

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Tanah, Laboratorium Agrobioteknologi, Laboratorium Penelitian dan lahan percobaan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan November 2017 sampai Mei 2018.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : inokulum *Rhizobium* sp., Bakteri Pelarut Fosfat, tanah Podsolik Merah Kuning yang diambil dari Pandeglang, benih kedelai varietas Denmas-1 dari Balitkabi Malang, media YMA (Yeast Manitol Agar), Medium Pikovkaya's, media ekstrak tanah Podsolik Merah Kuning, alkohol 70%, aquades, cat gram A, cat gram B, cat gram C, cat gram D, kertas payung, kertas saring, kapas, kapur dolomit, pupuk kandang, pupuk Urea, SP-36, KCl dan pestisida.

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, tabung ukur, bekgelas, cawan petri, *coloni counter*, *rotary shaker*, *haemocytometer*, erlenmeyer, mikro pipet, timbangan analitik, jarum ose, *drieglasky*, pinset, pipet ukur, *blue and yellow tip*, autoklaf, oven, mikroskop, *Leaf Area Meter* (LAM), lampu bunsen, pH meter, label, spidol, cutter, stapler, gunting, karet gelang, plastik klep, timbangan (max 10 kg), penggaris, ayakan tanah, plastik bening, polibag, karung plastik, cetok, gembor plastik, terpal, ayakan pasir, semprotan pestisida, dan plastik sungkup.

C. Metode Penelitian

Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan metode percobaan faktor tunggal dengan 4 perlakuan sebagai berikut :

A : *Rhizobium* sp.

B : Bakteri Pelarut Fosfat

C : *Rhizobium* sp-Bakteri Pelarut Fosfat

D : Tanpa inokulum (Kontrol)

Setiap perlakuan diulang 3 kali sehingga diperoleh 12 unit percobaan. Setiap unit percobaan digunakan 6 tanaman, meliputi 3 tanaman sampel dan 3 tanaman korban sehingga terdapat 72 tanaman.

D. Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yakni tahap analisis tanah, tahap pembuatan inokulum, tahap aplikasi dan penanaman, tahap pemeliharaan tanaman dan tahap panen dan pasca panen.

1. Tahap Pengukuran pH dan BV Tanah

a. Cek pH tanah

1. Masing-masing sampel tanah ditimbang 2,5 gram.
2. Tanah yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam botol kecil, kemudian di tambahkan air sebanyak 12,5 ml dan menutup botol dengan rapat, kemudian dikocok selama 5 menit, setelah itu, botol di diamkan hingga larutan tanah dan air terpisah.

3. Pengukuran pH dilakukan dengan memasukkan stik pH meter pada botol, jangan sampai pH stik menyentuh bagian endapan tanah. Setelah beberapa menit akan muncul angka pada pH meter yang menunjukkan besarnya pH tanah (Lampiran 7.a).
4. pH tanah yang menunjukkan hasil paling rendah selanjutnya akan dicek BV tanahnya.

b. Penentuan Kerapatan Massa Tanah (Berat Volume Tanah)

1. Mengambil seongkah tanah menyerupai bulatan dan dapat masuk secara longgar ke dalam gelas ukur 50 ml. Permukaan bongkah tanah dibersihkan dengan kuas secara merata. Kemudian diikat dengan benang dan disisakan 15 cm untuk digantungkan dan ditimbang (nilai a gram).
2. Lilin dicairkan dalam pinggan sampai encer, kemudian memeriksa suhu menggunakan thermometer, pada saat suhu lilin 60°C , bongkahan tanah dicelupkan kemudian langsung diangkat dan dibiarkan tergantung hingga lilin mengeras dan menyelimuti permukaan bongkahan dengan sempurna.
3. Menimbang lilin yang telah mengeras (nilai b gram).
4. Mengisi gelas ukur 50 ml diisi dengan aquadest pada volume 40 ml (nilai p ml), kemudian bongkahan dimasukkan ke dalam gelas ukur.
5. Pipet ukur 10 ml diisi dengan aquadest tepat pada volume 10 ml kemudian menggunakan pipet ukur tersebut ditambahkan aquadest ke dalam gelas ukur sampai volume tertentu (nilai q ml), kemudian

bongkahan dikeluarkan dari gelas ukur dan dicatat pengurangan volume aquadest dalam gelas ukur tersebut (nilai r ml)

Perhitungan :

- Berat bongkah tanah kering mutlak = $\frac{100}{100+KL} \times a$ gram
- Volume bongkah tanah = $(q - r - p) - [(b - a) : 0,87]$ ml
- Kerapatan massa tanah (BV Tanah) = $\frac{\text{berat tanah kering mutlak}}{\text{volume bongkah tanah}}$ gram/cm³

2. Tahap Pembuatan Inokulum

a. Penanaman kedelai untuk diisolasi bintil akar.

Penanaman kedelai pada tanah Podsolik Merah Kuning selama 1 bulan untuk diisolasi bintilnya. Hal ini bertujuan agar mendapatkan isolat *Rhizobium* sp. yang telah resisten terhadap tanah masam.

b. Peremajaan dan Identifikasi *Rhizobium* sp. Tanah Masam

1. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang terbuat dari logam dan kaca dicuci bersih kemudian setelah kering dibungkus menggunakan kertas payung dan plastik klep. Alat-alat dari logam dan kaca yang telah terbungkus kemudian disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121° C bertekanan 1 atm selama 30 menit.

2. Pembuatan Media Yeast Manitol

Dalam setiap 1 liter medium Yeast Manitol membutuhkan bahan-bahan berupa K₂HPO₄ 0,5 gram, MgSO₄.7H₂O 0,2 gram, NaCl 0,1 gram, Manitol 10 gram, Yeast Ekstrak 0,5 gram, agar 15 gram dan Aquades 1 liter. Seluruh bahan kecuali agar dilarutkan dengan aquadest dalam

Erlenmeyer. Kemudian dipanaskan dan tuangkan agar secara perlahan diaduk terus hingga berbui. Tingkat pH yang dikehendaki antara 6,8-7. Media yang telah siap kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada temperatur 121° C tekanan 1 atm selama 15 menit.

3. Pembuatan Media Ekstrak Tanah Podsolik Merah Kuning

Pembuatan Media Ekstrak Tanah Podsolik Merah Kuning (ETA/ETC) sebanyak 1 liter dengan cara, 1000 gram tanah Podsolik Merah Kuning di larutkan dalam 1 liter aquades, dicampur hingga rata kemudian sterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit. Kemudian saring air yang telah terpisah dengan tanah menggunakan kertas saring hingga air terlihat jernih. Setelah itu campurkan seluruh bahan yaitu K_2HPO_4 0,5 gram dan Dekstrosa 0,1 gram aduk hingga homogen, kemudian sterilisasi media pada autoklaf selama 15 menit.

4. Pembuatan Kultur Stok *Rhizobium sp.* Tanah Masam

Media Ekstrak Tanah Podsolik Merah Kuning Agar dan YMA dituang pada masing-masing 2 tabung reaksi kemudian diletakkan dengan kemiringan 30-45°. Mengambil satu ose isolat dari kultur stok yang sudah ada (lampiran 7.e), kemudian diinokulasikan pada media agar minirng YMA dan ETA dengan metode gores (*streak plating method*), masing-masing dua tabung sebagai stok biakkan murni. Inkubasi selama 48 jam.

5. Identifikasi Koloni Tunggal *Rhizobium* sp. Tanah Masam.

Hasil dari pembuatan kultur stok *Rhizobium* sp. tanah masam (lampiran 7.j), diinokulasikan kembali pada petri masing-masing media YMA dan ETA dengan metode *streak* dan *surface* pada petri, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Koloni tunggal yang tumbuh pada media YMA dan ETC, dilakukan identifikasi koloni menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x. Identifikasi koloni *Rhizobium* sp. tanah masam meliputi: warna koloni bakteri, diameter bakteri, diameter zona bening, bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi dan struktur dalam koloni bakteri.

6. Uji Aerobisitas

Rhizobium sp. tanah masam yang telah diidentifikasi koloni, diambil 1 ose diinokulasikan pada tabung reaksi berisi 10 ml median YMC dan ETC, setelah diinokulasi pada masing-masing media kemudian di vortex dan diinkubasi selama 48 jam.

7. Pengecatan Gram *Rhizobium* sp. Tanah Masam

Pengecatan gram dilakukan dengan mengambil 1 masing-masing 1 ose isolat dari hasil uji aerobisitas (lampiran 7.l) dan diinokulasikan pada aquades 10 ml pada tabung reaksi dan kemudian dilakukan cat gram. Cat gram diawali dengan kaca preparat mikroskop disterilkan dengan cara di semprot alkohol dan dikeringkan di atas bunsen. Setelah itu, beri lingkaran pada belakang kaca preparat serta label sesuai medianya sebagai tanda. Setelah itu tepat ditengah lingkaran yang dibuat, teteskan aquades yang telah diinokulasikan isolat. Kemudian, keringkan di atas

bunsen dan diberi larutan cat gram A (kristal Violet), selama 1 menit, dibilas dan dikeringkan. Kemudian tetesi dengan larutan cat gram B (Iodin), selama 1 menit, dibilas dan keringkan. Selanjutnya tetesi larutan cat gram C (Alkohol), selama 30 detik, bilas dan keringkan. Terakhir tetesi larutan cat gram D (Safranin), selama 2 menit, bilas dan keringkan. Amati preparat yang telah di cat gram di bawah mikroskop, serta amati bentuk dan warna bakteri. Apabila bakteri berwarna ungu/violet/biru maka bakteri bersifat gram positif, namun apabila bakteri berwarna merah maka bakteri bersifat gram negatif (lampiran 7.m).

8. Perbanyak Untuk identifikasi Jumlah *Rhizobium sp.* Tanah Masam

Hasil dari uji aerobisitas sebanyak 10 ml, dimasukkan ke dalam masing- masing erlenmeyer steril yang berisi 100 ml media YMC dan ETC (lampiran 7.o). Kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48 jam untuk mengaktifkan *fase mid log* bakteri.

Dilakukan seri pengenceran 1 ml sampel hasil dari perbanyakan diencerkan pada botol suntik berisi 99 ml aquades steril untuk seri pengenceran 10^{-2} , 10^{-4} dan 10^{-6} dan 2 pada tabung reaksi untuk seri pengenceran 10^{-7} dan 10^{-8} . Setiap 0,1 ml pada setiap seri pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} diinokulasikan pada petri berisi media YMA dan ETA dengan menggunakan metode *surface*, masing-masing media ada 3 kali ulangan, inkubasi selama 48 jam.

Perhitungan populasi bakteri dilakukan 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 ml dengan menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah bakteri per ml sampel (CFU/ml)} = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

Penentuan Jumlah bakteri per mililiter dengan menggunakan cara TPC harus memenuhi syarat sebagai berikut:

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300 koloni.
- b. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luars cawan petri (*Spreader*).
- c. Perbandingan jumlah koloni dari pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dari pengenceran sebelumnya. Jika sama atau lebih kecil dari 2 maka hasilnya dirata-rata, dan jika lebih besar dari 2 maka yang digunakan adalah jumlah koloni dari seri pengenceran sebelumnya.
- d. Jika dengan ulangan, setelah memenuhi syarat hasil dirata-rata (Agung_Astuti dkk, 2014). Apabila kepadatan populasi bakteri $\pm 10^{-7}$ - 10^{-9} cfu/g, maka dilanjutkan formulasi inokulum.

c. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF).

1. Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang terbuat dari logam dan kaca dicuci bersih kemudian setelah kering dibungkus menggunakan kertas payung dan plastik klep. Alat-alat dari logam dan kaca yang telah terbungkus kemudian disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121° C bertekanan 1 atm selama 30 menit.

2. Pembuatan media Pikovskaya.

Dalam setiap 1 liter medium Pikovskaya dibutuhkan bahan-bahan berupa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, Khamir extract 0,5 g, KCl 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2,5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5 g, glukosa 10 g, Agar 15 g dan Aquades 1000 ml. Dihomogenkan seluruh bahan kecuali agar untuk membuat Media Pikovskaya Cair dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 4 jam. Tingkat pH yang dikehendaki 6,6-7. Kemudian dimasukkan agar dan dipanaskan hingga homogen. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf bertemperatur 121°C, bertekanan 1 atm selama 15 menit. Media Pikovskaya agar dituang pada tabung reaksi kemudian diletakkan dengan kemiringan 30-45°.

3. Pembuatan Media Nutrien Agar

Dalam 1 Liter media Nutrien Agar/cair dibutuhkan Pepton 5 gram, Ekstrak khamir 3 gram, agar 15 gram dan aquades 1 liter. homogenkan seluruh bahan kecuali agar untuk membuat Media

Nutrien Cair. Sedangkan Untuk media Nutrien Agar, panaskan NC kemudian masukkan agar diaduk hingga homogen. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf bertemperatur 121°C, bertekanan 1 atm selama 15 menit. Media Nutrien Agar di tuang pada tabung reaksi kemudian diletakkan dengan kemiringan 30-45°.

4. Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat

Isolasi BPF dilakukan dengan cara menimbang 1 gram kotoran walat dan buat seri pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} untuk diisolasi pada media Pikovskaya Agara (PA) dan nutrien Agar (NA) dengan metode *streak* dan *surface* pada petri, kemudian diinkubasi selama 48 jam (lampiran 7.h dan lampiran 7.i).

5. Identifikasi Koloni Tunggal BPF

Koloni tunggal yang tumbuh pada media BPF dengan ciri-ciri koloni membentuk zona bening. Dari koloni tunggal tersebut, dilakukan identifikasi koloni menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x. Identifikasi koloni BPF meliputi: warna koloni bakteri, diameter bakteri, diameter zona bening, bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi dan struktur dalam koloni bakteri. BPF yang telah diidentifikasi koloninya, kemudian diisolasi pada media agar minirng PA dan NA dengan metode gores (*streak plating method*), masing-masing dua tabung sebagai stok biakkan murni. Inkubasi selama 48 jam.

6. Uji aerobisitas

BPF yang telah tumbuh pada tabung stok biakkan murni masing-masing diambil 1 ose sesuai dengan media dan diinokulasikan pada 10 ml media Pikovskaya Cair (PC) dan Nutrient Cair (NA), setelah diinokulasikan pada tabung reaksi kemudian di vortex dan inkubasi selama 48 jam.

7. Pengecatan Gram Bakteri BPF

Pengecatan gram dilakukan dengan mengambil 1 masing-masing 1 ose isolat dari hasil uji aerobisitas (lampiran 7.k) dan diinokulasikan pada aquades 10 ml pada tabung reaksi dan kemudian dilakukan cat gram. Cat gram diawali dengan kaca preparat mikroskop disterilkan dengan cara di semprot alkohol dan dikeringkan di atas bunsen. Setelah itu, diberi lingkaran pada belakang kaca preparat serta label sesuai medianya sebagai tanda. Setelah itu tepat ditengah lingkaran yang dibuat, teteskan aquades yang telah diinokulasikan isolat. Kemudian, dikeringkan di atas bunsen dan diberi larutan cat gram A (kristal Violet), selama 1 menit, dibilas dan dikeringkan. Kemudian tetesi dengan larutan cat gram B (Iodin), selama 1 menit, dibilas dan dikeringkan. Selanjutnya tetesi larutan cat gram C (Alkohol), selama 30 detik, bilas dan keringkan. Terakhir tetesi larutan cat gram D (Safranin), selama 2 menit, bilas dan keringkan. Amati preparat yang telah di cat gram di bawah mikroskop, serta amati bentuk dan warna bakteri. Apabila bakteri berwarna ungu/violet/biru maka bakteri

bersifat gram positif, namun apabila bakteri berwarna merah maka bakteri bersifat gram negatif.

8. Perbanyak untuk identifikasi jumlah BPF

Hasil dari uji aerobisitas sebanyak 10 ml, dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer steril yang berisi 100 ml media PC dan NA (lampiran 7.n). Kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48 jam untuk mengaktifkan *fase mid log* bakteri.

Dilakukan seri pengenceran 1 ml sampel hasil dari perbanyakan diencerkan pada botol suntik berisi 99 ml aquades steril untuk seri pengenceran 10^{-2} , 10^{-4} dan 10^{-6} dan 2 pada tabung reaksi untuk seri pengenceran 10^{-7} dan 10^{-8} . Setiap 0,1 ml pada setiap seri pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} diinokulasikan pada petri berisi media PA dan NA dengan menggunakan metode *surface*, masing-masing media ada 3 kali ulangan, inkubasi selama 48 jam.

d. Perbanyak inokulum untuk aplikasi

Perbanyak inokulum dilakukan 4 hari sebelum aplikasi.

1. Perbanyak *Rhizobium* sp. dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat *Rhizobium* sp. dan diinokulasikan pada 1 tabung reaksi yang berisi 10 ml Ekstrak tanah cair dan diinkubasi selama 48 jam. Hasil inkubasi isolat pada ekstrak tanah cair, dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril yang berisi 100 ml ekstrak tanah cair, kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48 jam. Hasil dari *rotary shaker* telah dapat diaplikasikan pada benih kedelai yang akan ditanam.

Perlakuan yang diberi inokulum *Rhizobium* sp. yakni perlakuan PB dan PD dengan 12 ml/kg benih.

2. Perbanyak BPF dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat BPF dan di inokulasikan pada 4 tabung reaksi yang berisi masing-masing 10 ml Pikovskaya cair dan di inkubasi selama 48 jam. Hasil inkubasi isolat pada pikovskaya cair, dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril yang berisi masing-masing 100 ml Pikovskaya cair, kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* selama 48 jam. Hasil dari *rotary shaker* telah dapat diaplikasikan pada media tanam. Perlakuan yang diberi inokulum BPF yakni perlakuan PC dan PD yang setiap tanaman diberi 10 ml inokulum BPF.

3. Aplikasi Inokulum dan Penanaman

1. Pembuatan naungan

Pemberian naungan dilahan perlu dilakukan dikarenakan tanaman kedelai tidak suka terhadap banyak air, sementara penelitian dilakukan pada saat musim penghujan. Naungan dibuat dari bambu dan dilapisi plastik PE yang membentuk setengah lingkaran.

Penyiapan lokasi penanaman dengan membuat sungkup.

2. Penyiapan media tanam dan pemupukan dasar

Penyiapan media tanam (lampiran 7.b dan 7.c.) dilakukan 2 minggu sebelum tanam dengan mengering anginkan tanah Podsolik Merah Kuning terlebih dahulu, kemudian diayak dan dimasukan ke polibag sebanyak 6,1 kg dan pupuk kandang sebanyak 60 gram (perhitungan

terlampir pada lampiran 2). Kemudian seluruh polibag diberi air dengan kapasitas lapang.

3. Uji Perkecambahan

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 30 benih kedelai secara acak, kemudian di semai pada petridis yang sudah diberi kapas yang telah dibasahi. Pengujian dilakukan dengan 3 kali ulangan dan diamati selama 7 hari, hasil uji perkecambahan terlampir pada lampiran 7.d.

Rumus daya kecambah yakni:

$$DK = \frac{\text{jumlah biji berkecambah}}{\text{jumlah biji yang dikecambahkan}} \times 100\%$$

Dari hasil uji perkecambahan didapatkan daya kecambah kedelai varietas Denmas-1 sebesar 90%.

4. Aplikasi Inokulum

a. Aplikasi *Rhizobium* sp. (lampiran 7.p), dilakukan dengan merendam benih pada inokulum *Rhizobium* sp. selama 10 menit, kemudian di kering anginkan selama 5 menit sebelum ditanam.

b. Aplikasi Bakteri Pelarut Fosfat (lampiran 7.q) dilakukan menggunakan pipet ukur, kemudian siramkan pada lubang tanam sebanyak 10 ml.

5. Penanaman

Penanaman dilakukan dengan cara membuat lubang tanam pada polibag dan menanam 2 benih kedelai dalam 1 polibag, hal ini untuk mengurangi resiko jika ada tanaman yang mati (lampiran 7.r).

4. Tahap Pemeliharaan Tanaman

1. Penyiraman

Penyiraman dilakukan secara intensif (satu hari sekali), terlebih pada saat perkecambahan (0-5 HST), Stadium awal vegetatif (15-20 HST), masa pembungaan (25-35 HST) dan Pada saat pengisian polong (35-65 HST) (Lampiran 7.s).

2. Pemupukan

Tabel 2. Dosis pemupukan

Waktu	Dosis Pemupukan (gram/polibag)				
	Dolomit	Pupuk Kandang	Urea	SP-36	KCl
2 minggu sebelum tanam	8				
1 minggu sebelum tanam		60			
2 minggu setelah tanam			1	2	1,5
6 minggu setelah tanam			1	2	1,5

3. Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian hama belalang, ulat daun dengan menggunakan insektisida merk dagang Diazinon 600 EC, dengan dosis 2 ml/liter, dan disemprotkan ke daun secara merata (lampiran 7.t). Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh jamur menggunakan fungisida kontak dan sistemik.

5. Tahap Panen dan Pascapanen

Kedelai dapat dipanen setelah sebagian besar daun sudah menguning, buah mulai berubah warna dari hijau menjadi kuning kecoklatan serta retak-retak, atau polong sudah kelihatan tua, batang berwarna kuning agak kecoklatan. Umur kedelai varietas Denmas-1 yakni 90 hari setelah tanam.

2. Pengamatan Pengaruh Inokulum *Rhizobium* sp.

a. Jumlah nodul akar total

Jumlah nodul akar dihitung secara manual setelah tanaman dicabut, akar dibersihkan kemudian dihitung total jumlah nodul, baik nodul efektif maupun nodul yang tidak efektif.

b. Bobot nodul (gram)

Total nodul yang telah dihitung, kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Hasil timbangan dinyatakan dalam satuan gram.

c. Diameter nodul akar (mm)

Pengamatan diameter nodul akar dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan mm. Caranya 20 nodul diambil secara acak, kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong.

d. Persentase efektivitas nodul (%)

Persentase nodul efektif dihitung dengan rumus:

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

Caranya 20 nodul diambil secara acak, lalu dipotong dengan menggunakan pisau atau *cutter*, kemudian diamati warna nodul. Bila berwarna merah berarti efektif, dan bila berwarna hitam berarti tidak efektif.

3. Pengamatan Pertumbuhan Perakaran Tanaman

a. Proliferasi akar

Pengamatan proliferasi akar bertujuan untuk mengamati percabangan perakaran tanaman kedela. Pengamatan dilakukan pada tanaman korban

pada minggu ke-3, 6 dan 9 setelah tanam. Proliferasi akar dinyatakan secara kualitatif dengan harkat sebagai berikut:

Tabel 3. Keterangan poliferasi akar

No	Harkat	Keterangan
1	(++++)	Untuk perakaran yang memiliki percabangan yang rumit serta banyak secara vertikal dan horizontal.
2	(+++)	Untuk perakaran yang memiliki percabangan yang cukup banyak
3	(++)	Untuk perakaran yang memiliki percabangan akar yang sedang.
4	(+)	Untuk perakaran yang memiliki percabangan akar yang sedikit

b. Panjang akar (cm)

Pengukuran panjang akar tanaman dilakukan dengan menggunakan penggaris atau meteran, dengan cara diukur dari pangkal batang hingga e.ujung akar terpanjang, hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan cm. Pengamatan panjang akar dilakukan pada minggu ke-3, 6 dan 9 setelah tanam, pada tanaman korban.

c. Bobot segar dan kering akar (gram)

Pengamatan bobot segar dan kering akar dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban pada minggu ke-3, 6 dan 9, kemudian potong bagian pangkal batang dan menimbng akar yang telah dibersihkan. Selanjutnya kar dikering anginkan selma 24 jam kemudian dioven dengan temperatur suhu 70°C hingga bobot akar konstan. Pengamatan bobot akar dilakukan dengan menimbang akar yang telah kering menggunakan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram.

4. Pengamatan Pertumbuhan Vegetatif Tanaman

a. Tinggi tanaman (cm)

Tinggi tanaman diamati pada tanaan sampel dengan cara diukur dari permukaan tanah sampai dengan titik tumbuh tanaman. Alat yang digunakan adalah penggaris atau meteran dengan satuan cm. Pengamatan tinggi tanaman dilakukan setiap minggu hingga masa vegetatif maksimal dimulai satu minggu setelah tanam.

b. Jumlah daun (helai)

Jumlah daun diamati pada tanaman sampel dengan cara setiap helai daun dihitung agar dapat menentukan tingkat kemampuan tanaman untuk berfotosintesis. Pengamatan dilakukan setiap minggu hingga masa vegetatif maksimal dimulai satu minggu setelah tanam.

c. Bobot segar dan kering tajuk (gram)

Pengamatan bobot segar tajuk dilakukan dengan cara mencabut tanaman korban pada minggu ke-3, 6 dan 9, kemudian potong bagian pangkal batang dan menimbang bagian tajuk. Selanjutnya dikering anginkan selama 24 jam. Tajuk yang telah di kering anginkan dimasukkan dalam kertas amplop yang telah dilubangi untuk masing-masing pelakuan, kemudian dioven dengan temperatur 70°C hingga bobot tajuk konstan. Pengamatan bobot tajuk dilakukan dengan menimbang tajuk yang telah kering menggunakan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram.

d. Luas daun (cm²)

Luas daun diukur dengan menggunakan LAM (*Leaf Area Meter*). Daun yang akan diukur, dipotong terlebih dahulu atau dipisahkan dengan batang tanamannya, lalu disusun diatas papan kemudian diukur menggunakan LAM dan dinyatakan dalam satuan cm². Pengamatan dilakukan pada minggu ke-3, 6 dan 9 setelah tanam pada tanaman korban.

e. Umur berbunga (HST)

Menentukan umur berbunga dilakukan pada saat kedelai mulai mengalami pembungaan atau mulai muncul bunga per tanaman dan dinyatakan dalam satuan HST (hari setelah tanam).

5. Pengamatan Tanaman Sampel Setelah Panen

a. Jumlah polong

Pengamatan jumlah polong dilakukan setelah panen, polong pertanaman dihitung jumlahnya.

b. Bobot kering polong (gram)

Pengamatan bobot kering polong dilakukan dengan cara menjemur polong yang telah dipanen hingga kadar air tertentu, kemudian polong ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram.

c. Bobot biji per tanaman (gram)

Bobot biji diamati dengan memisahkan biji dengan polong kering terlebih dahulu, kemudian menimbang biji tanaman sampel tiap unit

menggunakan timbangan analitik dan dinyatakan dalam satuan gram, serta dilakukan pengukuran kadar air pada biji. Bobot biji dikonversi pada kadar air 12% dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Berat biji} \frac{100-Ka}{100-12\%} \times C \text{ g}$$

Keterangan:

C : berat biji per tanaman (g)

Ka : kadar air biji terukur

d. Bobot 100 biji (gram)

Pengamatan berat 100 biji dilakukan dengan menimbang berat biji kedelai sebanyak 100 biji kering matahari dari setiap sampel tanaman yang telah diketahui kadar airnya. Kemudian berat kering dikonversikan pada kadar air 12% dengan rumus:

$$a = \frac{100-Ka}{100-12\%} \times b$$

Keterangan:

a : berat 100 biji pada kadar air 12%

b : berat 100 biji pada kadar air terukur

Ka : kadar air biji terukur

e. Hasil (ton/h)

Pengamatan ini dilakukan dengan mengonversikan hasil berat biji per tanaman pada kadar air 12% pada satuan ton/h dengan rumus:

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

Keterangan:

H : hasil kedelai per hektar pada kadar air 12%

A : luas lahan dalam satuan hektar (10.000 m²)

B : jarak tanam (m²)

C : berat biji per tanaman pada kadar air 12% (kg)

F. Analisis Data

Data hasil pengamatan secara periodik disajikan dalam bentuk grafik dan histogram, sebagai hasil akhir dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (*Analisis of Variance*) pada tingkat 5%. Perlakuan yang berbeda nyata diuji lebih lanjut dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT).