

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan anggota familia dari rumput-rumputan (*Graminae*) yang merupakan tanaman asli tropika basah namun dapat tumbuh dan berkembang di daerah sub tropika pada berbagai jenis tanah dari dataran rendah hingga ketinggian 1400 mdpl. Tebu merupakan tanaman yang dibudidayakan sebagai tanaman peghasil gula yang mengandung banyak karbohidrat. Tanaman tebu diperbanyak secara vegetatif dalam bentuk bagal, namun pada saat ini berkembang metode pembibitan mata ruas tunggal dan mata tunas tunggal (Adrian et al., 2019).

Tebu merupakan salah satu komoditas perkebunan yang berperan penting dalam perekonomian di Indonesia. Luas perkebunan tebu di Indonesia pada tahun 2023 mencapai 504,8 ribu hektar. Produksi tanaman tebu pada tahun 2023 mencapai 2.271 ribu ton per hektar (BPS, 2024). Penyediaan tebu harus selalu terpenuhi karena merupakan bahan baku pembuatan gula, sehingga permintaan gula berdampak langsung dalam pengembangan perkebunan tebu. Hal ini menjadi sebuah permasalahan karena konsumsi gula nasional masih belum bisa diimbangi oleh produksi gula nasional (Yusvianto dan Kuntadi, 2022).

Produksi gula tebu di Indonesia pada tahun 2022 sebesar 2,40 juta ton. Kebutuhan gula konsumsi dan industri di Indonesia mencapai sekitar 7,3 juta ton per tahun, terdiri dari 3,2 juta ton gula konsumsi (GKP) dan 4,1 juta ton gula industri (GKR) (BPS, 2023). Akan tetapi produksi gula belum mampu untuk mengimbangi kebutuhan gula dalam negeri, sehingga Indonesia harus mengimpor gula dari beberapa negara. Pada tahun 2023, volume impor gula Indonesia dari luar negeri mencapai 5,07 juta ton. Salah satu permasalahan dalam memproduksi gula di Indonesia adalah rendahnya produktivitas tebu. Produktivitas tebu sangat dipengaruhi oleh penggunaan varietas, sistem pertanaman, pengendalian hama dan penyakit serta kualitas bibit (Endrizal dan Meilin, 2022).

Bibit tebu memiliki peranan besar terhadap peningkatan produksi gula. Bibit yang baik memiliki tingkat pertumbuhan dan ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit serta rendemen gula yang tinggi. Namun untuk mendapatkan bibit dengan kriteria tersebut diperlukan waktu yang cukup lama yaitu 5-7 bulan. Sedikitnya ketersediaan lahan menyebabkan kebutuhan lahan untuk pembibitan semakin sulit, sehingga diperlukan teknologi penyediaan bibit dalam waktu singkat, tidak membutuhkan tempat yang luas dan mampu menghasilkan bibit yang berkualitas. Adapun teknik yang dapat dilakukan adalah teknik *Bud Chip*. *Bud Chip* merupakan teknik pembibitan tebu yang diperoleh dari batang tebu dalam bentuk stek satu mata tunas dengan panjang stek kurang lebih 5 cm dengan posisi mata terletak di tengah-tengah dari panjang stek dan pengurangan areal pembibitan (Dianarafah et al., 2023).

Rendahnya produktivitas tebu juga disebabkan oleh penerapan teknis budidaya tebu yang belum berjalan dengan baik khususnya pada pemupukan. Pemupukan menjadi faktor yang sangat penting untuk diperhatikan karena ketersediaan hara dalam tanah terbatas, sehingga semakin banyak unsur hara yang disediakan oleh media tanam akan mencukupi kebutuhan tanaman. Tingginya kebutuhan unsur hara pada tanaman tebu menyebabkan penurunan yang cepat akan unsur hara dalam tanah. Dalam hal ini, pemupukan yang cukup merupakan syarat penting untuk mendapatkan hasil yang optimal. Tanah yang subur tidak dapat menyediakan unsur hara yang cukup secara terus-menerus dalam jangka waktu yang panjang, sehingga penambahan unsur hara dapat diberikan melalui pemupukan (Maulana, 2023).

Pemupukan merupakan upaya untuk menambah unsur hara ke dalam tanah dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas tanah sebagai penyuplai hara bagi tanaman. Pemupukan berperan penting dalam usaha meningkatkan produksi tanaman (Akbar et al., 2021). Tidak semua media tanam memiliki tingkat kesuburan yang sama, oleh sebab itu dibutuhkan penambahan unsur hara dari luar melalui pemupukan. Pemupukan harus diperhatikan untuk memenuhi ketersediaan hara dalam tanah yang terbatas. Dalam budidaya tebu, pupuk yang diberikan harus sesuai dengan kebutuhan tanaman dan ketersediaan hara dalam tanah, sehingga setiap lokasi budidaya membutuhkan dosis pupuk yang berbeda. Pemupukan yang diberikan secara berlebih akan menurunkan produktivitas maupun rendemen tebu (Hartatie et al., 2021).

Tanaman yang kebutuhan pupuknya tidak tercukupi maka pertumbuhannya tidak akan optimal sehingga bisa menurunkan nilai produksi. Tanaman tebu termasuk tanaman yang mempunyai kebutuhan unsur hara yang tinggi, maka persediaan unsur hara dalam tanah relatif cepat berkurang. Salah satu unsur hara penting yang dibutuhkan oleh tanaman tebu untuk menunjang pertumbuhannya adalah unsur Kalium (K). Pemberian unsur kalium sangat penting untuk menentukan pertumbuhan dan hasil tanaman tebu. Kalium dapat menentukan panjang batang yang dapat digiling dan jumlah batang anakan (Syavitri et al., 2019).

Pupuk Kalium Nitrat ( $\text{KNO}_3$ ) merupakan salah satu pupuk kimia dengan kombinasi senyawa kalium ( $\text{K}^+$ ) dan nitrogen ( $\text{NO}_3$ ) yang berimbang. Pupuk ini sangat efektif digunakan karena kebutuhan unsur K dan N mampu diberikan dengan satu kali pengaplikasian. Kandungan  $\text{K}_2\text{O}$  pada  $\text{KNO}_3$  yaitu 14-15 % dan N 15%. Pupuk ini berperan penting dalam membantu pertumbuhan vegetatif tanaman karena mengandung unsur hara makro yaitu nitrogen dan kalium yang mampu meningkatkan proses fotosintesis dalam laju metabolisme tanaman. Kebutuhan akan unsur hara nitrogen dan kalium pada masa vegetatif lebih banyak dibandingkan unsur hara lainnya karena kedua unsur tersebut digunakan dalam waktu yang relatif singkat untuk meningkatkan laju pertumbuhan terutama dalam pembentukan akar, daun dan batang. Selain itu, unsur K juga dapat mengikat N jika terdapat kelebihan unsur N pada tanaman (Usodri dan Utoyo, 2021). Hasil penelitian Siregar et al. (2016), menyatakan bahwa pemberian pupuk  $\text{KNO}_3$  meningkatkan pertumbuhan pada fase vegetatif tanaman. Peningkatan pertumbuhan tersebut disebabkan karena

kandungan unsur hara N dan K pada pupuk  $\text{KNO}_3$  yang mampu untuk meningkatkan proses fotosintesis dalam laju metabolisme tanaman.

Penggunaan pupuk  $\text{KNO}_3$  dipilih berdasarkan kelebihanannya yaitu diserap dengan mudah oleh tanaman sehingga pertumbuhan lebih cepat dan seragam, dapat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit, serta panen menjadi lebih serentak (Sihombing et al., 2022). Berdasarkan penelitian Atsari (2024), bahwa Pupuk  $\text{KNO}_3$  dengan dosis 3 g/polibag memberikan pengaruh terbaik terhadap Tinggi Tanaman tertinggi (20,42 cm), diameter batang terbesar (17,05 mm), dan jumlah daun terbanyak (7,85 helai).

Selain pemupukan, pemberian *Actinomycetes* juga bermanfaat dalam siklus nutrisi karena dapat meningkatkan unsur hara dalam tanah. *Actinomycetes* merupakan sekumpulan bakteri bersifat uniseluler yang dapat digunakan sebagai antibiotik pada perakaran tanaman dalam tanah. Manfaat *Actinomycetes* erat kaitannya dengan pengembalian unsur hara dalam tanah. Bakteri ini mampu mendekomposisi bahan organik pada tanah dan bagian penting dalam perputaran bahan organik dan siklus karbon, dibutuhkan dalam siklus nutrisi dalam tanah, dan merupakan bagian penting dari pembentukan humus tanah, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Selain itu, juga mampu untuk melarutkan unsur P terikat karena mampu meningkatkan dan menjaga kesuburan tanah (Wahyuningrum et al., 2021).

*Actinomycetes* dikenal sebagai mikroorganisme komersial yang dapat menghasilkan antibiotik dan metabolit bermanfaat lainnya yang dapat mendorong pertumbuhan produksi tanaman. *Actinomycetes* membentuk asosiasi dengan beberapa tanaman non kacang-kacangan dan memfiksasi N yang kemudian tersedia untuk inang dan tanaman lain di sekitarnya. *Actinomycetes* yang mengkolonisasi akar dapat mempengaruhi nodulasi akar pada tanaman dengan meningkatkan frekuensi nodulasi akar. Kolonisasi ini mengarahkan pada peningkatan ukuran rata-rata nodul yang terbentuk dan meningkatkan kekuatan bakterioid yang menghasilkan warna merah didalam nodul dengan meningkatkan asimilasi besi nodular dan unsur hara lainnya (Sahur et al., 2018). Hasil penelitian Bahrin et al. (2024), bahwa perlakuan konsorsium *Actinomycetes* dan mikoriza yaitu  $10^6$  CFU (234 koloni) + 15 gr mikoriza memberikan pengaruh terbaik pada berat akar basah, berat akar kering dan berat batang kering tanaman tebu.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilaksanakan penelitian untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh pemberian *Actinomycetes* dan Pupuk  $\text{KNO}_3$  terhadap pertumbuhan bibit tanaman tebu.

## 1.2 Landasan Teori

### 1.2.1 *Actinomycetes*

*Actinomycetes* adalah bakteri gram-positif berbentuk batang yang dapat hidup secara anaerob maupun fakultatif. Bakteri ini memiliki filamen halus yang disebut hifa atau miselium, menyerupai struktur pada jamur. Selain itu, pada hifa yang tumbuh tegak, *Actinomycetes* juga membentuk konidia (Pujiati, 2014). Keunggulan utama

*Actinomycetes* adalah kemampuannya untuk mengurangi jumlah pupuk kimia yang sering digunakan secara berlebihan. Pendekatan ini hemat ruang dan pendek, menjadikannya solusi yang efektif untuk berbagai masalah kesehatan tanaman (Hariskrishnan et al., 2014).

*Actinomycetes* berperan penting bagi tanaman karena dapat melindungi akar dengan menghambat pertumbuhan jamur patogen. Kemampuan ini didasarkan pada produksinya terhadap antibiotik secara *in vitro*. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* memiliki beragam kegunaan, termasuk dalam pembuatan antibiotik, enzim, agen antitumor, inhibitor enzim, biosurfaktan, dan lainnya (Oktavianti dan Salsabila, 2024). *Actinomycetes* juga memiliki banyak kemampuan yang dapat melarutkan fosfat, antagonis terhadap jamur patogen tanaman dan pemacu pertumbuhan tanaman. *Actinomycetes* juga dapat dijadikan sebagai biofertilizer karena mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta kemampuan antifungal. Selain itu, *Actinomycetes* juga berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan auksin yaitu indole acetic acid (IAA) menghasilkan giberelin dan sitokinin (Anggriani et al., 2018).

Menurut Sahur (2018), bahwa berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan dari 56 isolat yang ditumbuhkan pada media Burk N-bebas diperoleh 13 isolat yang mampu tumbuh pada media tersebut. Hal tersebut didukung dengan adanya beberapa penelitian yang menemukan bahwa bakteri yang mampu tumbuh pada media Burk-N bebas dikategorikan sebagai bakteri yang mampu memfiksasi N. Maka bisa dikatakan bahwa *actinomycetes* mampu membantu dalam penyediaan unsur hara N menjadi tersedia. Hasil penelitian Sahur et al. (2022), menunjukkan bahwa Koloni terbaik *Actinomycetes* yang memberi pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan bibit tanaman tebu yaitu pada perlakuan a1 ( $10^4$  CFU/ml *actinomycetes*). Pemberian  $10^5$  CFU/ml *Actinomycetes* diduga mampu meningkatkan perkembangan akar yang dapat menghasilkan laju pertumbuhan panjang akar tertinggi dibandingkan tanpa pemberian *Actinomycetes*.

*Actinomycetes* juga mampu menahan kelebihan unsur hara mikro seperti besi ( $\text{Fe}^+$ ) agar tanaman tidak keracunan karna bakteri ini mampu menghasilkan siderofor. Hal ini sesuai dengan pendapat Sahur (2018), bahwa Siderofor sangat berperan dalam menyerap besi dari lingkungan dan sebagai penyedia mineral mineral yang penting bagi sel mikroba. Bakteri penghasil *siderophore* dalam mengikat  $\text{Fe}^{3+}$ , proses mekanisme kerja *siderophore* terjadi melalui perkembangan yang sangat cepat dari bakteri yang menkolonisasi akar tanaman dan memindahkan besi di daerah permukaan akar serta terciptanya kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan akar.

### 1.2.2 Pupuk $\text{KNO}_3$

$\text{KNO}_3$  merupakan salah satu jenis pupuk anorganik mengandung unsur K yang dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan kalium pada tanaman. Pupuk anorganik yang dapat meningkatkan produktivitas tanaman apabila digunakan secara tepat salah satunya adalah pupuk  $\text{KNO}_3$ , namun jika digunakan secara berlebihan akan merusak lingkungan (Utomo dan Suprianto, 2019). Kalium dalam

$\text{KNO}_3$  berperan sebagai penyeimbang ketika tanaman mengalami kelebihan nitrogen. Selain itu, unsur K juga berkontribusi dalam meningkatkan sintesis dan distribusi karbohidrat yang berdampak pada penebalan dinding sel, penguatan batang, serta peningkatan kadar gula.

Pupuk  $\text{KNO}_3$  merah merupakan pupuk sumber unsur kalium dan nitrogen. Kandungan unsur hara K pada pupuk  $\text{KNO}_3$  merah lebih sedikit dibandingkan  $\text{KNO}_3$  putih. Unsur utama yang terkandung dalam  $\text{KNO}_3$  merah yaitu nitrogen, kalium, natrium dan boron. Pengaplikasian untuk pupuk ini dapat dilakukan dengan cara pengocoran pada tanah maupun penyemprotan pada daun (Wijayanto dan Sucahyo, 2019). Pupuk ini mudah larut dalam air dan bersifat netral, sehingga sangat baik digunakan untuk memenuhi unsur hara kalium pada tanaman yang sensitif clorida dan sangat cocok digunakan pada tanah asam karena tidak menjadikan keasaman pada tanah.

Aplikasi pupuk  $\text{KNO}_3$  dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada fase vegetatif. Pertumbuhan ini meningkat karena kandungan hara N dan K dalam pupuk  $\text{KNO}_3$  yang berperan dalam mempercepat proses fotosintesis serta mendukung laju metabolisme tanaman (Usodri dan Utoyo, 2021). Unsur N dan K memiliki peran penting selama fase vegetatif dalam mendukung pertumbuhan serta pembentukan batang, cabang, dan daun. Selain itu, K juga berfungsi mengikat N apabila terjadi kelebihan unsur N pada tanaman. Jika ketersediaan K dalam tanah terbatas selama masa pertumbuhan, maka hasil produksi dapat menurun secara signifikan (Pangestu et al., 2023).

Peranan unsur hara K pada pupuk  $\text{KNO}_3$  juga saling melengkapi dan memberikan peranan serta penunjang pertumbuhan tanaman. Kalium diserap tanaman dalam bentuk  $\text{K}^+$ , ion ini disalurkan dari organ dewasa ke organ muda. Nitrogen diserap tanaman dalam bentuk  $\text{NO}_3^-$ , ion ini diperlukan untuk pertumbuhan tunas, pembentukan klorofil dan berpengaruh penting terhadap peningkatan hasil produksi. Nitrogen dan Kalium juga secara langsung maupun tidak langsung akan terlibat dalam produksi zat aktif tanaman. Selain itu, peran unsur kalium (K) lainnya adalah memperkuat tubuh tumbuhan dan membuat daun, bunga dan buah sulit rontok (Usodri et al., 2021).

### 1.3 Hipotesis

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka hipotesis penelitian ini yaitu:

1. Terdapat interaksi antara jumlah koloni *Actinomyces* dan dosis pupuk  $\text{KNO}_3$  yang berbeda dengan perlakuan lainnya terhadap pertumbuhan bibit tebu.
2. Terdapat salah satu jumlah koloni *Actinomyces* yang berbeda dengan perlakuan lainnya terhadap pertumbuhan bibit tebu.
3. Terdapat salah satu dosis pupuk  $\text{KNO}_3$  yang berbeda dengan perlakuan lainnya terhadap pertumbuhan bibit tebu.

#### 1.4 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh pemberian *Actinomyces* dan pupuk  $\text{KNO}_3$  dengan menganalisis pertumbuhan bibit tanaman tebu.

Adapun manfaat pada penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan informasi tentang manfaat penggunaan *Actinomyces* dan pupuk  $\text{KNO}_3$  terhadap pertumbuhan bibit tanaman tebu.

## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Biosainsce and Biotechnologi* dan Kebun Percobaan (*Experimental Farming*), Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan. Penelitian ini berlangsung pada bulan Juni 2024 – Januari 2025.

#### 2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bibit tebu varietas Kidang Kencana (KK), sampel tanah perakaran tebu, aquades, alkohol 70%, nutrient broth, agar-agar,  $K_2HPO_4$ , *yeast extract*, kompos, pupuk  $KNO_3$  merah, aluminium foil, dan wrapping.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cangkul, pisau, meteran, mikroskop nikon eclipse, *Content Chlorofil Meter* (CCM 200<sup>+</sup>), cawan petri, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, timbangan analitik, bunsen, alat tulis menulis, *Erlenmeyer*, batang pengaduk, autoklaf, oven, gunting, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung, sprai, wadah, mortar, jarum ose, jangka sorong, penggaris, kalkulator, dan kamera.

#### 2.3. Metode Penelitian

Penelitian disusun dalam Rancangan Petak Terpisah (RPT).

Petak utama adalah pemberian pupuk  $KNO_3$  yang terdiri atas:

k0 = tanpa pemberian pupuk  $KNO_3$  (kontrol)

k1 = 3 g/L

k2 = 6 g/L

Anak petak adalah pemberian *Actinomycetes*

a0 = tanpa pemberian *Actinomycetes* (kontrol)

a1 =  $10^6$  CFU/mL *Actinomycetes*

a2 =  $10^7$  CFU/mL *Actinomycetes*

a3 =  $10^8$  CFU/mL *Actinomycetes*

Pada percobaan diatas diperoleh 12 kombinasi yang diulang sebanyak 3 kali, dan setiap kombinasi terdapat 4 unit tanaman percobaan sehingga jumlah tanaman yang digunakan sebanyak 144 unit tanaman percobaan. Berikut kombinasi perlakuan yang diperoleh:

|      |      |      |
|------|------|------|
| k0a0 | k1a1 | k2a2 |
| k0a1 | k1a2 | k2a3 |
| k0a2 | k1a3 | k2a0 |
| k0a3 | k1a0 | k2a1 |

## 2.4. Pelaksanaan Penelitian

### 2.4.1 Pelaksanaan Penelitian di Laboratorium

- a. Pembuatan Media *Tap Water Yeast Extract* (TWYE)
  1. Siapkan alat dan bahan untuk membuat media *Tap Water Yeast Extract* (TWYE).
  2. Timbang bahan yang terdiri atas 0,07 gr *yeast extract*, 0,13 gr  $K_2HPO_4$ , dan 10 gr agar-agar.
  3. Masukkan bahan tersebut kedalam *erlenmeyer*, tambahkan aquades sebanyak 500 ml, kemudian aduk hingga seluruh bahan larut.
  4. Panaskan media TWYE dengan menggunakan *hot plate* hingga butiran bahan-bahannya larut.
  5. Homogenkan media diatas *hot plate*, lalu disterilisasi menggunakan *autoklaf* pada suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit. Kemudian media yang telah disterilisasi didinginkan hingga suhu mencapai  $\pm 45-50^{\circ}C$ .
  6. Tuang media TWYE kedalam cawan petri steril yang dilakukan didalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan memastikan bahwa seluruh permukaan cawan petri terisi dengan media agar. Lalu diamkan media TWYE hingga memadat dan rekatkan menggunakan wrapping.
- b. Perbanyakkan Bakteri *Actinomycetes*
  1. Isolasi dan Pemurnian
 

Sampel tanah diambil dari perakaran bibit tanaman tebu dengan kedalaman sekitar 20 cm. Sampel tanah tersebut kemudian dibawa ke Laboratorium untuk keperluan isolasi. Dalam proses ini, 1 gr tanah yang telah digerus dilarutkan kedalam 9 mL aquades. Setelah itu digunakan mikro pipet untuk mengambil 1 mL suspensi lalu masukkan ke dalam tabung reaksi pada tingkat pengenceran  $10^1$ , kemudian di homogenkan. Selanjutnya mengambil lagi 1 mL suspensi dari pengenceran  $10^1$  ke tabung reaksi pada tingkat pengenceran  $10^2$ , proses ini dilakukan hingga tingkat pengenceran  $10^8$ . Tingkat pengenceran yang diambil yaitu  $10^6$ ,  $10^7$  dan  $10^8$ . Selanjutnya sampel ditumbuhkan pada media *Tap Water Yeast Extract* (TWYE) yang telah steril, lalu diinkubasi selama 24 jam. Hasil inkubasi tersebut diamati apakah terdapat koloni yang tumbuh, kemudian digores kembali ke media yang sama sampai mendapatkan koloni tunggal. Semua isolat yang sudah murni dikoleksi dan dipelihara di dalam media untuk keperluan identifikasi dan pengujian selanjutnya.
  2. Identifikasi Isolat *Actinomycetes*

Spora dari biakan murni *Actinomycetes* diambil menggunakan jarum ose kemudian diletakkan di permukaan potongan media dan ke empat sisi potongan media pada gelas benda. Selanjutnya potongan media ditutup dengan gelas penutup. Cawan petri ditutup kemudian diinkubasi selama 5-7 hari.

### 3. Tahap Perbanyakkan di Media Cair (*Nutrient Broth*)

Perbanyakkan dilakukan dengan memindahkan isolat dari media TWYE menggunakan spatula steril ke dalam media *Nutrient Broth* (NB) 1000 mL, lalu media tersebut diinkubasi selama 3-7 hari. Selanjutnya diinokulasi di media TWYE yang baru dan kemudian melakukan perhitungan jumlah koloni.

## 2.4.2 Pelaksanaan Penelitian di Lapangan

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Persiapan Lahan  
Lahan dibersihkan dari gulma dan dibuat bedengan sebanyak 3 bedengan dengan ukuran 15 m × 1 m. Kemudian membuat jarak tanam dengan ukuran 50 cm × 50 cm.
2. Pemotongan Bibit Tanaman Tebu  
Alat yang digunakan untuk memotong tebu adalah parang. Tebu yang digunakan sebagai bibit ialah tebu yang berumur 4 bulan. Bibit yang diambil berupa satu mata tunas dengan posisi mata terletak ditengah-tengah dari panjang stek dengan panjang sekitar 5 cm.
3. Perawatan  
Setelah bibit dipotong maka dilakukan perawatan dengan air hangat selama 15 menit. Setelah dingin, dilakukan perendaman dengan menggunakan fungisida Nordox dengan tujuan untuk menghindari adanya serangan jamur dan serangga yang menyebabkan bibit tidak dapat tumbuh dengan baik. Selanjutnya, dilakukan perendaman zpt atonik selama 15 menit untuk mempercepat perkecambahan.
4. Penanaman  
Setelah perawatan dan perendaman dilakukan maka bibit ditiriskan, kemudian dilakukan sortasi dari kerusakan mata tunas. Kemudian ditanam pada bedengan yang telah diberi kompos, dengan posisi mata tunas di atas.
5. Pengaplikasian *Actinomyces*  
Pengaplikasian *Actinomyces* dilakukan pada saat tanaman berumur 30, 60 dan 90 hari setelah tanam (HST) dengan 4 taraf yaitu kontrol,  $10^6$  CFU/ml *Actinomyces*,  $10^7$  CFU/ml *Actinomyces*, dan  $10^8$  CFU/ml *Actinomyces* dengan cara dicampurkan dengan air dan mengaplikasikan langsung pada tanah.
6. Pengaplikasian Pupuk  $\text{KNO}_3$   
Pegaplikasian pupuk  $\text{KNO}_3$  dilakukan sebanyak 3 kali pemupukan yaitu 31, 61, dan 91 HST. Pupuk  $\text{KNO}_3$  diaplikasikan pada tanaman tebu dengan cara dilarutkan kemudian disemprotkan. Pengaplikasian pupuk  $\text{KNO}_3$  terdapat 3 taraf yaitu : k0 : kontrol, k1 : 3g/L, dan k2 : 6g/L.

7. Pemeliharaan  
Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan melakukan penyiraman sebanyak 2 kali yaitu di pagi dan sore hari serta melakukan penyiangan gulma disekitar tanaman.
8. Pembongkaran  
Pembongkaran bibit dilakukan setelah bibit berumur 120 HST.

## 2.5. Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang diamati pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tinggi tanaman (cm)  
Pengukuran tinggi tanaman diukur dari pangkal batang bawah sampai TVD (*Top Visible Dewlap*) dan diamati setiap 1 bulan sekali.
2. Jumlah Daun (helai)  
Jumlah daun diamati dengan cara menghitung total daun sempurna dalam setiap tanaman yang tumbuh dan pengamatan dilakukan setiap 1 bulan sekali.
3. Diameter Batang (mm)  
Pengukuran diameter batang dilakukan pada ketinggian 5 cm dari permukaan tanah, dan diamati setiap 1 bulan sekali.
4. Panjang Akar (cm)  
Panjang akar diukur dengan menggunakan penggaris. Tanaman dicabut kemudian diukur panjang akarnya. Pengukuran ini dilakukan di akhir penelitian.
5. Volume Akar (mL)  
Pengamatan volume akar dilakukan di akhir pengamatan. Pengukuran volume akar diukur dengan cara mencuci akar hingga bersih, kemudian akar di potong lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur dan mengamati selisih volume air saat dimasukkan akar dengan volume air di awal.
6. Berat Basah Akar (g)  
Pengamatan ini dilakukan di akhir penelitian yaitu setelah melakukan pengukuran volume akar, kemudian menimbang akar tanaman dengan menggunakan timbangan analitik.
7. Berat Kering Akar (g)  
Akar tebu yang telah ditimbang berat akar basahanya, selanjutnya dimasukkan kedalam amplop. Kemudian amplop yang berisi akar di oven dengan suhu 70°C sampai bobotnya konstan, setelah itu akar dikeluarkan dari amplop dan dihitung bobot kering ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.
8. Berat Basah Tajuk (g)  
Pengamatan ini dilakukan di akhir penelitian, pengukuran ini dilakukan dengan mengambil tajuk tanaman tebu kemudian menimbang batang tanaman dengan menggunakan timbangan analitik.

## 9. Berat Kering Tajuk (g)

Tajuk tanaman tebu yang telah ditimbang berat batang basah nya, selanjutnya dimasukkan kedalam amplop. Kemudian amplop yang berisi batang tanaman di oven dengan suhu 70°C sampai bobotnya konstan, setelah itu batang dikeluarkan dari amplop dan dihitung bobot kering ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.

10. Klorofil ( $\mu\text{mol. m}^{-2}$ )

Pengamatan klorofil daun diamati menggunakan *Content Chlorofil Meter* (CCM 200<sup>+</sup>) pada daun ke 3 dari TVD. Pengamatan ini dilakukan diakhir penelitian sebelum pembongkaran. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan rumus :

Kandungan klorofil daun =  $a + b (\text{CCI})^c$ ,

dimana a, b, dan c adalah konstanta dan CCI adalah data indeks klorofil daun yang terbaca pada CCM 200<sup>+</sup> dimana:

Tabel 1. Nilai Konstanta Klorofil

| Parameter    | $y = a + b (\text{CCI})^c$ |       |         |
|--------------|----------------------------|-------|---------|
|              | a                          | b     | c       |
| CCM Monocots | 72.4                       | -68.8 | -0.0242 |

Sumber: Zoran et al., 2012

## 11. Kerapatan stomata dan Luas Bukaan Stomata

Pengambilan sampel stomata dilakukan dengan menggunakan kuteks bening dan plaster bening. Perhitungan kerapatan dan luas bukaan stomata dihitung dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x dan 100x. Pengamatan ini dilakukan pada saat akhir penelitian. Komponen stomata daun meliputi: Kerapatan Stomata (Stomata/mm<sup>2</sup>), dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kerapatan Stomata} = \frac{\text{Jumlah Stomata}}{\text{Luas Bidang Pandang}}$$

Sumber: Nasaruddin, 2019.

Untuk mengukur kerapatan stomata harus menggunakan perbesaran 400 kali dengan diameter bidang pandang 0,52 mm<sup>2</sup>.

Pengukuran luas bukaan stomata menggunakan perbesaran 100 kali dengan diameter bidang pandang 0,52 mm<sup>2</sup> pada akhir penelitian.

$$\text{Luas Bukaan Stomata} = \pi \times r_1 \times r_2$$

Sumber: Nasaruddin, 2019.

Keterangan:

$$\pi = 3,14$$

$$r_1 = \frac{1}{2} \text{ Panjang bukaan stomata}$$

$$r_2 = \frac{1}{2} \text{ lebar bukaan stomata}$$

## **2.6. Analisis data**

Data dikumpulkan kemudian ditabulasi dalam bentuk tabel. Data yang sudah ditabulasi kemudian diolah dalam bentuk sidik ragam (Anova), dan apabila data menunjukkan hasil yang nyata atau sangat nyata akan dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji BNT 95% ( $\alpha$  0,05).