

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah metode penelitian eksperimen dengan pendekatan kuantitatif. Penelitian eksperimen digunakan untuk menguji pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain atau menguji bagaimana hubungan sebab akibat antara variabel yang satu dan variabel yang lainnya (Sukmadinata, 2008). Selanjutnya pendekatan kuantitatif menghasilkan penelitian dengan menggunakan angka, tabel, grafik, bagan, gambar atau tampilan lain dalam penafsiran data yang didapat (Arikunto, 2006).

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan Sembilan perlakuan dan tiga kali pengulangan. Penelitian ini terdiri atas satu kontrol dan delapan perlakuan yang terdiri dari 6 isolat bakteri dan 2 isolat jamur yaitu isolat bakteri 1 bergenus *Nesseria* (BN), Isolat bakteri 3 bergenus *Micrococcus* (BM), Isolat bakteri 2 dan 5 bergenus *Bacillus* (BB₂ dan BB₅), isolat bakteri 6 bergenus *Photobacterium* (BP), isolate bakteri 8 bergenus *Enterobacter* (BE), isolat jamur bergenus *Cladosporium* (JC) dan bergenus *Scopulariopsis* (JS). Banyaknya ulangan dapat ditentukan dengan rumus berikut (Hanafiah & Suhana, 2009) :

$$(r-1)(t-1) \geq 15.$$

$$(r-1)(9-1) \geq 15$$

$$(r-1)(8) \geq 15$$

$$8r - 8 \geq 15$$

$$8r \geq 23$$

$$r \geq 2,875$$

Keterangan : t = Perlakuan ; r = Ulangan

Setelah dilakukan perhitungan berdasarkan rumus di atas maka pengulangan pada penelitian ini adalah masing-masing 3 kali ulangan. Jumlah kelompok percobaan atau plot disusun pada Tabel 3.1 sebagai berikut :

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan antara tomat dan pemberian mikroorganisme probiotik

Tomat (T)	Mikroorganisme probiotik								
	BN	BM	BB ₁	BB ₂	BP	BE	JC	JS	K ₀
T ₁	T ₁ BN	T ₁ BM	T ₁ BB ₁	T ₁ BB ₂	T ₁ BP	T ₁ BA	T ₁ JC	T ₁ JS	T ₁ K ₀
T ₂	T ₂ BN	T ₂ BM	T ₂ BB ₁	T ₂ BB ₂	T ₂ BP	T ₂ BA	T ₂ JC	T ₂ JS	T ₂ K ₀
T ₃	T ₃ BN	T ₃ BM	T ₃ BB ₁	T ₃ BB ₂	T ₃ BP	T ₃ BA	T ₃ JC	T ₃ JS	T ₃ K ₀

Keterangan : BN = Bakteri *Nesseria* ; BM = Bakteri *Micrococcus* ; BB₂ = Bakteri *Bacillus* ₂ ; BB₂ = Bakteri *Bacillus* ₅ ; BP = Bakteri *Photobacterium* ; BE = Bakteri *Enterobacter* ; JC = Jamur *Cladosporium* ; JS = Jamur *Scopulariopsis* ; K₀ = Kontrol (Tanpa pemberian bakteri ataupun jamur).

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*) varietas tomat fortuna F1 yang bibitnya dibeli di toko Trubus Pasteur lalu disemai menggunakan polybag. Sampel pada penelitian ini adalah tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*) varietas tomat fortuna F1 yang diujicobakan dengan mikroorganisme bakteri dan jamur dari isolate usus larva BSF dengan konsentrasi masing masing yaitu 50mL setiap perlakuan.

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di halaman rumah dan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2021.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Tabel 3.2 Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Jumlah
1	Autoklaf	1 Unit
2	Tabung reaksi	20 unit
3	Breaker glass	1 unit
4	Gelas ukur	1 unit
5	Botol semprot	1 unit
6	Bunsen	1 unit
7	Cawan Petri	20 unit
8	Objek glass	10 unit
9	Bak pewarna	1 unit
10	Rak kawat	1 unit
11	Jarum inokulasi	2 unit
12	Mikroskop	1 unit
13	Inkubator	1 unit
14	Kertas saring	Secukupnya
15	Kertas lensa	Secukupnya
16	Labu erlenmeyer	8 unit
17	Pipet tetes	2 unit
18	Shaker	1 unit
19	Timbangan digital	1 unit
20	Hot plate	1 unit
21	Plastik diamond	1 bungkus
22	Kertas A4	Secukupnya
23	Polybag	1 bungkus
24	Label	Secukupnya
25	Kapas	1 bungkus

26	Penggaris	1 unit
27	Kamera	1 unit
28	Pensil	1 unit
29	Spidol Permanen	1 unit

Tabel 3.3 Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Bahan	Jumlah
1	Medium PDB (<i>Potato Dextrose Agar</i>)	12 gram
2	Agar	14 gram
3	Medium NA (<i>Nutrient Agar</i>)	17,25 gram
4	Pepton	9 gram
5	Dextrosa	0,25 gram
6	Dipotassium fosfat	1 gram
7	Ammonium	0,1 gram
8	K ₂ HPO ₄	0,35 gram
9	NaCl	0,75 gram
10	Magnesium	0,02 gram
11	Sodium	0,2 gram
12	Bromitol	0,001 gram
13	Beef Ekstrak	1 gram
14	Ferrous Ammonium Sulfat	0,05 gram
15	Sodium trisulfat	0,003 gram
16	Laktosa	1 gram
17	Sukrosa	1 gram
18	Glukosa	0,1 gram
19	Natiosulfat	0,01 gram
20	Fenol red	0,001 gram
21	H ₂ O ₂ 3%	10 mL
22	Reagen Kovac	10 mL

23	Alkohol 96%	200 mL
24	Larutan iodium	10 mL
25	Safranin	10 mL
26	Kristal violet	10 mL
27	Lugol	10 mL
28	Malakit hijau	10 mL
29	Minyak imersi	10 mL
30	Aquades	6 L
31	Isolat Usus BSF	1 Cawan Petri
32	Bibit tanaman tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i>) varietas fortuna F1	1 bungkus
33	Tanah	2 karung
34	Air	Secukupnya

3.6 Prosedur Penelitian

Terdapat beberapa tahapan pada penelitian ini yaitu tahap persiapan, pra penelitian, penelitian, pengukuran parameter dan analisis data.

3.6.1. Tahap Persiapan

Pada tahap persiapan ini dilakukan beberapa persiapan diantaranya :

1. Pembuatan Medium

Terdapat beberapa medium yang harus dibuat yaitu :

a. Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Sebanyak 12 gram medium PDB dilarutkan ke dalam 500 mL aquades yang sudah dicampur dengan anti biotik kloram fenikol sebanyak 0,05 g dan 7,5 g agar. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/tabung. Kemudian mulut tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan

suhu 121°C dalam tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

b. Medium *Nutrien Agar* (NA)

Sebanyak 17,25 g medium NA dilarutkan ke dalam 750 mL aquades lalu dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/tabung. Kemudian mulut tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dalam tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

c. Medium Susu Skim Agar

Sebanyak 25 g susu skim, 1,25 g pepton dan 3,75 g agar dilarutkan ke dalam 250 mL aquades. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/tabung. Mulut tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

d. Medium Gelatin

Sebanyak 12 g gelatin, 0,5 g pepton, 0,3 g *beef* ekstrak dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 8 mL/tabung. Mulut tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

e. Medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Sebanyak 0,5 g pepton, 0,5 g laktosa, 0,5 g sukrosa, 0,05 g glukosa 0,25 g NaCl, 0,01 g Ferous, 0,01 g Natisulfat, 0,001 g fenol red dan 0,6 g agar dilarutkan ke dalam 50 mL aquades. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih.

Selanjutnya masukan kedalan tabung reaksi sebanyak 5 mL/tabung. Mulut tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

f. Medium *Sulphide Indole Motility* (SIM) Agar

Sebanyak 3 g pepton, 0,3 g beef ekstrak, 0,02 g Ferous Amonium Sulfat, 0,003 g Sodium triosulfat dan 0,3 g agar dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 8 mL/tabung. Mulut tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

g. Medium Simmon's Citrate Agar

Sebanyak 0,1 g Ammonium, 0,1 g K₂HPO₄, 0,5 g NaCl, 0,02 g Magnesium, 0,2 g Sodium, 0,001 Bromitol, 1,5 g agar dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 8 mL/tabung. Mulut tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

h. Medium *Metil Red-Voges Proskauer* (MR-VP)

Sebanyak 0,35 g Pepton, 0,25 g Dextrose dan 0,25 g K₂HPO₄ dilarutkan ke dalam 50 mL aquades. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya masukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL/tabung. Mulut tabung ditutup menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Cappuccino & Welsh, 2019).

2. Persiapam Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian disiapkan. Sterilisasi alat akan dilakukan dengan cara membungkus semua alat yang akan digunakan dengan kertas dan dilipat dengan rapat yang kemudian dimasukkan ke dalam plastik diamond. Bahan yang akan digunakan (seperti medium) juga akan disterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditutup menggunakan sumbatan dan dimasukkan ke dalam plastik diamond. Sterilisasi dilakukan dengan cara memasukkan semua alat dan bahan yang sudah disiapkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Kegiatan ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

3.6.2. Tahap Prapenelitian

Pada tahap prapenelitian ini dilakukan beberapa tahap diantaranya :

1. Pengambilan dan Pemurnian Isolat Usus BSF

Isolat usus larva BSF diambil dari Balai Penelitian Sayuran Lab Bakteriologi. Biakan murni bakteri didapat dengan cara menginokulasikan bakteri yang terpisah dari kumpulan bakteri pada isolate usus larva BSF ke medium NA miring secara zig-zag dengan aseptik. Kemudian diinkubasi pada suhu ruangan atau 25°C selama 1–2x24 jam. Tahap pemurnian dapat dilakukan 2–3 kali, untuk lebih meyakinkan bahwa koloni yang terbentuk benar-benar murni. Untuk melihat morfologi, bakteri dari biakan murni diinokulasikan ke medium NA yang berada pada cawan petri dan diinkubasi selama 1–2x24 jam pada suhu ruangan atau 25°C (Cappuccino & Welsh, 2019).

Adapun pembuatan biakan murni untuk jamur didapatkan dengan cara menginokulasikan isolate usus larva BSF ke medium PDA yang berada pada cawan petri secara zig-zag dan aseptik. Kemudian diinkubasi pada suhu ruangan atau 25°C selama 5–7x24 jam. Jamur yang tumbuh lalu dimurnikan dengan cara mengambil hifa dari setiap jamur yang terlihat berbeda ke medium

PDA pada cawan petri dan diinkubasi selama 5–7x24 jam pada suhu ruangan atau 25°C (Cappuccino & Welsh, 2019).

2. Identifikasi Isolasi Murni Bakteri

Identifikasi isolat murni bakteri dilakukan dengan cara (Yulvizar, 2013) :

a. Pengamatan Morfologi Bakteri

Dilakukan pengamatan morfologi pada bakteri dengan mengamati bentuk, tepian, elevasi, warna, pada koloni, bentuk bakteri dan ada tidaknya endospora (Yulvizar, 2013).

b. Pewarnaan gram

Aquades ditetaskan di objek glass lalu ditambahkan 1 ose biakan sampel kemudian ratakan dan tunggu sampai mengering. Setelah itu objek glass di fiksasi panas sebanyak 3 kali diatas api bunsen. Teteskan Kristal violet sebanyak 2 atau 3 tetes sampai menutupi seluruh permukaan sediaan. Lalu biarkan selama 3 menit. Buang kelebihan zat warna pada objek glass. Teteskan larutan lugol dan biarkan selama 1 menit. Setelah itu masukan objek glass kedalam alcohol 96% selama 1 menit. Bilas dengan air menggunakan botol semprot lalu keringkan menggunakan kertas isap. Amati sediaan menggunakan mikroskop dengan menggunakan lensa objektif 100 kali yang sudah di tetesi minyak imersi sebelumnya (Cappuccino & Welsh, 2019).

Bewarna ungu = gram positif.

Bewarna merah = gram negatif.

c. Pewarnaan Endospora

Apusan bakteri di buat. Teteskan malakit hijau melalui kertas isap pada penangas air selama 5 menit. Apusan dan pewarna jangan sampai kering. Kelebihan warna di tetesi dengan air mengalir. Tetesi dengan safranin dan biarkan 30 detik. Kelebihan warna di tetesi dengan air mengalir. Keringkan dengan kertas isap lalu amati menggunakan mikroskop (Cappuccino & Welsh, 2019).

d. Uji Biokimia Bakteri

- Uji *Metil Red* (MR)

Satu ose isolat murni bakteri diinokulasikan pada medium MR cair secara aseptik lalu diinkubasi pada suhu ruangan atau 25°C selama 2–3x24 jam. Setelah diinkubasi berikan 5 tetes metyl red lalu dihomogenkan. Hasil positif ditandai perubahan warna menjadi merah yang menandakan bahwa mikroba tersebut menghasilkan asam (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji *Voges Proskauer* (VP)

Satu ose isolat murni bakteri diinokulasikan pada medium VP cair secara aseptik lalu diinkubasi pada suhu ruangan atau 25°C selama 2–3x24jam. Setelah diinkubasi berikan 5 tetes barrit A (5% Alpha-naftol) dan barrit B (kalium hidroksida dan air deionized) lalu dihomogenkan. Hasil positif ditandai perubahan warna menjadi merah yang menandakan adanya acetoin (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Satu ose isolat murni bakteri diinokulasikan pada medium TSIA miring secara zigzag dan kemudian diambil lagi satu ose lurus di tusuk ke medium TSIA miring secara aseptik lalu diinkubasi pada suhu ruangan atau 25°C selama 2–3x24 jam. Perubahan yang diamati setelah inkubasi adalah warna medium menjadi kuning menandakan asam, warna medium menjadi lebih merah menandakan medium menjadi basa, warna menjadi hitam menandakan terbentuknya H₂S dan bila medium terangkat menandakan bahwa mikroba tersebut mampu untuk memproduksi gas (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji Simmon's Citrate

Satu ose isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium Simmon's Citrate miring secara zig-zag dengan aseptik lalu diinkubasi pada

suhu ruangan atau 25°C selama 2–3x24 jam. Hasil positif ditandai perubahan warna menjadi biru yang artinya sitrat dimetabolisme oleh bakteri dan menghasilkan produk akhir asam karena perubahan pH indicator bromthymol blue (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji Katalase

Sebanyak satu tetes H₂O₂ diteteskan ke objek glass lalu diberi satu ose isolat murni bakteri dilakukan secara aseptik. Hasil positif ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung oksigen yang menunjukkan mikroorganisme tersebut menghasilkan enzim katalase (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji Gelatin

Satu ose isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium gelatin secara aseptik lalu diinkubasi selama 2–3x24 jam pada suhu ruangan. Setelah diinkubasi simpan di inkubator suhu 4°C selama 30 menit. Hasil positif ditandai dengan gelatin yang akan tetap berbentuk cair (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji Motil

Satu ose lurus isolat murni bakteri diinokulasikan dengan cara ditusuk ke media *Sulphide Indole Motility* (SIM) tegak secara aseptik lalu diinkubasi selama 2–3x24 jam pada suhu ruangan atau Pada suhu 25°C. Hasil positif (motil) apabila terdapat rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji Indol

Satu ose ose lurus isolat murni bakteri diinokulasikan dengan cara ditusuk ke media *Sulphide Indole Motility* (SIM) tegak secara aseptik lalu diinkubasi selama 2–3x24 jam pada suhu ruangan atau pada suhu 25°C. setelah diinkubasi tambahkan 2–3 tetes reagen

kovac. Hasil positif menunjukkan warna merah pada bagian atas tabung (Cappuccino & Welsh, 2019).

- Uji Kasein

Satu ose isolat murni bakteri diinokulasikan secara zig-zag pada medium susu skim pada cawan petri dengan aseptik lalu diinkubasi selama 2–3x24 jam pada suhu ruangan atau pada suhu 25°C. Hasil positif menunjukkan zona bening pada daerah sekitar bakteri (Cappuccino & Welsh, 2019).

3. Identifikasi Isolasi Murni Jamur

Identifikasi jamur dilakukan dengan cara (Sanjaya *et al.*, 2010):

a. Pengamatan Morfologi

Dilakukan pengamatan morfologi pada jamur dengan mengamati warna koloni, diameter koloni, bentuk konidia dan keadaan hifa yang ada atau tidak adanya sekat (Sanjaya *et al.*, 2010).

b. Pengamatan menggunakan *Slide Cluture*

Kertas saring dipotong bundar lalu disimpan didalam cawan petri. Diatas kertas saring tersebut disimpan tiga buah kayu yang dibentuk segitiga lalu direkatkan menggunakan selotip. *Objek glass* dan *cover glass* diletakan di atas kayu tersebut. Lalu tutup menggunakan cawan petri yang ukurannya lebih besar dan bungkus menggunakan kertas, masukan kedalam plastik diamond lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15–20 menit. Setelah itu masukan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang sudah dipotong kotak ukuran 1 cm disimpan diatas objek glass. Lalu jamur diinokulasikan pada setiap sudut blok medium PDA dan tutup menggunakan cover glass. Kertas saring ditetesi aquades steril. Lalu inkubasi pada suhu kamar selama 2–3 hari. Setelahnya slide dapat diamati dengan menggunakan mikroskop (Cappuccino & Welsh, 2019).

4. Peremajaan dan pemanenan isolat murni bakteri serta jamur untuk tanaman

Isolat murni bakteri yang sudah diidentifikasi diremajakan dengan cara diinokulasikan ke medium *Nutrient Agar* (NA) lalu dipanen setelah diinkubasi selama 1x24 jam karena pada waktu tersebut bakteri dimungkinkan telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial yang pada fase itu bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah sel meningkat (Nurhajati *et al.*, 2016) sedangkan, peremajaan jamur pada umumnya dilakukan dengan cara menginokulasikan jamur ke medium PDA lalu di panen setelah 5–7 hari (Pratiwi *et al.*, 2016).

Bakteri yang sudah diinkubasi selama 24 jam dan jamur yang sudah diinkubasi selama 5–7 hari pada suhu ruangan atau 25°C siap untuk dipanen. Pemanenan bakteri dan jamur dilakukan dengan cara memasukan 5 mL aquades steril kedalam cawan petri yang berisikan bakteri dan jamur lalu menggesekan objek glass dengan maksud supaya bakteri dan spora pada jamur terlepas kemudian memasukkannya kedalam tabung erlemenyer yang berisi 250 mL aquades steril yang dilakukan secara aseptik (Cappuccino & Welsh, 2019). Tabung erlemenyer yang sudah berisi panen dari bakteri dan jamur kemudian di shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 2 jam agar bakteri dan jamur homogen (Utami *et al.*, 2018).

5. Total Plate Count (TPC) pada bakteri dan jamur

Total Plate Count (TPC) pada bakteri dan jamur dilakukan dengan cara pengenceran yaitu larutan aquades yang sudah berisi panen isolat murni dari bakteri atau jamur di ambil 1 mL, lalu dimasukan kedalam 9 mL aquades steril pada tabung reaksi untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} . Tahap ini terus diulang sampai tingkat pengenceran 10^{-6} . Penanaman mikroba dilakukan dengan menggunakan metode cawan tuang yaitu suspensi hasil pengenceran dengan tingkat tertentu diambil 1 mL untuk dituangkan kedalam cawan petri lalu diberi 9 mL medium NA yang masih cair untuk bakteri dan medium PDA yang masih cair untuk jamur. Kemudian petri digoyangkan membentuk angka

delapan supaya suspensi dan media tercampur merata (Cappuccino & Welsh, 2019). Tunggu hingga menjadi padat lalu diinkubasi untuk bakteri selama 24 jam dan untuk jamur selama 3–7 hari pada suhu ruangan (Utama *et al.*, 2018). *Total Plate Count* (TPC) bakteri dan jamur dapat dihitung menggunakan rumus (Utami *et al.*, 2018) :

$$\text{Koloni per mL (cfu/mL)} = \text{Jumlah koloni} \times (1/\text{FP})$$

Keterangan : FP = Faktor Pengenceran

FP = Pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang ditumbuhkan
(volume yang dimasukkan ke dalam cawan petri 0,1mL atau 1 mL)

3.6.3. Tahap Penelitian

Pada tahap penelitian ini dilakukan dua tahap yaitu :

1. Penanaman tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*)

Benih tanaman tomat vaerietas tomat fortuna F1 direndam selama 24 jam menggunakan air. Perendaman ini dilakukan agar proses imbibisi pada benih tanaman tomat lebih cepat terjadi. Imbibisi adalah proses masuknya air kedalam benih sehingga dapat mengaktifkan enzim giberelin yang dapat memulai proses perkecambah (Wardani & Latifah, 2016). Setelah direndam benih ditanam menggunakan polybag berukuran 20x20 yang sudah diberi tanah 1000gram/polybag. Penanaman dilakukan pada sore hari agar matahari tidak terlalu terik dengan cara membuat dua lubang pada tanah yang ada di polybag lalu memasukan satu benih pada setiap lubang. Selama 48 jam polybag ditutup agar tidak terkena sinar matahari. Jika benih tanaman tomat sudah berkecambah biarkan kecambah tanaman tomat terkena sinar matahari (Sari & Murtilaksono, 2018). Penyiraman dilakukan dua kali sehari setiap pagi dan sore sampai tanaman tomat berumur 2 minggu.

2. Pemberian isolat murni bakteri dan jamur kepada tanaman tomat

Isolat bakteri murni yang sudah dipanen dan dimasukkan ke aquades steril diambil sebanyak 50 mL lalu di siramkan kepada tanaman tomat yang sudah berumur 2 minggu karena tanaman tomat sudah mampu menyerap

unsur hara yang ada pada tanah (Walid & Susylowati, 2014). Berikut kombinasi perlakuan yang dilakukan :

- a. 50 mL Bakteri dari Genus *Nesseria*
- b. 50 mL Bakteri dari Genus *Micrococcus*
- c. 50 mL Bakteri dari Genus *Bacillus* ₁
- d. 50 mL Bakteri dari Genus *Bacillus* ₂
- e. 50 mL Bakteri dari Genus *Photobacterium*
- f. 50 mL Bakteri dari Genus *Enterobacter*
- g. 50 mL Jamur dari Genus *Cladosporium*
- h. 50 mL Jamur dari Genus *Scopulariopsis*
- i. 0 mL Bakteri dan Jamur sebagai kontrol

Setelah tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*) diberi perlakuan, dilakukan pemeliharaan dengan cara penyiraman setiap hari pada pagi dan sore hari.

3.6.4. Pengukuran Parameter

Pada tahap pengukuran ini tanaman tomat di ukur pertumbuhan tinggi batang dan banyaknya daun setiap 2 kali dalam seminggu sampai tanaman tomat berumur 60 HST. Setelah itu tanaman tomat dicabut dan dilihat pertumbuhan panjang akarnya lalu dibandingkan dengan setiap perlakuan. Pengukuran tinggi tanaman dan Panjang akar dilakukan dengan menggunakan mistar. Pengukuran tinggi dimulai dari pangkal batang hingga titik tumbuh pucuk apical, pengukuran Panjang tanaman dimulai dari pangkal batang sampai ujung akar dan penghitungan jumlah daun dilakukan dengan cara menghitung setiap daun tanaman yang telah membuka dengan sempurna.

3.7 Analisis Data

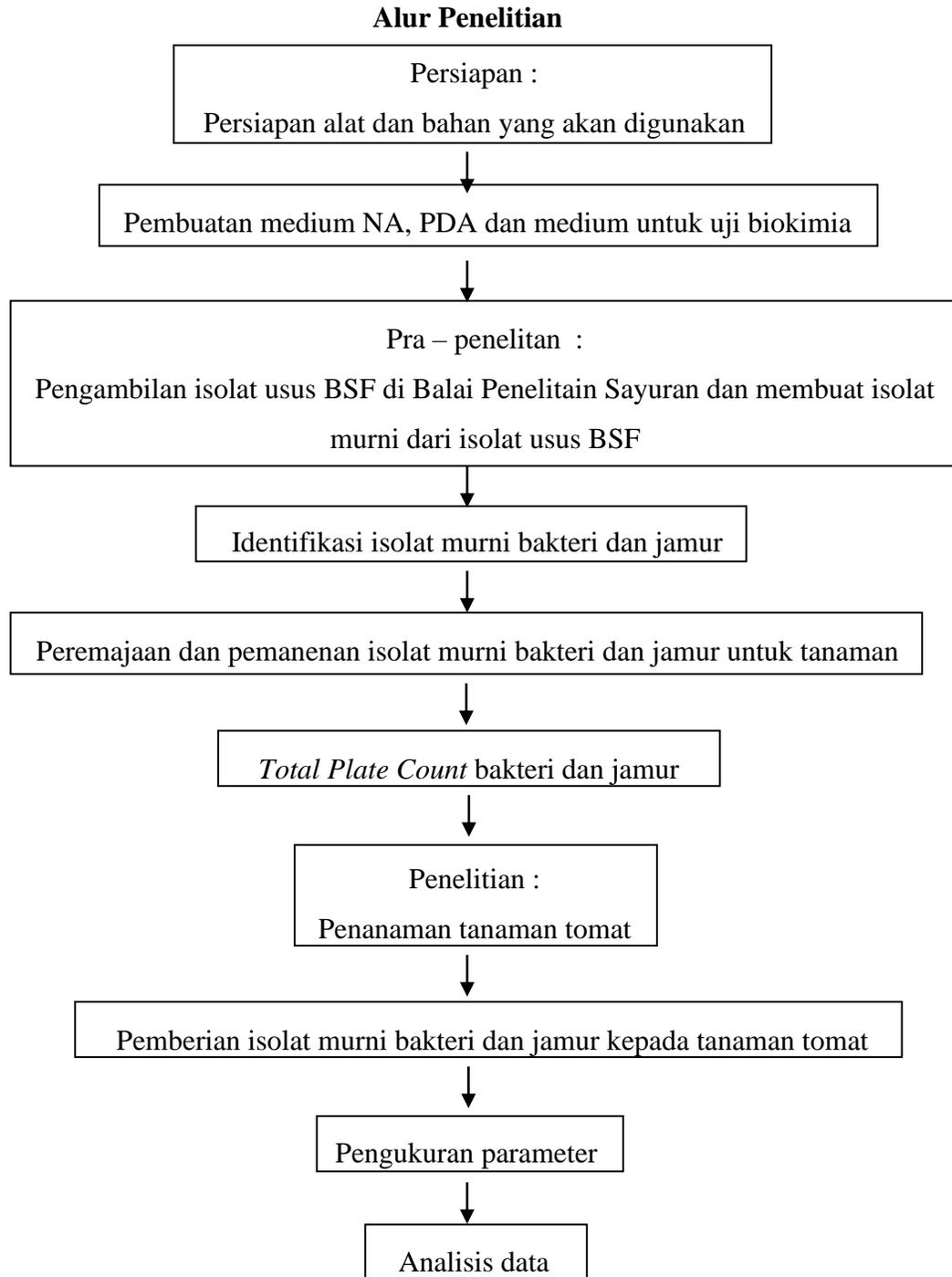
Analisis data pada penelitian ini menggunakan *Software IBM SPSS Statistics* 26. Data yang berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *Parametrik* yaitu uji *One Way Anova*. Namun jika data tidak berdistribusi normal dan homogen akan dilanjutkan dengan uji *Non Parametric*. Uji yang digunakan biasanya adalah Uji *Wilcoxon*. Setelah itu jika data sampel berdistribusi normal dan bersifat homogen dapat

Yuti Meryani Pertiwi, 2021

Pengaruh Pemberian Mikroflora Probiotik yang Berasal dari Usus Larva Black Soldier Fly (Hermetia illucens Linn.) terhadap Pertumbuhan Tanaman Tomat (Lycopersicum esculentum Mill.)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

dilanjutkan dengan uji lanjutan Anova yaitu uji *Tukey*. Uji *Tukey* ini untuk melihat apakah perbandingan konsentrasi rerata pada perlakuan berbeda atau sama secara signifikan (Rachmawatin, 2010).



Gambar 3.1 Alur Penelitian