

### **III. TATA CARA PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agrobioteknologi, Laboratorium Tanah, Laboratorium Penelitian dan *Green House* Fakultas Pertanian Universitas Muhamadiyah Yogyakarta pada bulan Desember 2017 sampai bulan Juni 2018.

#### **B. Alat dan Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan meliputi *Rhizobacteri indigenus* Merapi isolat MB dan MD (koleksi Ir. Agung Astuti, M. Si.), benih kedelai varietas Detam-1 (lampiran 1), media Luria Bertani, NaCl, alkohol, cat gram, kapas, desinfektan, arang, tanah regosol, pupuk kandang, Urea, SP-36, KCl dan pestisida Decis.

Alat yang digunakan meliputi botol timbang, timbangan analitis, oven, desikator, kain kassa, gelas piala, statis, cup, gelas kimia, pengaduk, PH stik, bunsen, gelas ukur, kompor, tabung reaksi, erlenmeyer, petridish, autoclaf, *drieglasky*, jarum ose, pinset, mikro pipet, sprayer, rak tabung, kertas payung, mikroskop dan polibag. Alat yang digunakan pada saat korban meliputi penggaris, jangka sorong, oven, amplop coklat, alat tulis, plastik, gunting, dan label.

#### **C. Metode Penelitian**

Penelitian dilakukan metode eksperimen dengan rancangan perlakuan faktorial (3 x 3) yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Faktor pertama adalah metode aplikasi inokulum yang terdiri dari 3 aras yaitu:

A: tanpa inokulum,

B: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media padat lembab pada benih, dan

C: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media cair rendam benih.

Faktor ke-2 yaitu kadar lengas yang terdiri dari 3 aras yaitu:

P: kadar lengas 40%,

Q: kadar lengas 60%, dan

R: kadar lengas 80%.

Dari kedua faktor tersebut diperoleh 9 kombinasi perlakuan yang akan diujikan, yaitu:

AP: tanpa inokulum dengan kadar lengas 40%

AQ: tanpa inokulum dengan kadar lengas 60%

AR: tanpa inokulum dengan kadar lengas 80%

BP: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media padat lembab pada benih dengan kadar lengas 40%

BQ: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media padat lembab pada benih dengan kadar lengas 60%

BR: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media padat lembab pada benih dengan kadar lengas 80%

CP: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media cair rendam benih dengan kadar lengas 40%

CQ: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media cair rendam benih dengan kadar lengas 60%

CR: aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi media cair rendam benih dengan kadar lengas 80%

Setiap kombinasi perlakuan diulang 3 kali sehingga diperoleh 27 unit percobaan. Setiap unit perlakuan terdiri dari 6 tanaman yaitu 3 tanaman sampel dan 3 tanaman korban. Sedangkan pada tanaman koreksi terdapat 20 polibag, sehingga terdapat 182 polibag. *Lay out* penelitian terlampir pada lampiran 2.

#### **D. Cara penelitian**

Dalam penelitian ini, terdiri dari beberapa tahapan, yakni pembuatan inokulum, aplikasi inokulum, penanaman dan pemeliharaan tanaman serta panen.

##### **Tahap I. Pembuatan Inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi**

Skema membuat inokulum *Rhizobacteri indigenous* Merapi dapat dilihat pada lampiran 3. Pembuatan isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi perlu dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu:

##### **1. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat dibersihkan, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas atau plastik (lampiran 13.a). Alat disterilkan pada *autoclaf* dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 30 menit (lampiran 13.b), bahan disterilisasi dengan *autoclaf* pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

##### **2. Pembuatan Media**

Media yang digunakan yaitu LBA (Luria Bertani Agar) standar, LBA 2M, LBA 2,25M, LBA 2,5M, LBA 2,75M dan LBC (Luria Bertani Cair). Komposisi media Luria Bertani terlampir pada lampiran 4. PH media LBA 6,5-7,2, setelah sesuai larutan LBA dipanaskan hingga homogen (lampiran 13.c). Larut LBC dan LBA dimasukkan masing-masing Erlenmeyer steril. Membuat LBA miring, media dimasukkan tabung reaksi diletakkan kemudian dimiringkan 30-45°. Media disterilkan menggunakan *autoclaf* pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Media *plating* menggunakan media dalam Erlenmeyer dan apabila akan digunakan, media padat dipanaskan hingga cair lalu dimasukkan petridish sesuai kebutuhan.

### **3. Peremajaan Isolat**

Dibutuhkan 2 stok isolat MB dan MD serta 4 LBA miring. Peremajaan isolat dilakukan dengan menginokulasi isolat stok MB dan MD *Rhizobacteri indigenous* Merapi (koleksi Ir. Agung Astuti M.Si.) pada LBA miring. Masing-masing diulang 2 kali, artinya setiap isolat diinokulasi pada dua LBA miring. Setelah inokulasi, inkubasi selama 48 jam (lampiran 13.d).

### **4. Screening**

*Screening* media stress 2M; 2,25M; 2,5M dan 2,75M NaCl dilakukan setelah peremajaan. *Screening* ini dilakukan dengan metode *streak plating* dan *surface plating*. Setelah tumbuh, koloni tunggal di*plating* kembali pada media standar, dan dilakukan identifikasi. Pada tahap ini didapatkan isolat MB dan MD tahan cekaman NaCl 2,75 M (lampiran 13.e).

### **5. Identifikasi dan Karakterisasi**

Identifikasi dan karakterisasi koloni isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi dilakukan dengan menginokulasi isolat MB dan MD hasil *screening* diinokulasi pada LBA dalam petridish dengan metode permukaan (*surface plating method*). Dalam inokulasi ini dilakukan tiga kali ulangan setiap isolat. Kemudian inkubasi selama 48 jam hingga didapatkan koloni tunggal. Dari koloni tunggal tersebut, diamati karakteristiknya dengan menggunakan mikroskop (lampiran 13.f). Pengamatan yang dilakukan terhadap warna, diameter, bentuk koloni, tepi, elevasi, struktur dalam koloni, sel dan sifat gram *Rhizobacteri indigenous* Merapi (lampiran 13.g).

## **6. Identifikasi Sel**

Identifikasi sel isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi (pengecatan gram) dilakukan dengan mengambil dari masing-masing isolat tunggal sebanyak 1 ose dan diinokulasi pada media LBC serta diinkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam, ambil kultur sebanyak 1 ose dan dimasukkan ke dalam aquades steril 9 ml pada tabung reaksi dan kemudian dilakukan cat gram. Cat gram diawali dengan membuat tanda pada kaca preparat untuk isolat MB dan isolat MD serta memberi lingkaran pada belakang kaca, kemudian kaca preparat disemprot alkohol dan dikeringkan di atas Bunsen. Setelah itu, tepat di tengah lingkaran yang dibuat, teteskan aquades yang telah diberi isolat. Kemudian dikeringanginkan, diberi larutan cat gram A selama 1 menit, dicuci dan dikeringkan, selanjutnya cat gram B selama 2 menit, dicuci dan dikeringkan, selanjutnya larutan cat gram C selama 30 detik, dicuci dan dikeringkan. Terakhir ditetesi cat gram D selama 2 menit, dicuci,

dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop. Hasil cat gram isolat MB dapat dilihat pada lampiran 13. h.

### **7. Pembuatan Biakan Murni**

Biakan murni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi untuk kultur stok dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat hasil identifikasi. Masing-masing isolat MB dan MD diinokulasikan pada dua LBA miring kemudian diinkubasi selama 48 jam. Hasil inkubasi masing-masing isolat di *plating* pada dua media LBA secara *surface plating method* dari pengenceran  $10^{-6}$  dan diinkubasi 48 jam. Apabila sudah seragam hasilnya, maka dianggap murni. Selanjutnya inokulasikan kultur murni pada LBC (10 ml tiap tabung reaksi) dan diinkubasi selama 48 jam. Hasil pemurnian dapat dilihat pada lampiran 13. i.

### **8. Perbanyak isolat**

Perbanyak isolat dilakukan dengan mengambil 10 ml biakan murni (lampiran 13.j) dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer steril berukuran 250 ml yang berisi 100 ml LBC untuk tiap isolat. Kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48 jam untuk pengaktifan fase *mid log* bakteri pada suhu ruangan dengan kecepatan 120 rpm. Hasil starter isolat MB dan MD dapat dilihat pada lampiran 13. k.

### **9. Uji viabilitas**

Uji viabilitas dilakukan dengan mengencerkan 1 ml sampel pada botol suntik ( $10^{-2}$ ;  $10^{-4}$ ;  $10^{-6}$ ) dan 2 tabung reaksi ( $10^{-7}$ ;  $10^{-8}$ ), sehingga didapat seri pengenceran hingga  $10^{-8}$ . Setiap 0,1 ml pada seri  $10^{-6}$ ;  $10^{-7}$ ;  $10^{-8}$

diinokulasikan dengan metode permukaan atau *surface plating method* dan setiap seri pengenceran yang diujikan diulang sebanyak 3 kali. Uji kemampuan hidup mikroba berdasarkan daya viabilitas dan jumlah koloni populasi bakteri (lampiran 13. 1). Penghitungan populasi bakteri ini dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Jumlah bakteri per mL dapat ditentukan dengan menghitung koloni yang tumbuh dari masing-masing pengenceran. Penentuan jumlah bakteri per mililiter dengan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah bakteri per ml sampel (CFU/ml)} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{faktor pengencer}}$$

Penentuan jumlah jumlah bakteri per mililiter harus memenuhi syarat, yaitu:

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30 – 300 koloni
- b. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri (*Spreader*)
- c. Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika  $\leq 2$  maka hasilnya dirata-rata, dan jika  $\geq 2$  maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya
- d. Jika dengan ulangan setelah memenuhi syarat hasilnya dirata-rata (Agung\_Astuti dkk, 2014).

## **Tahap II. Persiapan Media Tanam dan Aplikasi Inokulum Padat dan Cair pada Benih**

### **1. Persiapan Media Tanam**

Uji di lapangan menggunakan tanah Regosol dari Lahan Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Muhamadiyah Yogyakarta. Tanah yang digunakan dikering-anginkan selama 1 minggu (lampiran 13.m), kemudian tanah

dimasukkan dalam polybag sebanyak 9 kg (lampiran 13.n). perhitungan kebutuhan media tanam per polybag dapat dilihat pada lampiran 5.

## 2. Uji Daya Kecambah

Uji daya kecambah dilakukan untuk mengetahui potensi benih yang bisa berkecambah dari suatu kelompok atau satuan berat benih. Pengujian dilakukan dengan mengambil 25 biji kedelai secara acak kemudian benih disemai pada *petridish* yang sudah diberi kertas saring yang telah dibasahi (lampiran 13.o). Pengujian daya kecambah diulang sebanyak 4 kali. Kemudian dihitung jumlah benih yang berkecambah, rumus daya kecambah:

$$DB = (JBK/JBT) \times 100\%$$

Keterangan:

DB= persentase biji berkecambah

JBK= jumlah biji berkecambah

JBT= jumlah biji yang ditabut (100 biji)

Dari hasil uji perkecambahan didapatkan daya berkecambah kedelai varietas Detam-1 sebesar 87%. Daya kecambah lebih dari 80% dapat digunakan dalam penelitian ini.

## 3. Aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenus* Merapi dalam media padat lembab pada benih

Starter Campuran Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi di aplikasi pada benih kedelai dalam media padat berupa arang sekam dengan perbandingan benih: arang sekam: suspensi bakteri adalah 9: 6: 7 (b/b/v) (lampiran 13.p). perhitungan kebutuhan inokulum, benih dan arang sekam terdapat pada lampiran 6. Tata cara pemberian adalah sebanyak 16,67 gram arang sekam disterilisasi dengan autoclave pada tekanan 1 atm suhu 121°C selama 15 menit dan dilakukan sebanyak 2 kali. Benih yang ditimbang sebanyak 25 gram dan *Rhizobacteri*



*indigenus* Merapi MB+MD yang telah distarter diambil sebanyak 19,4 ml. Kemudian mencampurkan benih beserta arang sekam dan bakteri. Penghitungan kebutuhan *inokulum padat Rhizobacteri indigenus* Merapi dapat dilihat pada lampiran 10. Benih yang telah mendapat perlakuan diletakkan pada suhu kamar selama 12 jam, kemudian benih siap ditanam.

#### **4. Aplikasi inokulum *Rhizobacteri indigenus* Merapi media cair rendam benih**

Inokulum dari formula cair *Rhizobacteri indigenus* Merapi diaplikasikan pada benih kedelai dengan cara uji pendahuluan dengan menggunakan aquades. Sejumlah benih yang dibutuhkan disiapkan di dalam Erlenmeyer, kemudian diisi dengan air. Air yang diberikan merupakan takaran yang dibutuhkan. Kebutuhan air yang digunakan sebanyak 30 ml, sehingga isolat MB diberikan sebanyak 15 ml (14,5 ml stater+0,5 ml aquades) dan MD sebanyak 15 ml (1,3 ml starter+ 13,7 ml aquades). Pemberian starter ditentukan dari hasil uji viabilitas bakteri. Setelah mengetahui volume yang diberikan maka selanjutnya dapat pengaplikasian. Benih direndam selama selama 1 jam sambil dilakukan penggojogan agar terjadi kontak antara benih dengan bakteri (lampiran 13.q), kemudian ditiriskan atau diangin-anginkan di tempat teduh hingga kering dan terhindar sinar matahari, kemudian benih ditanam. Benih yang sudah diaplikasikan inokulum dapat dilihat pada lampiran 13.r.

### **Tahap III. Penanaman dan pemeliharaan tanaman**

#### **1. Penetapan Kadar lengas**

Penetapan kadar lengas kering udara (KL-KU) dengan cara menimbang botol timbang kosong beserta tutupnya (a gram), kemudian memasukkan tanah

kering udara ke dalam botol timbang (separuh volume botol) dan ditimbang beratnya (b gram). Botol timbang dimasukan ke dalam oven pada suhu 105-110°C selama minimal 4 jam berturut-turut dengan tutup botol timbang terbuka. Setelah itu, botol timbang dan isinya dimasukan ke dalam desikator, setelah dingin ( $\pm 10$  menit) botol timbang ditutup dan ditimbang (c gram).

Penetapan kadar lengas kapasitas lapang (KL-KL) dengan cara mengambil sampel tanah secukupnya kemudian dibungkus menggunakan kain kassa. Bungkus sampel tanah tersebut dicelupkan ke dalam gelas piala yang berisi air selama  $\pm 30$  menit atau sampai tidak ada gelembung udara yang keluar (lampiran 13.s). Kemudian bungkus sampel tanah ditiriskan dengan cara digantung pada statis ( $\pm 24$  jam) (lampiran 13.t). Sampel tanah yang sudah ditiriskan diambil pada bagian tengahnya dan dimasukan ke dalam botol timbang yang sebelumnya sudah ditimbang (a gram) kira-kira separuh botol timbang, kemudian ditimbang (b gram). Dengan tutup terbuka, botol timbang tersebut dimasukan ke dalam oven pada suhu 105-110°C selama minimal 4 jam berturut-turut. Botol timbang dan isinya dimasukan ke dalam desikator ( $\pm 10$  menit), botol timbang ditutup kemudian ditimbang (c gram). Perhitungan kadar lengas, yaitu:

$$\text{Kadar lengas} = \frac{b-c}{c-a} \times 100\%$$

Keterangan:

Ka: kadar lengas

a: berat cawan kosong

b: berat cawan + sampel tanah

c: berat cawan + sampel tanah setelah dioven

Setelah didapatkan data KL-KU dan KL-KL (lampiran 7), maka menghitung volume air yang harus ditambah (100% kapasitas lapang) dengan rumus:

100% kapasitas lapang = 100% x KL-KL

Tambahan air yang diperlukan (g) = 100% kapasitas lapang – KL-KU

Tambahan air yang diperlukan (ml) =  $\frac{\text{tambahan air yang diperlukan}}{1\text{gram/cm}^3}$

Berat polibag pada saat kapasitas lapang (kg) = berat tanah dalam polibag + tambahan air yang diperlukan (g)

Perhitungan tersebut dapat digunakan untuk menghitung kadar lengas 80%; 60%; dan 40% sebagai perlakuan. Penyiraman dilakukan dengan cara mengambil polibag, kemudian ditimbang dan menghitung volume air yang diberikan untuk mencapai berat polibag sesuai perlakuan (lampiran 9).

## 2. Penanaman

Benih yang telah diberi perlakuan ditanam dalam polybag sebanyak 3 biji/lubang tanam dengan kedalaman lubang tanam 2-3 cm (lampiran 13.u). Total kebutuhan benih dapat dilihat pada lampiran 9. Kemudian, ditutup dengan tanah.

## 3. Pemeliharaan

### a. Penyiraman

Pada awal pertumbuhan (0-7 hari setelah tanam), penyiraman dilakukan dengan volume air dipertahankan pada kadar lengas 100% air tersedia. Hari berikutnya sampai hari ke 7, penambahan air menggunakan metode gravimetri yaitu menambahkan air sesuai dengan pengurangan bobot per polibag. Penyiraman selanjutnya dilakukan sesuai perlakuan yaitu kadar lengas 40% (P), kadar lengas 60% (Q) dan kadar lengas 80% (R). Penyiraman dilakukan 2 hari sekali pada sore hari dengan cara menimbang 2 sampel tanaman setiap unit kemudian dirata-rata untuk mengetahui bobot polibag. Setiap 4 hari sekali, satu tanaman ditimbang bobot segarnya sebagai faktor koreksi. Penambahan air yang diberikan

dapat dihitung dengan cara bobot polibag yang harus dipertahankan ditambah bobot tanaman koreksi dikurangi bobot polibag (tertimbang).

#### **b. Pemupukan**

Pemberian pupuk dasar yang diberikan pada saat tanaman kedelai yaitu pupuk kandang sebanyak 70 gram. Pupuk susulan berupa Urea, SP-36 dan KCl umur 7hst masing-masing setengah dosis, sedangkan setengah dosis lagi diberikan 30 hst. Dosis tersebut yaitu Urea 0,11 g; SP-36 0,15 g; dan KCl 0,14 g dengan cara *ring placement*. Kebutuhan pupuk per polybag dapat dilihat pada lampiran 10.

#### **c. Penyiangan**

Penyiangan dilakukan dengan cara mencabut gulma yang tumbuh di sekitar tanaman kedelai.

#### **d. Pengendalian Hama**

Serangan hama pada tanaman kedelai Detam-1 yang ada di lapangan diantaranya, yaitu:

##### **1) Kutu Aphis (*Aphis glycine*)**

Kutu ini berwarna hijau hingga hitam dengan panjang 1-1,5 mm (lampiran 13.v). Larvanya menyerang daun dan kuncup tunas dengan menghisap cairan tanaman menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat. Pengendalian secara kimia menggunakan insektisida Decis konsentrasi 0,5ml/l air.

##### **2) Ulat Grayak (*Prodenia litura*)**

Larva muda ulat grayak bergerombol memakan daun, sedangkan larva tua memakan seluruh bagian daun muda, menyerang bunga dan polong muda (lampiran 13.w). Pengendalian secara mekanis dilakukan dengan cara pengambilan ulat, sedangkan pengendalian secara kimia menggunakan insektisida Decis konsentrasi 1 ml/ l air.

### 3) Penghisap polong (*Riptortus linearis* dan *Nezera viridula*)

Hama ini mulai menyerang sejak pembentukan bunga sampai panen dan menyebabkan biji dan polong kempis gugur biji berwarna kehitaman dan polong menjadi hampa (lampiran 13.x). Pengendalian dilakukan secara mekanis dengan penangkapan hama, sedangkan secara kimia menggunakan insektisida Decis konsentrasi 1 ml/l air.

## E. Variabel Pengamatan

Dalam penelitian ini variabel pengamatan meliputi pertumbuhan bakteri, pertumbuhan vegetatif dan generatif. Pengamatan parameter pertumbuhan dan hasil tanaman diamati dari minggu pertama hingga minggu ke-9 setelah tanam.

### 1. Dinamika Populasi Bakteri

Pengamatan dilakukan dengan cara membuat suspensi rhizosfer tanaman dengan aquades, diencerkan pada botol suntik ( $10^{-2}$ ;  $10^{-4}$ ;  $10^{-6}$ ) dan 2 tabung reaksi ( $10^{-7}$ ;  $10^{-8}$ ). Setiap 0,1 ml pada seri  $10^{-6}$ ;  $10^{-7}$ ;  $10^{-8}$  diinokulasikan dengan metode permukaan atau *surface plating method* dan setiap seri pengenceran yang diujikan ( $10^{-7}$ ;  $10^{-8}$ ;  $10^{-9}$ ) dengan seri pengenceran  $10^{-7}$ ;  $10^{-8}$ ;  $10^{-9}$  sebanyak 3 kali ulangan (lampiran 13.y). Dinamika *Rhizobacteri*

*indigenus* Merapi didasarkan pada populasi koloni bakteri dengan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*), dengan syarat:

- i. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30 – 300 koloni
- ii. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri (*Spreader*)
- iii. Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya. Jika  $\leq 2$  maka hasilnya dirata-rata, dan jika  $\leq 2$  maka yang dipakai adalah jumlah koloni dari hasil pengenceran sebelumnya
- iv. Jika dengan ulangan setelah memenuhi syarat hasilnya dirata-rata (Agung\_Astuti dkk., 2014).

## **2. Pengamatan Nodul Akar Tanaman Kedelai Detam-1**

### **a. Jumlah Nodul Akar Total**

Jumlah nodul akar dihitung manual setelah tanaman dicabut, akar dibersihkan lalu dihitung jumlah nodul seluruhnya, baik efektif maupun tidak.

### **b. Bobot Nodul (gram)**

Setelah nodul dihitung, maka nodul ditimbang dengan timbangan analitik. Hasil timbangan dinyatakan dengan satuan gram.

### **c. Diameter Nodul Akar (mm)**

Pengamatan ini dilakukan dengan cara mengukur diameter nodul akar dengan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan mm. Caranya 10 nodul

diambil secara acak, lalu diukur dengan menggunakan jangka sorong (lampiran 13.z).

#### d. Persentase Keefektifan Nodul (%)

Cara mengetahui keefektifan nodul akar kedelai yaitu dengan mengambil 20 nodul secara acak, lalu dipotong dengan cutter, dan diamati warna nodul. Bila berwarna merah berarti efektif, dan bila berwarna hitam tidak efektif. Pengamatan dilakukan 3 kali ulangan. Persentase nodul efektif dihitung dengan menggunakan rumus, yaitu:

$$\text{Persentase keefektifan nodul (\%)} = \frac{\text{Jumlah nodul efektif}}{\text{Jumlah nodul yang diamati}} \times 100\%$$

### 3. Pertumbuhan Perakaran Tanaman Kedelai Detam-1

#### a. Proliferasi Akar

Pengamatan ini bertujuan untuk mengamati percabangan perakaran tanaman kedelai. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam.

Tabel 1. Skoring Proliferasi Akar Kedelai Detam-1

Skoring	Keterangan
++++	memiliki percabangan rumit serta banyak akar horizontal dan vertikal
+++	memiliki percabangan akar banyak
++	memiliki percabangan sedang
+	memiliki percabangan akar sedikit
-	tidak memiliki percabangan

#### b. Panjang Akar (cm)

Pengukuran panjang akar tanaman menggunakan penggaris dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang dan hasilnya dinyatakan dalam satuan cm. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per

perlakuan pada minggu ke-3 (lampiran 13.aa), ke-6 lampiran 13.bb) dan ke-9 (lampiran 13.cc) setelah tanam.

**c. Bobot Segar Akar (gram)**

Pengamatan bobot segar akar dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban, kemudian potong bagian pangkal batang dan menimbang bagian akar yang telah dibersihkan. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam.

**d. Kering Akar (gram)**

Setelah penimbangan bobot segar, akar dikering anginkan selama 24 jam kemudian dioven dengan temperatur 60 °C hingga bobotnya konstan. Pengamatan bobot kering akar dilakukan dengan menimbang akar yang telah dioven dengan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam.

**4. Pertumbuhan Tajuk Tanaman Kedelai Detam-1**

**a. Tinggi Tanaman (cm)**

Tinggi tanaman sampel diukur dari permukaan tanah sampai dengan titik tumbuh tanaman. Alat yang digunakan adalah penggaris atau meteran dengan satuan cm. Pengamatan dilakukan setiap minggu hingga masa vegetatif maksimal dimulai satu minggu setelah tanam. Tinggi tanaman minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 (lampiran 13.aa, 13.dd, 13.ee). Penampakan tanaman umur 10 minggu lampiran 13.ff.



**b. Jumlah Daun**

Jumlah daun dihitung untuk menentukan tingkat kemampuan tanaman untuk berfotosintesis. Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali hingga masa vegetatif maksimal dimulai satu minggu setelah tanam. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam.

**c. Luas Daun (cm<sup>2</sup>)**

Luas daun diukur dengan menggunakan LAM (*Leaf Area Meter*). Daun yang akan diukur, dipotong terlebih dahulu, lalu diukur menggunakan LAM dan dinyatakan dalam satuan cm<sup>2</sup>. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam (lampiran 13.gg).

**d. Bobot Segar Tajuk (gram)**

Pengamatan bobot segar tajuk dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban, kemudian potong bagian pangkal batang dan menimbang bagian tajuk. Pengamatan dilakukan pada satu tanaman korban per perlakuan pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam.

**e. Kering Tajuk (gram)**

Setelah penimbangan bobot segar, tajuk dikering anginkan selama 24 jam kemudian dibungkus dengan amplop coklat kemudian dioven dengan temperatur 60°C hingga bobotnya konstan. Pengamatan dilakukan dengan menimbang tajuk yang telah kering oven dengan

timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram pada minggu ke-3, ke-6 dan ke-9 setelah tanam.

## **5. Pengamatan Hasil Tanaman Kedelai Detam-1**

### **a. Umur Berbunga (hst)**

Dalam menentukan umur berbunga dilakukan saat kedelai mulai mengalami pembungaan per tanaman dan dinyatakan dalam satuan hst (hari setelah tanam).

### **b. Jumlah Polong**

Polong dihitung jumlahnya per tanaman per perlakuan. Pengamatan dilakukan setelah panen.

### **c. Bobot Kering Polong (gram)**

Polong dijemur hingga kadar air tertentu. Pengamatan bobot kering polong dilakukan dengan menimbang polong yang telah dijemur. Pengamatan dilakukan ketika setelah panen (lampiran 13.hh).

### **d. Bobot Biji per Tanaman (gram)**

Bobot biji diamati dengan memisahkan biji dengan polong kering terlebih dahulu, kemudian menimbang biji tanaman sampel tiap unit dinyatakan dalam satuan gram dan dilakukan pengukuran kadar airnya. Bobot biji dikonversi pada kadar air 10% dengan menggunakan rumus, yaitu:

$$\text{Bobot biji (g)} = \frac{(100 - Ka)}{100 - 10\%} \times C$$

Keterangan:

C: bobot biji per tanaman (g)

Ka: kadar air biji terukur

**e. Bobot 100 Biji (gram)**

Pengamatan bobot 100 biji dilakukan dengan menimbang 100 biji (lampiran 13.ii) kering matahari dari setiap sampel tanaman yang telah diketahui kadar airnya. Kemudian bobot dikonversikan pada kadar air 10% dengan rumus:

$$a = \frac{(100 - Ka)}{100 - 10\%} \times b$$

Keterangan:

a : bobot 100 biji pada kadar air 10%

b : bobot 100 biji pada kadar air terukur

Ka : kadar air terukur

**f. Hasil (ton/h)**

Pengamatan ini dilakukan dengan mengkonversikan hasil bobot biji pertanaman pada kadar air 10% pada ton/h dengan rumus :

$$H = \frac{A}{B} \times C$$

Keterangan:

H : hasil kedelai/ha pada kadar air 10% (ton/h)

A : luas lahan dalam satuan ha (10.000 m<sup>2</sup>)

B : jarak tanam (m<sup>2</sup>)

C : bobot biji per tanaman pada kadar air 10% (kg)

**F. Analisis Data**

Data kuantitatif yang diperoleh, kemudian dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (anova) dengan taraf nyata 5 % apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.