



**PEMANFAATAN *RHIZOBACTERIA* SEBAGAI *BIOFERTILIZER*  
UNTUK MENINGKATKAN PERTUMBUHAN TANAMAN  
KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Merryzka Juned Juliana Alfath**  
**NIM 111510501008**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**PEMANFAATAN *RHIZOBACTERIA* SEBAGAI *BIOFERTILIZER*  
UNTUK MENINGKATKAN PERTUMBUHAN TANAMAN  
KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan program (S1) pada Program Studi Agroteknologi  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:  
**Merryzka Juned Juliana Alfath**  
**NIM 111510501008**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Segala Puji bagi ALLAH seru sekalian alam atas segala limpahan kemurahanNya, saya persembahkan karya tulis ilmiah ini untuk:

1. Ibuku tercinta Zulaeha, Papaku tersayang Margono adikku terkasih Renisa Dena Ismithasari Alfath atas segala doa yang berulang kali diucapkan, cinta tulus sepenuh hati dan segala pengorbanan yang telah diberikan selama ini;
2. Semua guru sejak TK Aisyiyah Bustanul Athfal 2 Muncar, SDN 3 Kalibaru Kulon, SMPN 1 Kalibaru, SMKN 1 Kalibaru dan dosen Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah mendidik, melatih, memimpin membimbing, memotivasi dan membina;
3. Sahabat-sahabatku dan partner terbaik atas segala motivasi, dukungan dan ketulusan membantu yang telah diberikan selama ini.

**MOTTO**

***“ALLAH tidak membebani seseorang itu melainkan  
sesuai dengan kesanggupannya”***

***(Q.S. Al-Baqarah : 286)***

***“A goal is a dream with a deadline”  
(Napoleon Hill).***

***”If you have list of something you want in your life,  
make sure you do everything to make it real”***

***(Citraning Sambadha).***

***“Berdamailah dengan kelemahanmu,  
optimalkan kelebihanmu”***

***(Ajuna).***

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Merryzka Juned Juliana Alfath

NIM : 111510501008

menyatakan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul **Pemanfaatan *Rhizobacteria* sebagai Biofertilizer untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)** adalah benar hasil karya sendiri, kecuali disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakkan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Oktober 2015

Yang menyatakan

Merryzka Juned Juliana Alfath

NIM 111510501008

**SKRIPSI**

**PEMANFAATAN *RHIZOBACTERIA* SEBAGAI *BIOFERTILIZER*  
UNTUK MENINGKATKAN PERTUMBUHAN TANAMAN  
KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)**

Oleh:

**Merryzka Juned Juliana Alfath  
NIM 111510501008**

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Anang Syamsunihar, MP., Ph.D.  
NIP. 19660626199103 1 002

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Abdul Majid, MP.  
NIP. 19670906199203 1 004

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul **Pemanfaatan *Rhizobacteria* sebagai *Biofertilizer* untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merril)** telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Kamis  
Tanggal : 22 Oktober 2015  
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

**Ir. Anang Svamsunihar, MP., Ph.D.**

NIP. 19660626 199103 1 002

**Ir. Abdul Majid, MP.**

NIP. 19670906 199203 1 004

Penguji,

**Ir. R. Soedradjad, M.T.**

NIP. 19570718 198403 1 001

Mengesahkan  
Dekan,

**Dr. Ir. Jani Januar, M.T.**

NIP. 19590102 198803 1 002

## RINGKASAN

**Pemanfaatan *Rhizobacteria* sebagai Biofertilizer untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill); Merryzka Juned Juliana Alfath; 111510501008; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.**

Penggunaan pupuk sintetik yang tidak sesuai anjuran dapat memperburuk lingkungan dan residu yang ditimbulkan dapat membahayakan kesehatan. *Biofertilizer* merupakan salah satu alternatif bioteknologi untuk mengurangi ketergantungan pemakaian pupuk sintetik dengan pemanfaatan sumberdaya alam menggunakan *rhizobacteria*. Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* yang digunakan merupakan kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh *rhizobacteria Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* sebagai *biofertilizer* dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai, baik diberikan secara tunggal maupun kombinasi dan untuk mendapatkan frekuensi aplikasi *rhizobacteria* yang paling baik dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai Maret 2015 di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Jember. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial terdiri dari 16 kombinasi perlakuan dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah *rhizobacteria* yang terdiri dari 4 taraf yaitu tanpa perlakuan (A0), isolat *P. fluorescens* (A1), isolat *B. subtilis* (A2), dan kombinasi bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* (A3). Faktor kedua adalah frekuensi aplikasi yang terdiri dari 4 taraf, yaitu satu kali aplikasi (B1), dua kali aplikasi (B2), tiga kali aplikasi (B3), dan empat kali aplikasi (B4). Data dianalisis Sidik Ragam dan uji lanjut menggunakan DMRT dengan taraf 5%. Data diperoleh dengan melakukan pengukuran N-jaringan (%), kandungan klorofil ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ), jumlah daun sehat (helai), total luas daun ( $\text{cm}^2$ ), total jumlah cabang (buah), tinggi tanaman (cm), berat kering tanaman (g) dan kelembapan udara (%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi *rhizobacteria* yang diberikan secara tunggal mampu memberikan pengaruh lebih baik terhadap pertumbuhan tanaman kedelai



dibandingkan dengan pemberian *rhizobacteria* kombinasi. Frekuensi aplikasi *rhizobacteria* yang paling baik dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai dengan aplikasi isolat bakteri *B. subtilis* adalah 1 (satu) kali pada 7 (tujuh) hari sebelum tanam dibanding perlakuan lainnya.



## SUMMARY

**The usage of Rhizobacteria as Biofertilizer to Improvement Plant Growth of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill); Merryzka Juned Juliana Alfath; 111510501008; Agrotechnology Department; Agricultural Faculty; University of Jember.**

The use of synthetic fertilizers that were not controlled lead to the environmental damage and their residues posed the health hazard. Biofertilizer is one of the biotechnology alternative to reduce the dependency on using synthetic fertilizers by exploiting natural resources of rhizobacteria. *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* bacteria were used in a group of *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). This research aim is to asses the influence of *P. fluorescens* and *B. subtilis* rhizobacteria as biofertilizers on promoting the growth of soybean, even singly or in combination with different application frequency. It was conducted from December 2014 to March 2015 at a greenhouse of Agricultural Faculty, University of Jember. The experiment was based on factorial randomized complete design (CRD) that consisted of 16 combined treatments with 3 replications. The first factor was rhizobacteria application that consisting of four levels i.e. controlled plants (A0), isolates of *P. fluorescens* (A1), isolates of *B. Subtilis* (A2), and combination of *P. fluorescens* and *B. Subtilis* (A3). The second factor was frequency of application which cocsisted of four levels i.e. one time application (B1), two times applications (B2), three times applications (B3), and four times applications (B4). Data were analyzed using ANOVA followed by DMRT at level of 5%. The variables of observation were N-total of tissues (%), content of chlorophyll ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ), number of health leaf (pieces), leaves area ( $\text{cm}^2$ ), the number of branches (pieces), plant height (cm), plant dry weight (g), and relative air humidity (%). The results showed that the application of rhizobacteria given singly providing a better influence on the soybean growth as compared to combination application. The best frequency of rhizobacteria application in promoting soybean growth is 1 (one) time in seven (7) days prior to planting with the *B. subtilis* bacteria application compared to other treatments.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah S.W.T. yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun karya tulis mahasiswa yang berjudul “Pemanfaatan *Rhizobacteria* sebagai *Biofertilizer* untuk Meningkatkan Pertumbuhan tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Karya ilmiah ini berisi tentang peluang memanfaatkan *rhizobacteria* sebagai pupuk hayati aplikasi tanah dalam mendukung pertumbuhan tanaman kedelai. Sudah sangat dikenal bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai *bioprotectant*. Oleh karena itu, informasi ini bisa menambah khasanah ilmu dan aplikasi teknologi ramah lingkungan dalam menunjang pelaksanaan pertanian berkelanjutan.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian-penelitian selanjutnya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang bersifat konstruktif sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya. Segala koreksi mohon dikirim ke email [asyamsunihar.faperta@unej.ac.id](mailto:asyamsunihar.faperta@unej.ac.id)

Jember, 22 Oktober 2015

Penulis

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada :

1. Ir. Anang Syamsunihar, MP., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Abdul Majid, M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota, Ir. Raden Soedradjad, M.T. selaku Dosen Penguji dan Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, M.S. selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan, bimbingan dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ini.
2. Dr. Ir. Jani Januar, M.T. selaku dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember dan Ir. Hari Purnomo, MSi., Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
3. Ketua, Sekretaris dan Ketua Komisi Pendidikan Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Jember yang turut membantu kelancaran pelaksanaan skripsi ini;
4. Ibu Zulaeha, Papa Margono, adikku Renisa Dena Ismithasari Alfath dan keluarga tercinta atas segala pengorbanan, kasih sayang, dukungan baik moril maupun materil serta do'a yang selalu dipanjatkan yang mungkin tidak dapat terbalas dengan apapun demi kelancaran penyusunan karya tulis ini;
5. Sahabat-sahabatku Pretty, Rossa, Anggi, Alfi, Reza, Deni, Aldy, Rosy dan Ajuna yang turut berperan memberi segala dukungan, semangat, motivasi dalam membantu menyelesaikan penelitian ini;
6. Teman - teman program studi Agroteknologi 2011 khususnya kelas A, teman-teman KKN Sidodadi dan teman-teman kosan Nakula 11 atas semangat dan dukungan yang telah diberikan.

Semoga Allah S.W.T membalas segala kebaikan yang berlipat, serta penulis berharap karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi perkembangan keilmuan dan budidaya tanaman kedelai dimasa mendatang.

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMANPERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	x
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	xi
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanaman Kedelai .....	5
2.2 Potensi <i>Rhizobacteria</i> sebagai <i>Biofertilizer</i> .....	8
2.3 Karakteristik Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	8
2.4 Karakteristik Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	9
2.5 Peranan Bakteri <i>P.fluorescens</i> dan Bakteri <i>B. subtilis</i> .....	10
2.6 Hipotesis .....	13

**BAB 3. METODE PENELITIAN**

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
3.2 Bahan dan Alat .....	14
3.3 Rancangan Penelitian .....	14
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	16
3.4.1. Peremajaan Isolat Bakteri <i>P. fluorescens</i> dan <i>B. subtilis</i> .....	16
3.4.2. Inokulasi Isolat Bakteri <i>P. fluorescens</i> dan <i>B. subtilis</i> .....	16
3.4.3. Persiapan Media Tanam dan Benih .....	16
3.4.4. Penanaman Benih Kedelai pada <i>polybag</i> .....	16
3.4.5 Pemeliharaan Bibit .....	17
3.5 Pengumpulan Data .....	17

**BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN** ..... 20

**BAB 5. KESIMPULAN**

5.1 Kesimpulan .....	34
5.2 Saran .....	34

**DAFTAR PUSTAKA** ..... 35

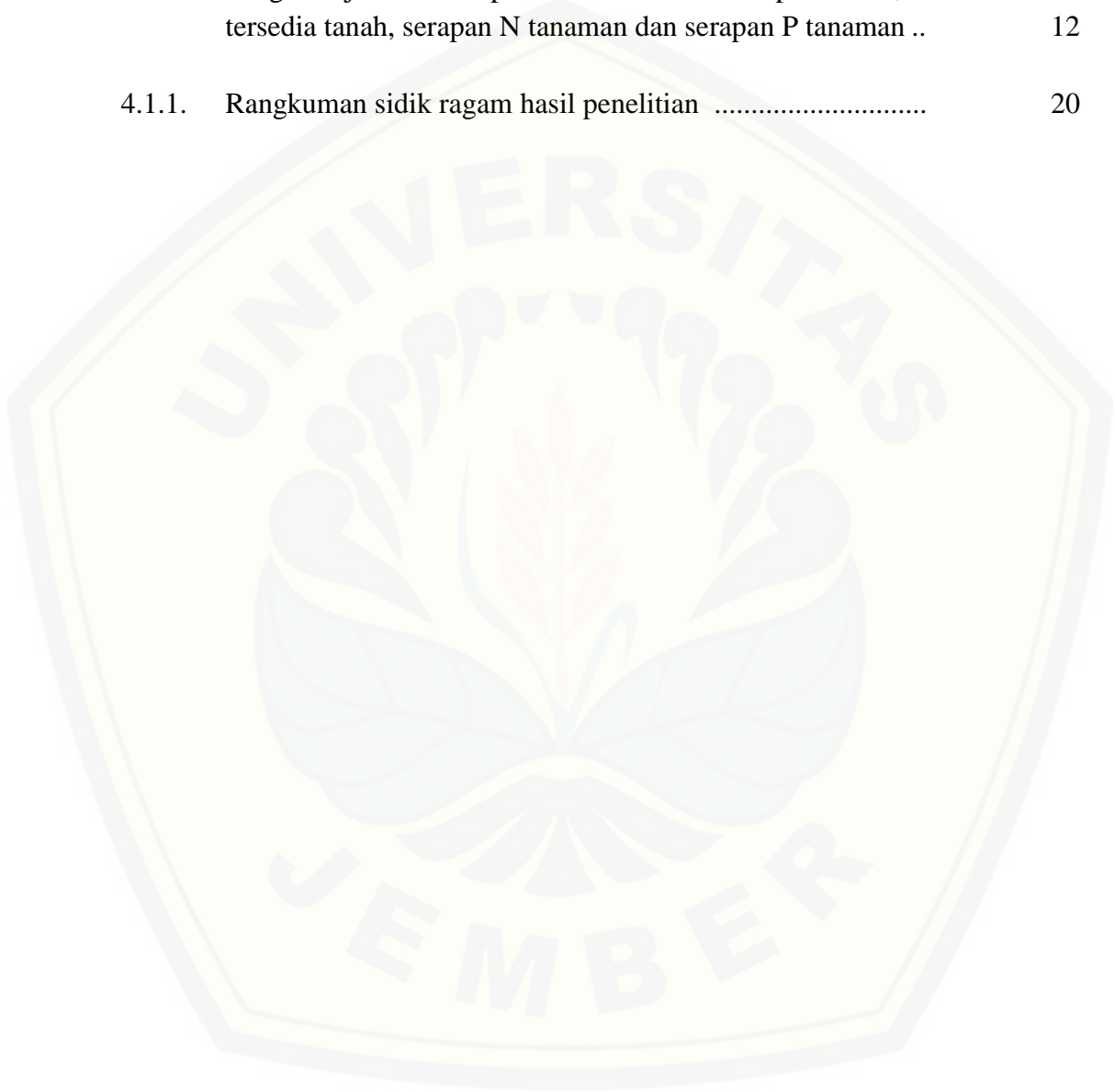
**LAMPIRAN** ..... 41

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1.1. Stadia pertumbuhan tanaman kedelai .....	6
2.3.1. Bakteri <i>P. fluorescens</i> dibawah sinar UV .....	9
2.4.1. Morfologi koloni bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	10
3.3.1. Tata-letak tanaman dalam penelitian .....	15
4.1.2. Kandungan N-Jaringan tanaman kedelai yang diberi <i>rhizobacteria</i> dengan berbagai frekuensi aplikasi.....	21
4.1.3. Kandungan klorofil tanaman kedelai yang diberi <i>rhizobacteria</i> .....	23
4.1.4. Kandungan klorofil tanaman kedelai dengan berbagai frekuensi aplikasi .....	24
4.1.5. Jumlah daun sehat tanaman kedelai yang diberi <i>rhizobacteria</i> dengan berbagai frekuensi aplikasi .....	25
4.1.6. Luas daun tanaman kedelai yang diberi <i>rhizobacteria</i> dengan berbagai frekuensi aplikasi .....	26
4.1.7. Total jumlah cabang tanaman kedelai yang diberi <i>rhizobacteria</i> dengan berbagai frekuensi aplikasi .....	27
4.1.8. Tinggi tanaman kedelai dengan berbagai <i>rhizobacteria</i> dengan berbagai frekuensi aplikasi .....	28
4.1.9. Berat kering tanaman kedelai yang diberi <i>rhizobacteria</i> dengan berbagai frekuensi aplikasi .....	30

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.5.1. Pengaruh jenis bahan perbaikan tanah terhadap N tanah, P tersedia tanah, serapan N tanaman dan serapan P tanaman ..	12
4.1.1. Rangkuman sidik ragam hasil penelitian .....	20





**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 : Foto Penelitian .....	41
Lampiran 2 : Analisis Keragaman Tinggi Tanaman (cm) .....	43
Lampiran 3 : Analisis Keragaman Total Jumlah Cabang (buah).....	44
Lampiran 4 : Analisis Keragaman Jumlah Daun Sehat (buah).....	45
Lampiran 5 : Analisis Keragaman Total Luas Daun (cm <sup>2</sup> ) .....	46
Lampiran 6 : Analisis Keragaman Kandungan Klorofil (μmol/m <sup>2</sup> ) .....	47
Lampiran 7 : Analisis Keragaman Berat Kering Tanaman (g).....	48
Lampiran 2 : Analisis Keragaman Kandungan N-Jaringan (%) .....	49

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hasil penelitian tentang pemanfaatan bioteknologi dengan pengembangan sumberdaya hayati di bidang pertanian menunjukkan bahwa bakteri perakaran seperti *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* mampu mengendalikan patogen tumbuhan (Whippes, 2008). Diketahui bahwa strain dari *P. fluorescens* efektif menekan serangan *Rhizoctonia solani* pada kedelai (Majid, 2006) dan layu fusarium pada timun (Elad *et.al.*, 2005), sementara *B. subtilis* dilaporkan efektif mengendalikan patogen busuk akar timun dan rebah kecambah pada tomat (Kita *et.al.*, 2005), serta patogen layu tomat (Mugiastuti dkk., 2012). Dalam penelitian terbaru Javandira, dkk. (2013) membuktikan bahwa bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* pada perlakuan tunggal maupun kombinasi keduanya memiliki potensi dalam mengendalikan penyakit busuk lunak umbi kentang (*Erwinia carotovora*). Kedua bakteri ini merupakan kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang memiliki 3 peran utama bagi tanaman yaitu : (i) sebagai pemacu pertumbuhan (*biostimulans*), (ii) sebagai penyedia hara (*biofertilizer*), dan (iii) sebagai pengendali patogen (*bioprotectant*) (Kloepper, 1993).

*Biofertilizer* merupakan substansi yang mengandung mikroorganisme hidup dengan cara membentuk koloni di sekitar akar dengan cepat apabila dipakai pada benih, permukaan tanah atau tanaman. Teknologi *biofertilizer* dikembangkan dari bakteri maupun jamur yang memiliki peran penting dalam pertumbuhan tanaman, mempermudah penyerapan hara bagi tanaman, membantu dekomposisi bahan organik dan menyediakan lingkungan *rhizosphere* yang lebih baik sehingga produksi tanaman meningkat (Hasanuddin, 2003). Penggunaan pupuk sintetis yang tidak sesuai anjuran dapat memperburuk lingkungan dan residu yang ditimbulkan dapat membahayakan kesehatan. Oleh karena itu, *biofertilizer* dapat menjadi salah satu alternatif bioteknologi pengendalian untuk mengurangi ketergantungan terhadap pupuk sintetis dengan mengacu pada pemanfaatan sumberdaya alam *rhizobacteria* (Hanafiah *et al.*, 2007).

*Rhizobacteria* merupakan kelompok bakteri yang menguntungkan pada lapisan tanah tipis antara 1-2 mm di sekitar zona perakaran tanaman. Aktivitas *rhizobacteria* memberikan keuntungan secara langsung yaitu kemampuannya dalam menyediakan dan memobilisasi penyerapan unsur hara. Pemanfaatan *rhizobacteria* sebagai penambat nitrogen dapat memacu pertumbuhan tanaman (Simanungkalit, dkk, 2006) dan menyediakan lingkungan *rhizosphere* yang lebih baik sehingga mendukung pertumbuhan dan meningkatkan produksi tanaman (Yunus dan Elemina, 2010).

Pemanfaatan *rhizobacteria* sebagai *biofertilizer* menggunakan isolat bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* yang diberikan pada tanaman kedelai diharapkan mampu memaksimalkan pertumbuhan tanaman sehingga produksi semakin meningkat. Keunggulan bakteri *P. fluorescens* adalah mempunyai kemampuan yang lebih baik sebagai pengkoloni akar dibandingkan dengan *Bacillus sp* dan memiliki kemampuan tumbuh pada suhu tanah yang lebih rendah, namun demikian isolat *Pseudomonas* sensitif terhadap stres lingkungan karena *Pseudomonas* tidak membentuk endospora (struktur tahan dari stres) seperti *Bacillus*. Sedangkan keunggulan *Bacillus* dibandingkan dengan bakteri lain adalah kemampuannya menghasilkan endospora yang tahan terhadap suhu panas dan dingin, juga terhadap pH ekstrim, pestisida, pupuk dan waktu penyimpanan (Janisiewicz dan Roitman, 1988).

Pemenuhan nutrisi pada tanaman kedelai dapat dilakukan dengan cara pemupukan menggunakan bahan organik ataupun menggunakan bakteri. Isolat bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* mampu menyumbangkan nitrogen untuk pertumbuhan tanaman di sekitarnya (Tinendung, 2014). Unsur N merupakan unsur hara makro utama yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, diantaranya sebagai penyusun klorofil yang digunakan dalam proses fotosintesis (Suharno *et. al.*, 2007), selanjutnya digunakan untuk membentuk sel baru, pemanjangan sel, dan penebalan jaringan selama fase pertumbuhan vegetatif (Patti, dkk., 2013).

Fiksasi nitrogen oleh *rhizobacteria* sebagai *biofertilizer* dilakukan melalui mekanisme pembentukan bintil akar. Bakteri akan memperoleh nutrisi dari

tanaman secara langsung, sedangkan tanaman mendapatkan nitrogen. Nitrogen diperoleh karena bakteri-bakteri tersebut aktif melakukan fiksasi nitrogen bebas (gas  $N_2$ ) yang tidak dapat diserap oleh tanaman menjadi nitrogen yang tersedia dalam tanah dalam bentuk nitrat ( $NO_3^-$ ) dan ion ammonium ( $NH_4^+$ ). Kehidupan *rhizobacteria* di dalam tanah sangat dinamis, populasi dan aktivitasnya berubah-ubah dengan cepat untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan seperti suhu tanah, kelembaban tanah, juga ketersediaan makanan untuk pertumbuhannya. Untuk menjamin bahwa *rhizobacteria* senantiasa hadir di *rhizosphere* maka aplikasi secara berulang dianggap sebagai salah satu teknik yang paling sederhana dan tepat. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian guna mengkaji pengaruh *rhizobacteria* sebagai *biofertilizer* dan frekuensi aplikasi bakteri yang paling baik dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai sehingga dapat menjadi pedoman atau panduan dalam pengembangan tanaman kedelai yang berkelanjutan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah:

1. Mampukah *rhizobacteria P. fluorescens* dan *B. subtilis* memacu pertumbuhan tanaman kedelai?
2. Berapa frekuensi aplikasi *rhizobacteria* yang paling baik dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengkaji pengaruh *rhizobacteria P. fluorescens* dan *B. subtilis* sebagai *biofertilizer* dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai, baik diberikan secara tunggal maupun kombinasi.
2. Untuk mendapatkan frekuensi aplikasi *rhizobacteria* yang paling baik dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat, khususnya petani, dalam memanfaatkan bioteknologi ramah lingkungan untuk memacu pertumbuhan tanaman kedelai sesuai dengan konsep pertanian yang berkelanjutan dan mengurangi dampak negatif dari pemakaian pupuk maupun pestisida sintetik.
2. Dapat digunakan sebagai sumber informasi bagi peneliti untuk pengembangan penelitian PGPR lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kedelai

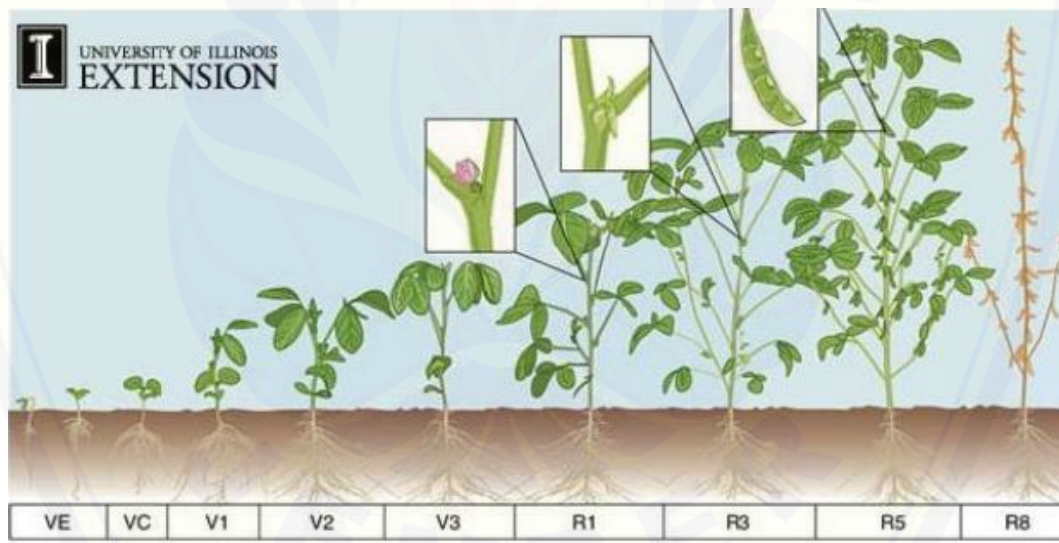
Tanaman kedelai pada awalnya dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* atau *Soja max*, lalu pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah yaitu *Glycine max* (L.) Merril. Tanaman ini merupakan tanaman semusim yang berasal dari Cina (Rante, 2013) dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyte
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rosales
Famili	: Leguminosae
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merril (Adisarwanto, 2005).

Sebagai tanaman famili *leguminosae*, kedelai memiliki sifat khusus yaitu mampu bersimbiosis dengan bakteri perakaran (*rhizobacteria*). Perakaran tanaman kedelai membentuk bintil yang merupakan koloni bakteri *Rhizobium japonicum*. Bakteri *rhizobium* memanfaatkan nitrogen yang tersedia di udara dan disumbangkan kepada tanaman inangnya. Unsur hara esensial nitrogen digunakan untuk pembentukan dan pertumbuhan bagian-bagian vegetatif (akar, batang, daun) dan generatif (produksi). Fiksasi nitrogen pada kedelai paling banyak dibutuhkan tanaman pada fase vegetatif dan akan menurun seiring bertambahnya umur tanaman kedelai. Pada fase vegetatif akhir atau mulai pembentukan biji (polong), kemampuan bintil akar dalam memfiksasi unsur hara nitrogen mulai berkurang. Hal ini disebabkan adanya kompetisi proses fotosintesis antara pembentukan biji dengan aktivitas bintil akar (Irwan, 2006).

Pada tanah yang mengandung bakteri *rhizobium* bintil akar mulai terbentuk sekitar 4-5 HST yaitu sejak terbentuknya akar tanaman dan dapat mengikat nitrogen dari udara pada umur 10-12 HST. Pada tanah yang belum pernah

ditanami kedelai, bakteri ini tidak terdapat dalam tanah sehingga bintil akar tidak terbentuk. Perkembangan akar tanaman kedelai sangat dipengaruhi oleh kondisi fisik dan kimia tanah, jenis tanah, cara pengolahan tanah, kecukupan unsur hara, serta ketersediaan air di dalam tanah (Rukmana dan Yuniarsih, 1995). Berdasarkan kebutuhan unsur hara nitrogen yang tinggi pada fase vegetatif, maka diperlukan aplikasi *rhizobacteria* pada saat sebelum tanam hingga fase vegetatif akhir yang ditandai dengan awal tanaman kedelai berbunga. Pemenuhan unsur hara nitrogen sebagai starter pada awal pertumbuhan kedelai perlu dilakukan untuk pertumbuhan mulai satu minggu sebelum penanaman. Pada keadaan tersebut, akar tanaman belum berfungsi sehingga tambahan nitrogen diharapkan dapat merangsang pembentukan akar untuk pembentukan bintil akar (Adisarwanto, 2005). Adapun stadia pertumbuhan tanaman kedelai dapat dilihat pada gambar 2.1.1 dibawah ini.



**Gambar 2.1.1.** Stadia pertumbuhan tanaman kedelai. VE: Stadium kecambah awal, VC: Stadium kecambah akhir, V1: Stadium vegetatif 1, V2: Stadium vegetatif 2, V3: Stadium vegetatif 3, R1: Stadium reproduktif awal, R3: Stadium reproduktif, R5: Stadium pembentukan polong, R8: Senesens (University of Illinois, 1992 ; Rukmana dan Yunirachman, 2014).

Tahapan pertumbuhan tanaman kedelai secara garis besar terdiri dari stadia pertumbuhan vegetatif dan pertumbuhan generatif. Stadia pertumbuhan vegetative dimulai dari perkecambahan yang dicirikan dengan adanya kotiledon hingga

tanaman berbunga. Stadia pertumbuhan vegetatif dapat ditandai dengan penambahan jumlah buku yang terbentuk pada batang utama serta tumbuhnya daun majemuk tiga helai daun (*trifoliolate leaves*) dengan ciri-ciri antara lain helai daun (*lamina*) oval dan tata letaknya pada tangkai daun bersifat majemuk (Rukmana dan Yuniarsih, 1995). Stadia pertumbuhan reproduktif awal dihitung sejak tanaman kedelai mulai berbunga sampai pembentukan polong, perkembangan biji dan pemasakan biji (Rukmana dan Yunirachman, 2014).

Kedelai dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang bertekstur gembur, lembab, tidak tergenang air dan memiliki pH 5,8-7,6 serta membutuhkan unsur hara yang cukup dan seimbang dengan sifat fisik tanah yang baik (Suprpto, 1998). Tanaman kedelai sangat cocok ditanam pada dataran rendah sampai tinggi (1-1000 m dpl), dengan curah hujan 100-200 mm/bulan. Suhu udara yang sesuai dengan pertumbuhan kedelai antara 22-27 °C, dimana pada suhu udara yang rendah (10 °C) akan menghambat proses pembungaan dan pembentukan polong. Suhu udara yang tinggi (40 °C) pada saat tanaman berbunga akan menyebabkan bunga rontok sehingga tidak membentuk polong maupun biji (Adisarwanto, 2005).

Tanaman kedelai dapat mengikat nitrogen ( $N_2$ ) di atmosfer melalui aktivitas bakteri pengikat nitrogen yaitu *R. japonicum*. Bakteri ini terbentuk di dalam akar tanaman yang disebut *nodule* atau bintil akar. Pada *nodule* terdapat leghemoglobin yang merupakan hemoprotein yang membawa oksigen di dalam bintil akar (Epstein et al., 2005). Ketersediaan nitrogen yang cukup bagi tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman kedelai secara langsung. Tanaman dapat berproduksi dengan lebih baik karena ketersediaan nitrogen dapat diperoleh dengan mudah. Pembentukan bintil akar pada tanaman kedelai dapat distimulus oleh PGPR. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Zhang et al. (2001) yang menyebutkan bahwa PGPR bukan pembentuk bintil akar mampu meningkatkan pembentukan bintil akar oleh bakteri bintil akar sebesar 2-4 kali lebih banyak dibandingkan bintil akar yang terbentuk tanpa simbiosis antara bakteri bintil akar dengan PGPR. Namun hal itu sangat tergantung kondisi lingkungan tanah dan suhu tanah.



## 2.2 Potensi *Rhizobacteria* sebagai *Biofertilizer*

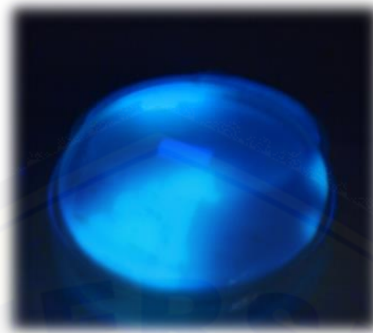
*Rizosphere* tanaman adalah tempat di mana aktivitas mikroba sangat tinggi, beberapa bakteri di zona tersebut dikenal sebagai *rhizobacteria*. Sebagian *rhizobacteria* secara aktif memanfaatkan nitrogen yang tersedia di udara dan hidup bersimbiosis pada akar tanaman dengan membentuk bintil akar pada tanaman inangnya (Kloepper *et al.* 1993). *Rhizobacteria* adalah bakteri yang hidup di daerah perakaran dan berperan penting dalam pertumbuhan tanaman, sehubungan dengan kemampuannya membentuk koloni di sekitar akar dengan cepat (Yunus dan Elemina, 2010). Fungsi *rhizobacteria* terhadap pertumbuhan tanaman antara lain (a) membantu dalam memperoleh nutrisi seperti unsur hara nitrogen dan fosfor, (b) mencegah perkembangbiakan pathogen, dan (c) menyediakan hormon tanaman seperti auksin dan sitokinin.

Keberadaan *rhizobacteria* pada perakaran tanaman dapat dikelompokkan berdasarkan tempat kolonisasinya yakni berada di permukaan akar (rizoplan) dan di dalam jaringan akar (endofit) (Soesanto, 2008). Penggunaan *rhizobacteria* sebagai *biofertilizer* memiliki beberapa keuntungan apabila dibandingkan dengan penggunaan pupuk kimia yaitu: (i) penggunaannya tidak menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan, (ii) tidak mengandung bahan beracun yang dapat menimbulkan residu pada rantai makanan, (iii) tidak memerlukan aplikasi berulang, karena mikroba dapat memperbanyak diri selama lingkungan mendukung perkembangannya, (iv) tidak menimbulkan efek samping terhadap organisme yang bermanfaat pada tanaman, dan (v) dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen (Gloud *et al.*, 1990).

## 2.3 Karakteristik Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

*Pseudomonas* merupakan salah satu genus dari famili *pseudomonaceae*. Bakteri ini dapat ditemukan pada bagian tanaman yakni permukaan daun dan akar. Biasanya juga dapat ditemukan pada sisa tanaman yang telah busuk, tanah dan air. Ciri khusus bakteri *P. fluorescens* yaitu memiliki kemampuan dalam menghasilkan suatu pigmen pyoverdin dan atau fenazin pada medium King's B

sehingga pada saat diamati di bawah sinar UV akan terlihat berpendar (Gambar 2.3.1.).



**Gambar 2.3.1.** Bakteri *P. fluorescens* dibawah sinar UV (Sumber: Majid, 2002)

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* tergolong dalam kingdom *bacteria*, ordo *pseudomonadales* berbentuk bulat dengan tepi rata. Pigmen tersebut membedakan bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *P. fluorescens* dengan kelompok lain. Medium King's B merupakan medium yang sedikit mengandung ion Fe, sehingga bakteri yang termasuk dalam kelompok *P. fluorescens* akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Siderofor dapat dideteksi dengan adanya pigmen warna kuning kehijauan dalam medium King's B. Pigmen tersebut menjadi terlihat lebih jelas apabila diamati di bawah lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 365 nm, bakteri berbentuk batang dengan ukuran lebar 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,5-4,0  $\mu\text{m}$  (Arwiyanto dkk, 2007).

#### **2.4 Karakteristik Bakteri *Bacillus subtilis***

*B. subtilis* adalah bakteri antagonis yang ditemukan di air, tanah, udara dan residu tanaman yang telah membusuk. Jika *B.subtilis* dibalutkan pada biji atau benih tanaman maka bakteri tersebut akan berkembang pada sistem perakaran tanaman (Muis, 2007). Ciri-ciri bakteri *Bacillus* spp. yakni sebagai bakteri gram positif, berbentuk batang, bersel satu, berukuran (0,5-2,5)  $\mu\text{m}$  x (1,0-1,2)  $\mu\text{m}$  (Gambar 2.4.1.). Bakteri *Bacillus* spp. bersifat aerob atau anaerob fakultatif dan katalase positif. *Bacillus* spp. Dapat bertahan pada suhu 5-75 °C dengan tingkat keasaman (pH) antara 2,5-8,0. Pada kondisi kurang yang menguntungkan, *Bacillus* spp. akan membentuk struktur tahan berupa endospora (Sumardi, 2009).



**Gambar 2.4.1.** Morfologi koloni bakteri *Bacillus subtilis* (Sumber: Majid, 2002)

Bakteri *Bacillus* mampu memanfaatkan berbagai bahan organik dan anorganik sebagai sumber karbon maupun sumber nitrogen. Pada kondisi lingkungan tertentu, kelompok bakteri ini membentuk endospora yang bisa membuatnya dorman (Madigan *et al.*, 1997). Sebagian besar spesies *Bacillus* bersifat kemoheterotrof dan termasuk ke dalam kategori mesofil dengan suhu optimum untuk tumbuhnya antara 30-45 °C. Pada waktu generasi di laboratorium, spesies *Bacillus* mencapai waktu 25 menit pada kondisi yang optimum untuk tumbuhnya (Todar, 2005).

## 2.5 Peranan Bakteri *P. fluorescens* dan Bakteri *B. subtilis*

*Pseudomonas* sp. merupakan bakteri yang dapat melarutkan posfat di dalam tanah sehingga menjadi tersedia bagi tanaman dengan cara menghasilkan asam-asam organik seperti asam format, asetat, propionate, glikolat, fumarat, dan suksinat dari dalam selnya (Yunus dan Elemina, 2010). Ketersediaan unsur hara P yang cukup akan meningkatkan kegiatan metabolisme tumbuhan yang berdampak pada peningkatan jumlah asimilat pada tanaman. Lakitan (2004) menyatakan bahwa meningkatnya jumlah unsur hara yang dapat diserap tanaman secara tidak langsung akan meningkatkan proses fotosintesis yang menghasilkan fotosintat.

Pada penelitian Tinendung, dkk. (2014) disebutkan bahwa unsur hara yang terdapat pada formulasi *Bacillus* sp. dengan limbah tahu lebih untuk mencukupi pertumbuhan tinggi tanaman padi. Tersedianya unsur hara N (0,04%) yang dapat diserap oleh tanaman membuat proses fisiologis tanaman berjalan lancar. Salah satu proses fisiologis yang terjadi yakni fotosintesis yang memerlukan klorofil

untuk menghasilkan karbohidrat. Hasil proses fotosintesis digunakan sebagai sumber energi dan bahan baku dalam pembentukan asam amino serta senyawa lainnya. Asam amino berperan untuk membentuk protein sebagai bahan penyusun inti sel dan pembelahan sel yang yang membutuhkan energi dalam bentuk ATP.

Nitrogen di dalam tanah berfungsi untuk pertumbuhan vegetatif tanaman. Tanaman yang kekurangan nitrogen memiliki batang kerdil, daun menguning dan pertumbuhan akar terbatas, sedangkan tanaman yang kelebihan nitrogen akan memperlambat proses pembuahan (Hardjowigeno, 2007). Selain itu, unsur nitrogen bagi tanaman memegang peranan penting terutama untuk pembentukan organ-organ vegetatif seperti daun, batang dan lain-lainnya. Semakin tinggi ketersediaan unsur nitrogen di dalam tanah maka semakin baik pula proses pembentukan organ vegetatifnya (utamanya daun). Daun ini berfungsi sebagai alat untuk proses asimilasi. Daun tanaman yang semakin banyak akan memberi peluang terhadap terjadinya peningkatan proses fotosintesis.

Kumar, *et al* (2011) menyatakan bahwa *Bacillus* sp. juga mempunyai kemampuan dalam melarutkan unsur posfor agar lebih tersedia bagi tanaman. Penggunaan *rhizobacteria* pelarut fosfat yang dapat mensubstitusi sebagian atau seluruh kebutuhan tanaman akan pupuk P dapat memberikan hasil positif terhadap pertumbuhan tanaman. Pelarutan fosfat ini disebabkan oleh bakteri yang menghasilkan enzim fosfatase yang dapat memutuskan fosfat yang terikat oleh senyawa-senyawa organik menjadi bentuk yang tersedia sehingga ketersediaan unsur P tanaman tercukupi (Vleeschauwer *et al.*, 2009; Koo & Cho dalam Sutariati, 2010).

Pertumbuhan tanaman kedelai perlu didukung oleh ketersediaan unsur hara nitrogen dan posfor yang cukup. Unsur hara nitrogen diperlukan tanaman dalam memacu pertumbuhan *foliage* (tajuk), sedangkan unsur hara posfor digunakan dalam merangsang pertumbuhan akar. Kedua unsur tersebut harus seimbang agar pertumbuhan tanaman optimal. Kesetimbangan kedua unsur tersebut di dalam tanah juga berpengaruh terhadap serapan keduanya oleh tanaman (Tabel 2.5.1.).

**Tabel 2.5.1.** Pengaruh jenis bahan perbaikan tanah terhadap N tanah, P tersedia tanah, serapan N tanaman dan serapan P tanaman.

Perlakuan	N Tanah	P Tersedia	Serapan N	Serapan P
A0=kontrol	6.47	19.12	492.75	45.45
A1=kapur	5.00	16.83	773.20	54.25
A2=lumpur laut	6.48	31.67	199.85	13.55
A3=kapur+lumpur Laut	5.69	21.54	323.55	28.95
A4= <i>Bradyrhizobium</i>	6.05	19.35	578.25	48.45
A5=mos	5.14	19.62	496.50	48.65
A6=mikoriza isolat tanah gambut	6.13	22.24	584.90	54.20
A7=mikoriza isolat tanah mineral	6.95	26.49	557.05	65.15
A8= <i>Bradyrhizobium</i> +Mos	5.22	17.88	700.10	51.10
A9= <i>Bradyrhizobium</i> +mikoriza isolat tanah gambut	5.18	18.28	584.10	63.10
A10=mos+mikoriza isolat tanah gambut	6.55	15.59	545.30	57.40
A11= <i>Bradyrhizobium</i> +mos mikoriza isolat tanah gambut	3.76	13.99	908.15	86.85
A12= <i>Bradyrhizobium</i> +mos mikoriza isolat tanah mineral	4.63	16.76	727.35	74.30

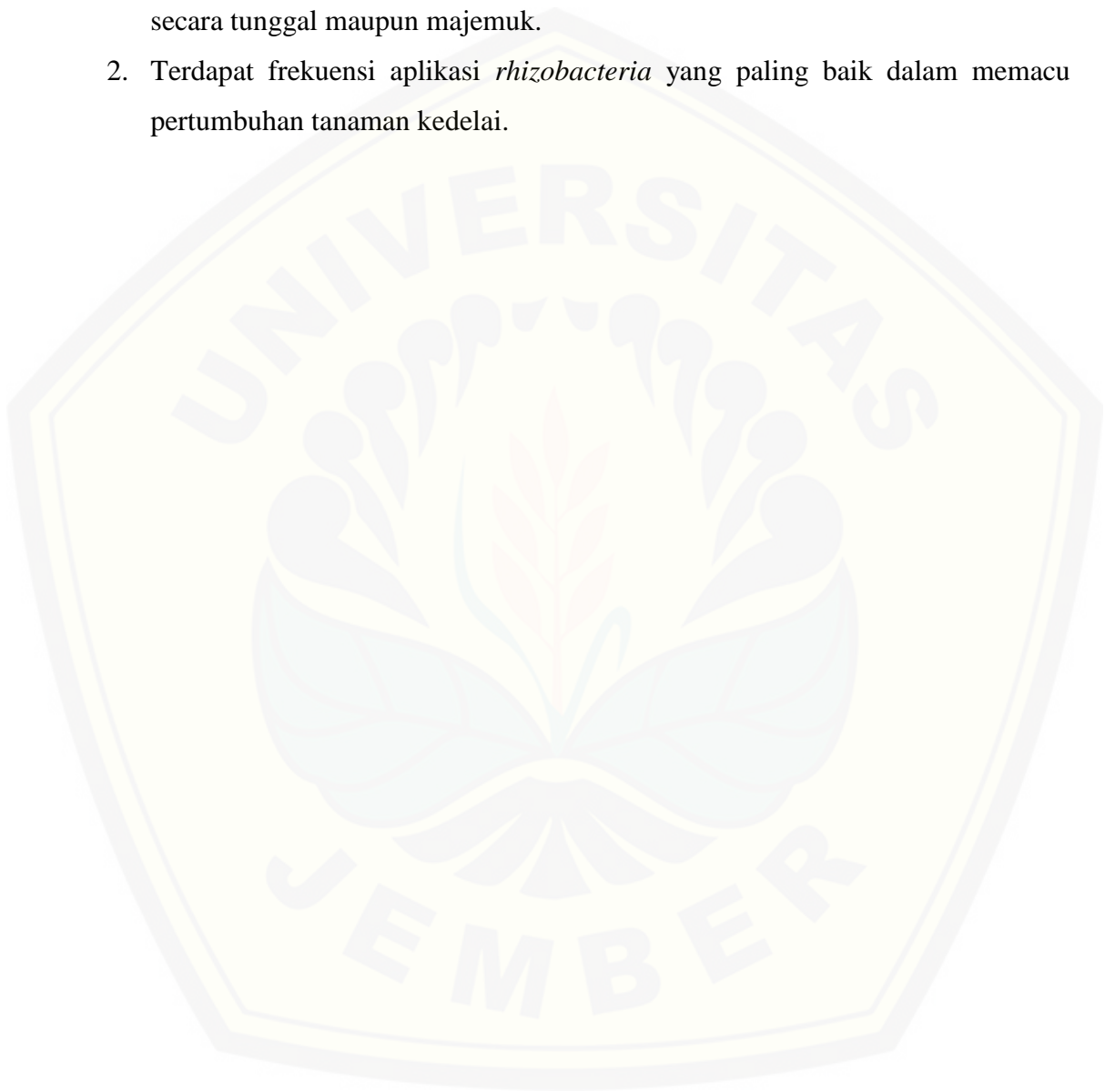
(Sumber: Nurhayati, 2011).

Tabel 2.5.1 di atas menunjukkan bahwa jika unsur nitrogen tinggi maka serapan nitrogen juga tinggi, sedangkan unsur posfor yang tinggi juga serapan posfor tinggi pula. Hal ini menunjukkan bahwa antara serapan N dan P sinergis. Pemberian kapur dolomite dan *Bradyrhizobium*+mos+mikoriza isolat tanah gambut menghasilkan serapan N dan serapan P yang tertinggi. Penyerapan N tinggi ini terjadi karena adanya *rhizobium native* dan aktivitasnya dapat meningkat dengan pengapuran, sehingga mampu meningkatkan ketersediaan Ca, Mg, P dan Mo (Nurhayati, 2011).

## 2.6 Hipotesis

Hipotesis penelitian yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh *rhizobacteria* *P. fluorescens* dan *B. subtilis* sebagai *biofertilizer* dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai, baik diberikan secara tunggal maupun majemuk.
2. Terdapat frekuensi aplikasi *rhizobacteria* yang paling baik dalam memacu pertumbuhan tanaman kedelai.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian mengenai “Pemanfaatan *Rhizobacteria* sebagai *Biofertilizer* untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)” telah dilaksanakan di rumah kaca (*greenhouse*) Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Desember 2014 sampai dengan Maret 2015.

### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolat bakteri *B. subtilis* dan *P. fluorescens* koleksi Ir. Abdul Majid, MP. dari Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember, media NA (*Nutrient Agar*), pepton, *polybag*, media tanam, *rockphosphate*, benih kedelai varietas Wilis.

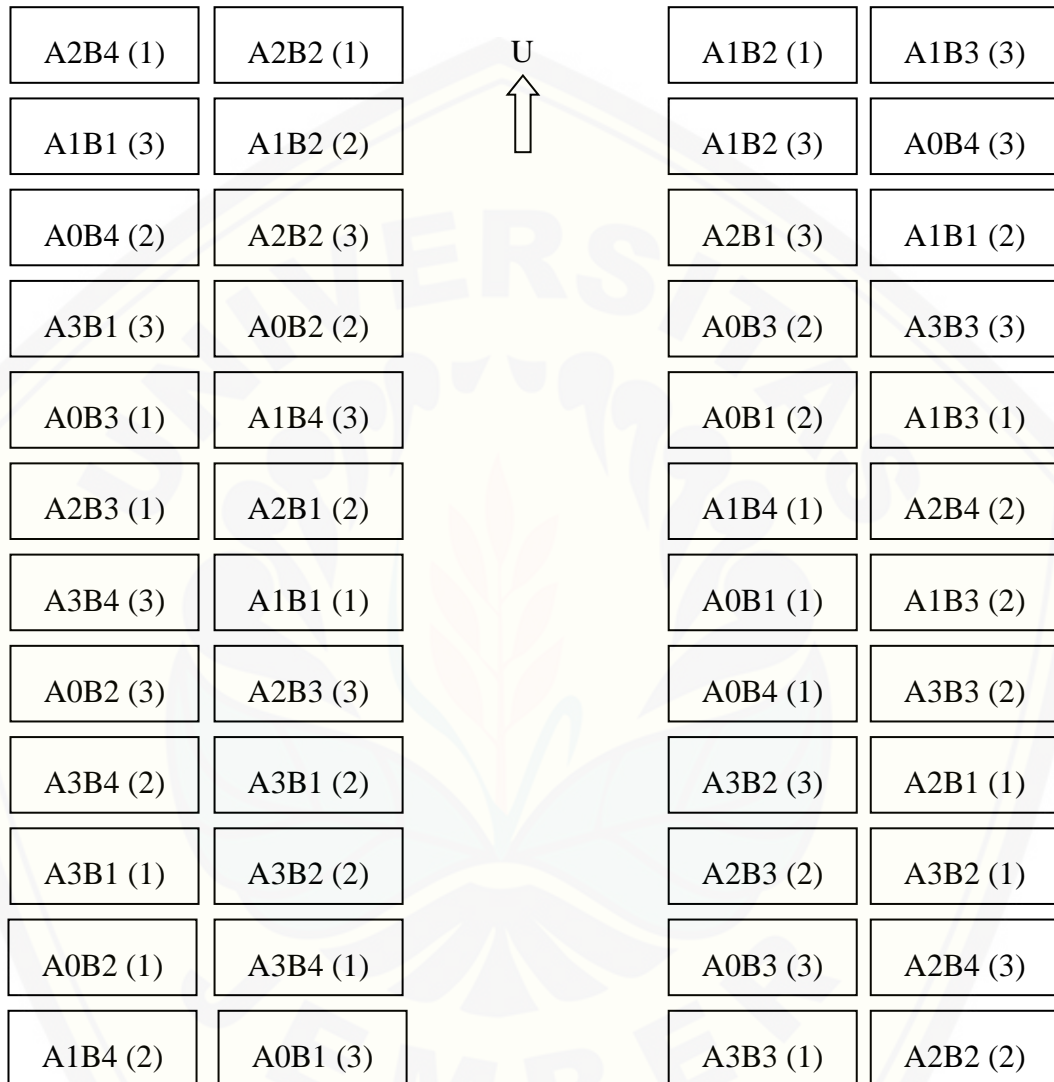
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung reaksi, pipet, *autoclave*, jarum ose, cawan petri, *petridish*, bunsen, mikroskop, *colony counter*, *hand counter*, gelas ukur, timbangan analitik, termometer bola basah dan bola kering, dan *chlorophyllmeter* SPAD-502 Minolta.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri atas dua faktor. Adapun faktor pertama (A) adalah aplikasi *rhizobacteria* yang terdiri dari 4 taraf yaitu: tanpa perlakuan atau kontrol (A0), isolat *P. fluorescens* (A1), isolat *B. subtilis* (A2), dan kombinasi bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* (A3).

Faktor kedua (B) adalah frekuensi aplikasi yang terdiri dari empat taraf yaitu: aplikasi dilakukan satu kali pada 7 hari sebelum tanam (B1), aplikasi dilakukan dua kali pada 7 hari sebelum tanam dan pada saat tanam (B2), aplikasi dilakukan tiga kali pada 7 hari sebelum tanam, pada saat tanam dan 7 hari setelah tanam (B3), dan aplikasi dilakukan empat kali pada 7 hari sebelum tanam, pada saat tanam, 7 hari setelah tanam dan 14 hari setelah tanam (B4).

Masing-masing kombinasi perlakuan (AB) tersebut diulang tiga kali dan pada tiap ulangan terdapat 3 tanaman contoh. Satuan percobaan terdapat 48 polybag tanam dengan tata-letak seperti pada Gambar 3.3.1.



**Gambar 3.3.1.** Tata-letak tanaman dalam penelitian

Keterangan:

(1): Ulangan 1,

(2): Ulangan 2,

(3): Ulangan 3

Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA). Jika hasil analisis data menunjukkan berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan taraf kepercayaan 95%.



### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Peremajaan Isolat Bakteri *P. fluorescens* dan Bakteri *B. subtilis*

Peremajaan isolat bakteri dilakukan untuk memperbaiki kualitas isolat yang telah lama tersimpan sehingga bisa dimanfaatkan dengan maksimal. Isolat bakteri *P. fluorescens* dan bakteri *B. subtilis* diremajakan dengan cara menggoreskan bakteri dari *cup* dengan menggunakan jarum ose pada media NA.

#### 3.4.2 Inokulasi Isolat Bakteri *B. subtilis* dan Bakteri *P. fluorescens*

Pengujian ini untuk mengetahui seberapa besar kemampuan isolat unggul dari hasil seleksi laboratorium dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kedelai di lahan percobaan. Masing-masing isolat antagonis unggul dibiakkan dalam 250 mL medium air pepton 0,6% selama 48 jam sambil digojok. Setelah itu kultur dipanen dengan menambahkan H<sub>2</sub>O steril hingga konsentrasi bakteri antagonis masing-masing  $2.10^8$  CFU/ml.

#### 3.4.3 Persiapan Media Tanam dan Benih

Persiapan media tanam dilakukan pada awal pelaksanaan penelitian yaitu mempersiapkan media tanam berupa tanah, pupuk kandang, dan pasir. Tanah yang diambil berupa tanah *top soil*. Media tanam yang telah disediakan kemudian dicampur dengan perbandingan 1:1:1 hingga rata, lalu dimasukkan ke dalam *polybag* yang berukuran 25x25 cm sebanyak 3 kg tiap *polybag*. Media tanam yang telah siap kemudian diberi pupuk *rockphosphate* sebanyak 10 g tiap *polybag*.

#### 3.4.4 Penanaman Benih Kedelai pada *polybag*

Kegiatan penanaman dimulai dengan pembuatan 5 (lima) lubang pada *polybag* yang telah diisi media tanam sedalam 2-3 cm, kemudian memasukkan benih kedelai varietas Wilis sebanyak 1 (satu) benih dalam setiap lubang. Sebelum benih ditanam dalam *polybag*, media tanam disiram hingga kapasitas lapang untuk memudahkan penanaman. Setelah penanaman benih selanjutnya

disiram kembali untuk merekatkan benih pada media. Penjarangan dilakukan pada umur satu minggu setelah tanam hingga tersisa 3 tanaman dalam setiap *polybag*.

### 3.4.5 Pemeliharaan Bibit

Pemberian air dilakukan dengan penyiraman *polybag* menggunakan timba kecil yang telah diisi air dengan memperhatikan kondisi tanah dan tanaman untuk mencukupi kebutuhannya. Pemberian air dilakukan setiap 2 (dua) hari sekali mulai dari awal tanam sampai fase vegetatif akhir untuk mendapatkan kondisi media tanam yang sesuai dengan pertumbuhan tanaman kedelai. Penyiangan gulma dilakukan secara mekanik setiap terlihat adanya gulma, untuk mencegah kompetisi antara gulma dengan tanaman kedelai dan hilangnya unsur hara. Pemberian mulsa jerami diberikan ketika tanaman kedelai terserang lalat bibit (*Ophiomya phaseoli*) dengan ketebalan  $\pm 2$  cm pada tiap *polybag*. Pengendalian hama lalat bibit (*O. phaseoli*) menggunakan pestisida kimiawi merk dagang *regent*. Pestisida *regent* dituang sebanyak  $\pm 2-2,5$  ml kedalam *sprayer* ukuran 1 L lalu dilakukan penyemprotan pada tanaman kedelai yang terserang. Pemasangan ajir dilakukan pada umur tanaman 25 HST, dengan cara mengikat batang tanaman kedelai menggunakan tali rafia pada ajir agar tanaman tidak roboh. Ajir tersebut menggunakan bambu yang ditancapkan pada tiap *polybag*. Pemanenan tanaman kedelai dilakukan pada akhir fase vegetatif yaitu saat muncul bunga pada umur 35 HST.

### 3.5 Pengumpulan Data

Data diperoleh dengan melakukan pengukuran dan penghitungan terhadap:

#### 1. Kandungan N-jaringan (%)

Analisis N-jaringan dilakukan untuk mengetahui kadar unsur hara nitrogen yang terdapat di dalam jaringan tanaman percobaan. Analisis N-jaringan dilakukan pada akhir pengamatan menggunakan metode Kjeldahl dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Menyiapkan alat dan bahan
- b. Menimbang 0,250 g contoh tanaman dalam tabung digestion (50 mL)
- c. Menambahkan 5 mL  $H_2SO_4$  lalu membiarkan satu malam untuk diperarang

- d. Memanaskan dalam *blok digestion* dengan suhu pemanasan secara bertahap keesokan harinya selama :
  - 5 menit pada suhu 300°C
  - 5 menit pada suhu 450°C
  - 5 menit pada suhu 600°C
- e. Mengangkat dan mendinginkan sampel lalu menambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebanyak 0,5 mL secara berulang hingga mendapatkan ekstrak jernih.
- f. Mendinginkan dan mengencerkan tabung yang telah diberi ekstrak dengan *aquadest* hingga 50 mL, kemudian mengocok sampai homogen.
- g. Memipet 10 mL ekstrak contoh lalu masukkan dalam labu didih.
- h. Menyiapkan penampung untuk NH<sub>3</sub> yang dibebaskan yakni *erlenmeyer* yang berisi 15 mL asam borat 1% (1 g dalam 100 mL) dan menambahkan 3 tetes *conway* lalu hubungkan dengan alat destilasi.
- i. Menambahkan NAOH 40% sebanyak 10 mL ke dalam labu didih yang diberi ekstrak contoh dan secepatnya ditutup pada alat destilasi.
- j. Melakukan destilasi hingga volume penampung mencapai 50-70 mL (berwarna hijau) kemudian melakukan titrasi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>5</sub> 0,050 N hingga berwarna merah muda.
- k. Mencatat volume titrasi contoh (V<sub>c</sub>) dan blanko (V<sub>b</sub>)

$$\text{Kadar N (\%)} : (V_c - V_b) \times N \times 2,8 \times f_k$$

Keterangan:

V<sub>c</sub> : volume contoh

V<sub>b</sub> : volume blanko

N : normalitas larutan baku H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0,05

f<sub>k</sub> : faktor koreksi kadar air = 100/(100 - % kadar air)

## 2. Kandungan klorofil (μmol/m<sup>2</sup>)

Pengukuran kandungan klorofil dilakukan menggunakan *chlorophyllmeter* SPAD-502 Minolta yang terdapat pada tiap daun termuda yang telah berkembang penuh pada setiap tanaman contoh yang diukur sebanyak 2-3 kali. Pengamatan dilakukan pada saat umur tanaman 28 HST dan 35 HST.