fe dan pH tanah. Untuk menguji perbedaan antar perlakuan menggunakan Duncan multiple range 0.05, korelasinya dengan menggunakan Exel.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di lapangan di Desa Sungai Rengas Kabupaten Kubu Raya ($0^0 0,2048$ Lintang Selatan, $109^0 14,7487$ Bujur Timur). Tanah memiliki pH 3,9, kandungan P 10,3 ppm, kandungan pirit 0,04%. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan terdiri dari i_1 = tanpa bakteri; i_2 = *Paenibacillus alvei* strain NBRC3343; i_3 = *Paenibacillus alvei* strain DSM29; i_4 = *Bacillus cereus* ATCC14579; i_5 = *Bacillus cereus* strain ATCC14579; dan i_6 = Dipupuk kimia N,P,K, banyaknya ulangan 4 sebagai kelompok.

Pengamatan

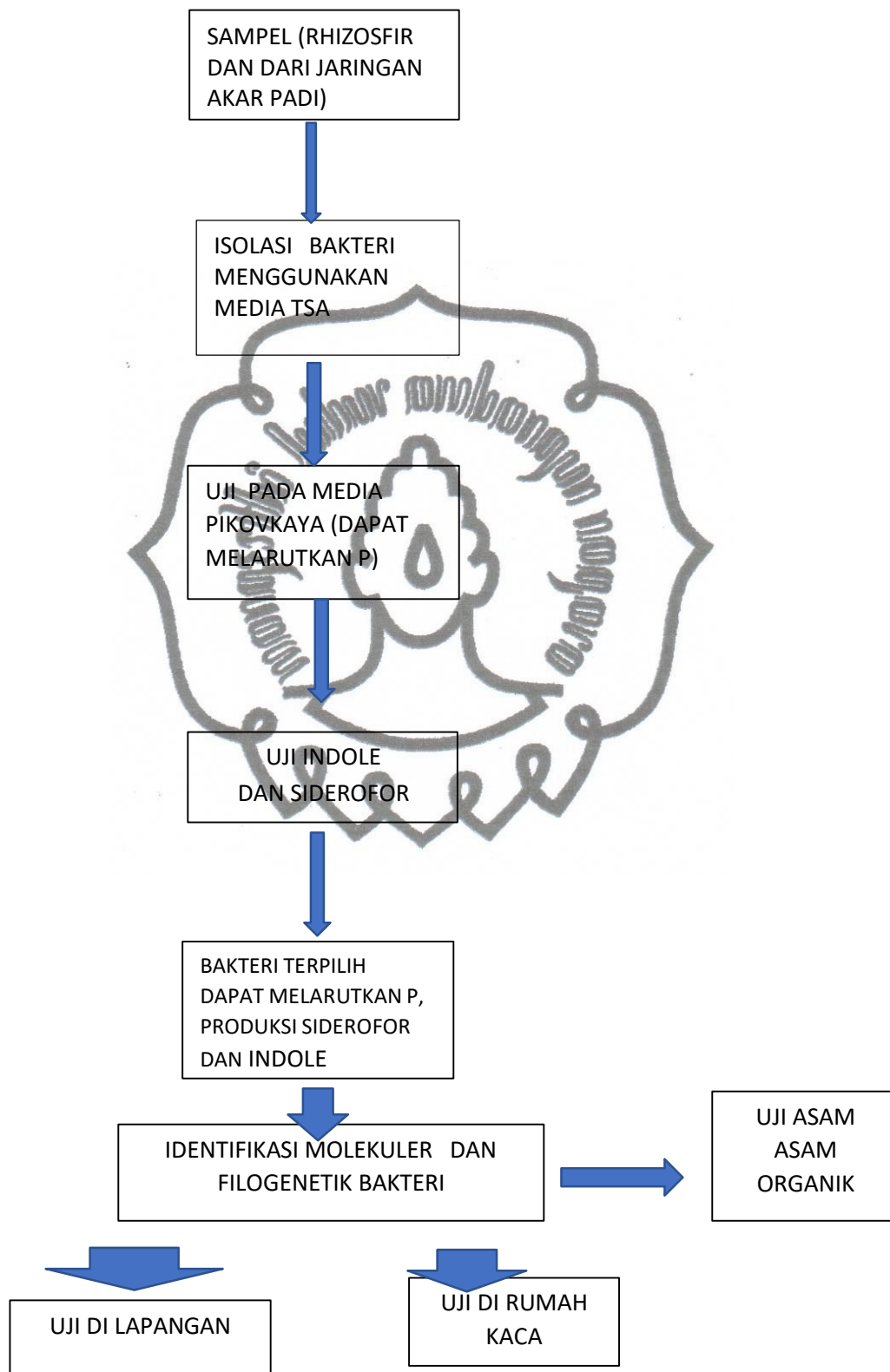
Pengamatan dilakukan pada tinggi tanaman, anakan/rumpun, anakan produktif /rumpun, jumlah gabah/malai, berat gabah/rumpun, berat gabah/malai, berat gabah/ petak, berat 1000 butir, pH tanah, kandungan pirit, Fe dan ketersediaan P.

Analisis Statistik

Analisis yang digunakan Anova (sidik ragam), jika terdapat pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji beda menggunakan Duncan multiple range 0,05.

commit to user

Skema alur penelitian ini seperti pada Gambar 1.



commit to user