

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di lahan percobaan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Maret 2018 sampai bulan Juni 2018.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah pisau/golok untuk memotong akar bambu, baskom untuk merendam akar, gelas ukur dan timbangan untuk menakar bahan, polybag (diameter 20cm) untuk menanam benih kedelai, penggaris untuk mengukur tinggi tanaman, dan alat tulis untuk mencatat data pertumbuhan tanaman, cangkul, cawan petri, gelas beker, gembor, gelas erlenmeyer, botol bekas, selang plastik, bunsen, *drigalsky*, *leaf area meter*, termometer, pH meter, *Munsellcolor chart* dan *autoclave*.

Bahan yang diperlukan yaitu 100 g akar bambu, 400 g gula pasir, 200 g terasi, 1 kg dedak halus, 10 L air, 1 sachet penyedap rasa, benih kedelai Demas 1, Urea, SP-36, KCl, pupuk kandang, media *Luria Bertani* (LB), cat gam A, B, C, D, air, tanah Regosol 5,8 kg/polybag.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimen faktor tunggal yaitu konsentrasi dan lama perendaman dengan 6 perlakuan yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu:

- A. Konsentrasi 3 ml/L air dengan waktu perendaman benih 1 jam.

- B. Konsentrasi 3 ml/L air dengan waktu perendaman benih 6 jam.
- C. Konsentrasi 3 ml/L air dengan waktu perendaman benih 12 jam.
- D. Konsentrasi 6 ml/L air dengan waktu perendaman benih 1 jam.
- E. Konsentrasi 6 ml/L air dengan waktu perendaman benih 6 jam.
- F. Konsentrasi 6 ml/L air dengan waktu perendaman benih 12 jam.

Tiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan, dengan demikian diperoleh 18 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdapat 3 tanaman sampel, dan 3 tanaman korban. *Layout* unit percobaan dapat dilihat pada lampiran 1.

D. Cara Penelitian

1. Uji benih kedelai

Benih kedelai *Glycine max L.* Varietas Demas 1 didapat dari Balitkabi dan dilakukan pengujian viabilitas dan indeks vigornya. Pengujian dilakukan dengan menggunakan kertas sebanyak 4 lembar yang dibasahi dan diletakkan dalam petri dish. Setelah itu diletakkan sebanyak 50 biji kedelai di atas kertas tersebut yang diulang sebanyak 3 kali dan diamati benih yang berkecambah normal (Lampiran 6.1).

Perhitungan daya kecambah benih adalah sebagai berikut:

$$DB = \frac{\Sigma \text{benih berkecambah normal}}{\Sigma \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Perhitungan indeks vigor menggunakan rumus:

$$IV = \frac{A_1}{T_1} + \frac{A_2}{T_2} + \dots + n$$

Keterangan: An= jumlah benih yang berkecambah

Tn= waktu yang bersangkutan

Hasil uji terhadap daya kecambah benih kedelai Demas menunjukkan hasil

sebesar 98%. Hasil uji indeks vigor menunjukkan nilai indeks vigor sebesar 18,83. Berdasarkan pengujian daya berkecambah, benih dapat digunakan sebagai bahan tanam karena lebih tinggi dari standard DB benih yaitu 91%.

2. Pembuatan MOL Akar Bambu

MOL akar bambu dibuat dengan memotong akar bambu sebanyak 100 gram dan dilarutkan dalam 1 liter steril (air masak) selama 4 hari dan disaring. Kemudian dibuat larutan nutrisi dengan komposisi 400 gram gula pasir, 4 gelas dedak halus, 10 liter air bersih, terasi sebesar ibu jari, 5 liter biang (bibit) PGPR (Melissa, 2014). Hasil saringan kemudian dicampur dengan larutan nutrisi dalam wadah tertutup dan disambungkan dengan selang ke botol kosong (lampiran 6.o). Larutan ini kemudian disimpan selama 14 hari. Setelah itu, dilakukan pengujian terhadap warna, aroma, suhu, kadar keasaman (pH), kekentalan, kelarutan (TDS) dan *plate count*. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui bahwa MOL sudah jadi dan sesuai kriteria SNI. MOL akar bambu dapat dinyatakan berhasil jika terdapat gelembung di permukaan MOL dan beraroma seperti tapai (Ashifa, 2017).

4. Isolasi Bakteri

Tahap tahap isolasi bakteri sebagai berikut:

a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang berbahan gelas/kaca direndam dengan air yang dicampur dengan detergen kemudian direbus selama 10 menit, kemudian dibilas sampai bersih, dibungkus dengan plastik kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121⁰C pada tekanan 1 atm selama 30 menit.

b. Pembuatan media

Media yang digunakan yaitu media Luria Bertani Agar (LBA) dan Luria Bertani Cair (LBC). Bahan-bahan untuk media LBC yaitu Yeast ekstrak, Trypton dan NaCl ditimbang dan dicampurkan jadi satu, kemudian dilarutkan dalam aquades, diaduk hingga homogen. Kadar keasaman larutan disesuaikan pH 6-7, setelah sesuai maka larutan dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas dan ditutup kertas payung. Sisa larutan dijadikan media LBA dengan menambahkan agar kemudian dihomogenkan lalu dipanaskan hingga larutan terlihat bening. Media dimasukkan dalam erlenmeyer dan tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas dan ditutup kertas payung. Semua media dilakukan proses sterilisasi menggunakan *autoclave* dengan temperatur 121⁰C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

c. Isolasi Rhizobakteri

Isolasi rhizobakteri dilakukan dengan memotong akar bambu sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril, kemudian dicampur hingga homogen. Sebanyak 1 ml dari ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril, kemudian dikocok hingga homogen dan 1 ml dipindahkan ke tabung berikutnya, dan seterusnya hingga terjadi seri pengenceran 10¹-10⁴. Hasil suspensi diisolasikan pada media LBA dengan mengambil isolat sebanyak 0,1 ml ekstrak dari seri pengenceran 10⁻³ dan 10⁻⁴ dimasukkan ke dalam petridish steril yang telah diisi media LBA dan kemudian disebar merata dalam petridish. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam, kemudian dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

3. Karakterisasi Rhizobakteri Akar Bambu

Karakterisasi dilakukan terhadap bentuk koloni dan sifat gam.

a. Karakterisasi Koloni

Karakterisasi koloni Rhizobakteri dilakukan dengan metode *surface plating* pada medium LB+NaCl (Astuti, 2016). Pengamatan dilakukan terhadap bentuk koloni, elevasi, bentuk tepi, struktur dalam, ukuran dan warna (Lampiran 6.b). Pengamatan dilakukan dengan cara mengambil 1 ose larutan Rhizobakteri dan disurface pada media LB. Setelah 24 jam, dihitung bakteri yang tumbuh kecuali *spreader* dengan cara *plate count*

b. Sifat gram

Pengamatan bentuk sel dan sifat gram dengan cara mengambil 1 ose suspensi yang diletakkan di atas preparat dan dipanaskan di bunsen hingga kering. Setelah dingin ditetesi dengan cat gram A sebanyak 2-3 tetes dan diamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir kemudian kering anginkan. Selanjutnya menetesi dengan larutan cat gram B dan biarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir kemudian kering anginkan. Menetesi dengan larutan peluntur atau etanol (gram C) selama 30 detik, dicuci dengan air kemudian kering anginkan kemudian ditetesi dengan larutan penutup (gram D) selama 2 menit, cuci dengan air kemudian kering anginkan. Setelah ini mengamati preparat dengan mikroskop apabila bakteri gram positif berwarna violet (ungu) dan gram negatif berwarna merah.

4. Persiapan Media Tanam

Tanah Regosol dibersihkan, kemudian diayak dan ditimbang. Polybag diisi dengan tanah dan pupuk kandang sebanyak 32,30 g/polybag (lampiran 2.a). Setelah itu diaduk supaya tercampur dan disiram air hingga lembab (mencapai kapasitas lapang).

5. Perendaman benih

Benih direndam sesuai dengan perlakuan. Larutan Rhizobakteri yang sudah jadi kemudian dicampur dalam air hingga dihasilkan larutan Rhizobakteri dengan konsentrasi 3ml/L dan 6ml/L. Benih direndam dengan variasi waktu sesuai perlakuan, yaitu selama 1 jam, 6 jam, dan 12 jam. Setelah diberi perlakuan, benih kemudian dikering-anginkan.

6. Penanaman

Benih kedelai yang sudah diberi perlakuan kemudian ditanam dengan jumlah benih setiap polybag diisi 2 benih. Benih ditanam dengan jarak tanam menyesuaikan diameter polybag sehingga tidak terjadi persaingan serapan hara. Susunan polybag dapat dilihat pada lampiran 1.

7. Pemeliharaan

a. Penyiangan dan Penyulaman

Penyiangan dilakukan untuk mengendalikan gulma yang tumbuh di sekitar tanaman dan tidak terjadi persaingan hara. Penyiangan dilakukan 2 hari sekali. Penyulaman dilakukan untuk mengganti benih yang tidak tumbuh, penyulaman dilakukan maksimal 7 hari setelah tanam.

b. Penyiraman

Tanaman kedelai sangat memerlukan air saat perkecambahan (0 – 5 hari setelah tanam), stadium awal vegetatif (15 – 20 hari), masa pembungaan dan pembentukan biji (35 – 65 hari). Penyiraman dilakukan 2 hari sekali pada pagi atau sore hari untuk menjaga kondisi tanah lembab, tidak becek dan tidak kering. Penyiraman menggunakan alat penyiram supaya air dapat tersiram merata.

c. Pemupukan

Pemupukan susulan dilakukan 2 kali yakni pada saat umur 1 dan 2 minggu setelah tanam dengan cara *placement*. Pupuk yang diberikan yaitu pupuk Urea dengan dosis 50kg/Ha, SP36 150kg/ha, KCl 75 Kg/ha. Pupuk dasar yaitu pupuk kandang 14 ton/ha (lampiran 2).

Tabel 2. Pemupukan

Jenis Pupuk	Pupuk Dasar	Pupuk susulan 1 (1 MST)	Pupuk susulan 2 (2 MST)
Urea		0,11 g	0,11 g
SP36		0,34 g	0,34 g
KCL		0,17 g	0,17 g
Pupuk Kandang	32,30 g		

d. Pengendalian OPT

1) Hama Belalang

Hama : Bertubuh sedang, berkulit coklat bergaris dan berbintik.

Gejala : serangga memakan daun, bunga, pucuk, polong muda.

Pengendalian: penyemprotan dengan Curacron (1-2ml/L air).

2) kutu Daun (Aphids)

Kutu daun menyerang tanaman dengan cara menghisap cairan daun dan menyebabkan daun tanaman menjadi keriting. Serangan kutu daun mengakibatkan tanaman tumbuh kerdil dan menurunkan produktifitas. Pengendalian menggunakan pestisida Curacron (1-2ml/L air).

8. Panen

Kedelai dipanen setelah sebagian besar daun sudah menguning, buah mulai berubah warna dari hijau menjadi kuning kecoklatan, atau polong sudah kelihatan tua, batang berwarna kuning agak coklat. Kedelai yang ditanam di lahan dipanen pada saat polong kering (90 hst).

E. Variabel yang diamati

1. Perkembangan Rhizobakteri (cfu/ml)

Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri diamati pada awal sebelum penanaman dan minggu ke-3 setelah tanam. Pengamatan meliputi penghitungan bakteri dengan metode *plate count* dan identifikasi koloni.

2. Akar

a) Panjang akar

Pengamatan menggunakan penggaris dan diukur dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-3,6, dan 9 pada tanaman korban.

b) Bobot segar dan kering akar

Pengamatan bobot segar akar dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban minggu ke-3, 6 dan 9, kemudian potong bagian pangkal batang dan menimbang bagian akar yang telah dibersihkan (lampiran 6l). Selanjutnya

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 kering oven dengan menggunakan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram(g).

c) Nodulasi akar

Pengamatan nodulasi akar dilakukan pada minggu ke-3 setelah tanam. Pengamatan yang dilakukan meliputi, jumlah nodul, berat nodul, diameter, dan presentase keefektifan nodul

i. Jumlah Nodul

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

ii. Berat Nodul (g)

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

iii. Presentase Keefektifan nodul (%)

Perhitungan presentase keefektifan nodul dilakukan dengan cara membelah nodul yang diamati menjadi 2 bagian dan menghitung jumlah nodul efektif. Nodul efektif ditandai dengan warna merah pada bagian dalamnya. Setelah itu dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah nodul efektif}}{\text{Jumlah nodul yang diamati}} \times 100\%$$

iv. Diameter Nodul

Pengamatan diameter nodul dilakukan dengan cara mengukur nodul pada akar menggunakan jangka sorong.

3. Tajuk

a) Tinggi Tanaman (cm)

Pengamatan terhadap tinggi tanaman dilakukan satu minggu sekali dari minggu satu minggu setelah tanam hingga masa vegetatif maksimal (minggu ke-6). Pengukuran dilakukan menggunakan penggaris dengan satuan sentimeter (cm). Tinggi tanaman diukur dari permukaan tanah hingga titik tumbuh.

b) Jumlah daun (helai)

Pengamatan jumlah daun dilakukan minggu pertama hingga keenam (masa vegetatif maksimal) dengan menghitung jumlah daun yang tumbuh.

c) Luas Daun

Pengamatan terhadap luas daun dilakukan menggunakan *Leaf Area Meter*. Yaitu dengan cara meletakkan daun segar diatas papan transparan, kemudian papan diletakkan diatas alat *Leaf Area Meter*. Pembacaan nilai luas daun dilakukan pada monitor.

d) Bobot segar tajuk (g)

Pengamatan bobot segar tanaman dilakukan pada minggu ke-3,6, dan 9. Pengukuran dilakukan dengan mengambil tanaman secara keseluruhan dan memotong menjadi 3 bagian, yaitu akar, batang, dan daun. Selanjutnya bagian-bagian tanaman tersebut ditimbang dengan timbangan analitik dengan satuan gram.

e) Bobot kering tanaman (g)

Pengamatan bobot kering tanaman dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban pada minggu ke-3, 6 dan 9 (lampiran 6i, 6j, dan 6k). Bagian batang dan daun tanaman dipisahkan dan dikering anginkan selama 24 jam. Kemudian dibungkus dengan kertas buram untuk masing-masing perlakuan dan dioven dengan temperatur 60°C (lampiran 6m) Setelah itu ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram (g) (lampiran 6n) hingga bobotnya konstan.

4. Hasil Panen

a) Jumlah polong per tanaman

Perhitungan jumlah polong per tanaman dihitung berdasarkan jumlah polong yang dihasilkan dalam 1 tanaman pada saat panen.

b) Berat biji per tanaman

Pengamatan ini dilakukan dengan cara menimbang biji tanaman sampel tiap unit yang dinyatakan dalam satuan gram dan dilakukan pengukuran kadar airnya. Bobot biji dikonversi pada kadar air 10% dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Bobot biji} = \frac{100 - K_a}{100 - 14} \times C$$

Keterangan:

C : bobot biji per tanaman (g)

Ka : kadar air biji terukur

c) Bobot 100 biji (g)

Pengamatan bobot 100 biji dilakukan dengan menimbang bobot biji kedelai sebanyak 100 biji kering matahari dari setiap sampel tanaman. Kemudian bobot dikonversikan pada kadar air 10% dan dihitung 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

d) Hasil (ton/h)

Pengamatan ini dilakukan dengan mengkonversikan hasil bobot biji per tanaman 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 m²)

B : jarak tanam (m²)

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

F. Analisis Data

Data dari hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis menggunakan uji Anova hitung dengan taraf nyata 5%. Apabila perlakuan menunjukkan beda nyata maka dilakukan uji lanjut untuk membandingkan atau mengetahui antar perlakuan yang berbeda dengan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).