

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2014 sampai dengan Maret 2015. Pengambilan sampel tanah dikawasan hutan Mangrove Desa Srimulyo Kecamatan Air Saleh Kabupaten Banyuasin dan analisis mikroba sampel tanah dilakukan di Laboratorium Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Tabiyah dan Keguruan Universitas Islam negeri (UIN) Raden Fatah Palembang.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cylinder crof*, autoclave, neraca analitik labu *Erlenmeyer*, mikroskop cahaya, botol kultur, spatula, tabung reaksi, cawan petri, gelas Beaker, pembakar bunsen, jarum ose, rak tabung reaksi, gelas ukur, kertas label, pH indikator, *thermometer*, *salinometer*, dan *soil tester*.

Sedangkan bahan yang digunakan adalah Sampel tanah dari tanah mangrove Desa Srimulyo Kecamatan Air Saleh Kabupaten Banyuasin, media dasar pertumbuhan bakteri (NFB semi solid) dan NA.

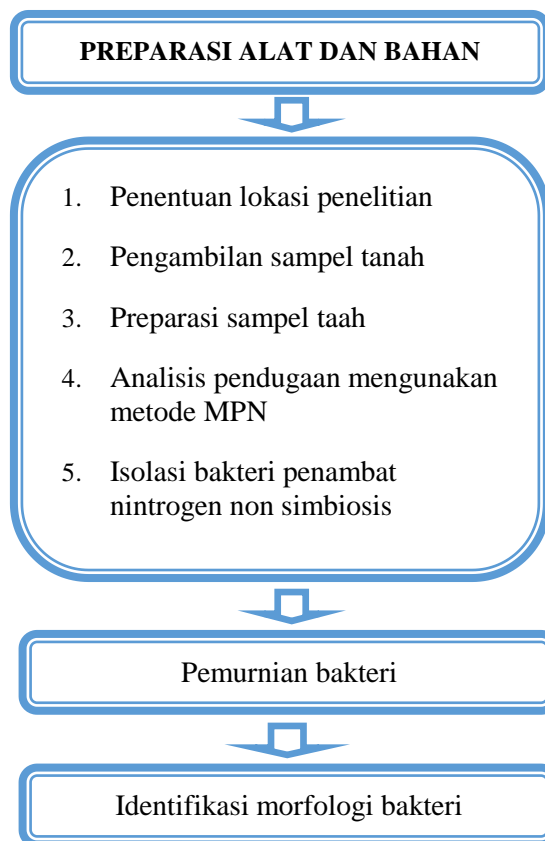
C. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif dengan pengambilan sampel menggunakan metode transek, selanjtnya analisis mikroba penambat N dengan metode MPN Modifikasi, serta pengamatan secara langsung pada mikroba yang diperoleh.

D. Prosedur Penelitian

1. Pelaksanaan

Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa rangkaian kegiatan, yaitu: 1) preparasi alat dan bahan, 2) penentuan lokasi penelitian, 3) pengambilan sampel tanah, 4) preparasi sampel tanah, 5) analisis pendugaan menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) modifikasi, 6) isolasi bakteri penambat nitrogen non simbiosis, 7) pemurnian bakteri, 8) identifikasi morfologi bakteri. Kerangka operasional penelitian ditampilkan pada gambar 2.



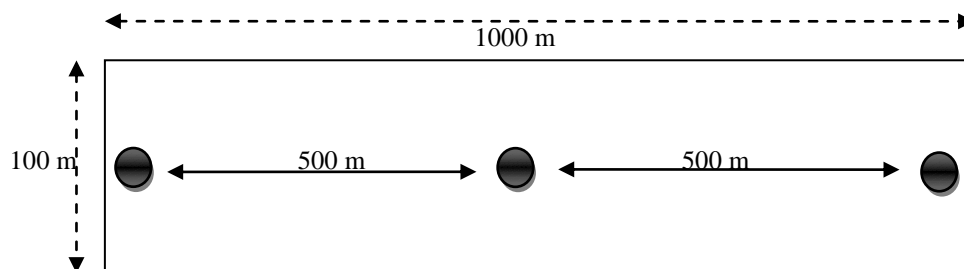
Gambar 2. Kerangka Operasional Penelitian

2. Penentuan Lokasi Penelitian

Penentuan lokasi penelitian ditentukan setelah melakukan survei lapangan. Survei dilakukan untuk mengetahui keadaan lingkungan tanah Mangrove di Desa Srimulyo Kecamatan Air Saleh Kabupaten Banyuasin.

3. Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada kawasan mangrove desa Sri Mulyo, menggunakan *cylinder corb*, dengan kedalaman 20-30 cm dari atas permukaan tanah. Lokasi pengambilan sampel tanah dengan panjang 1000 meter dan lebar 100 meter, dengan menentukan titik jalur transek sebanyak 3 titik yang berjarak 500 m setiap titik pengambilan sampel tanah. Tanah yang di ambil pada tiap titik di mabil pada bagian dekat akar tanaman mangrove dengan 3 titik pada satu bagian akar tanaman mangrove yang nantinya akan dihomogenkan sebagai sampel penelitian.



Gambar 3. Ilustrasi Lokasi Pengambilan Sampel Tanah

Keterangan: ● = Titik Pengambilan Sampel Tanah

4. Preparasi Sampel Tanah

Sampel tanah yang telah diperoleh ditimbang sebanyak 50 g dan dimasukkan ke dalam akuades steril dengan volume 450 mL sebagai pengenceran 10^{-1} . Diambil 10 mL dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam 90 mL aquades steril sebagai pengenceran 10^{-2} .

5. Analisis dengan Metode pendugaan MPN (*Most Probable Number*)

Modifikasi

Menggunakan 3 seri tabung yang terdiri dari 9 tabung reaksi yang berisi media semi solid NFB (*Nitrogen Fixing Bacteria*). 10 mL suspensi sampel tanah dari pengenceran 10^{-2} dimasukkan ke dalam tiap-tiap tabung pada seri tabung pertama, 1 mL pada seri tabung kedua, 0,1 mL pada seri tabung ketiga. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang 27° C, selama 7 hari. Selanjutnya setelah inkubasi selama 7 hari amati perubahan warna pada media, hasil yang menyatakan positif terdapat bakteri fiksasi nitrogen non simbiosis akan menunjukkan perubahan warna biru pada media.

6. Tahap isolasi bakteri penambat nitrogen non simbiosis

1 mL suspensi dari pengenceran 10^{-1} diambil dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian media NFB di masukan ke dalam cawan petri, dihomogenkan, dan diinkubasi pada suhu ruang 27° C, selama 7 hari.

7. Identifikasi bakteri

a. Identifikasi Makroskopis

Pemurnian isolat bakteri dengan cara mengambil satu ose koloni bakteri dan ditumbuhkan pada media miring *Nutrient Agar* (NA). Kemudian diinkubasi pada suhu ruang 27° C, selama 7 hari.

b. Identifikasi Mikroskopis.

Mengambil 1 ose biakan murni isolate bakteri kemudian digoreskan pada *object glass*, difiksasi di atas api Bunsen kemudian diwarnai dengan pewarnaan gram (A, B, C, D), (Lampiran 3).

E. Analisis Data

Hasil yang diperoleh nantinya akan diidentifikasi berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari bakteri penambat nitrogen non simbiosis yang ada di desa Sri Mulyo Kecamatan Air Saleh Kabupaten Banyuasin. Analisis data menggunakan metode MPN Modifikasi. Hasil yang dapat diidentifikasi sesuai dengan buku identifikasi mikroba "*Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology (Ninth edition)*" dan "*Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology (Second Edition)*".

Table 1. Uji Pendugaan Mikroba Fiksasi Nitrogen Non Simbiosis dengan Metode MPN Modifikasi

No	Sampel/Spesimen	MPN Modifikasi			Nilai MPN (Sel/g Tanah)
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
1					

Tabel 2. Isolasi Mikroba Fiksasi Nitrogen Non Simbiosis dari Tanah Kawasan Mangrove Desa Sri Mulyo

No	Sample/Spesimen	Kede Isolat	Keterangan
1			

Tabel 3. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Mikroba Fiksasi Nitrogen Non Simbiosis dari Tanah Kawasan Mangrove Desa Sri Mulyo.

No	Kode Isolat Bakteri	Karakter Makroskopis				Karakter Mikroskopis	
		Bentuk koloni	Warna koloni	Tepi	Elevasi	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
1.							
2.							
3.							
4.							
5.							