

PENGUJIAN ISOLAT MIKROBA PELARUT FOSFAT PADA TANAMAN KEDELAI (*Glycine max L.*) VARIETAS RAJABASA

Taufiq Bachtiar dan Setiyo Hadi Waluyo
Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-BATAN

ABSTRAK

PENGUJIAN ISOLAT MIKROBA PELARUT FOSFAT PADA TANAMAN KEDELAI VAR. RAJABASA. Percobaan *Rhizotron* telah dilakukan untuk menguji isolat-isolat mikroba pelarut fosfat pada tanaman kedelai di PATIR-BATAN Pasar Jumat. Isolat-isolat mikroba pelarut fosfat yang digunakan diperoleh dengan mengisolasi dari contoh tanah pada perakaran tanaman jagung dari 2 lokasi di daerah Cipanas dan Cicurug Jawa Barat. Berdasarkan kemampuannya membentuk zona bening maka telah diperoleh 2 isolat (Isolat no. 7 dan 8) dari lokasi Cipanas I, sedangkan dari lokasi Cipanas II diperoleh 2 Isolat yaitu Isolat 4 dan 11. Dari lokasi Cicurug juga diperoleh dua isolat yaitu Isolat A dan C. Isolat 7 dan 8 mempunyai ukuran koloni yang besar, membentuk zona bening yang lebar dan mempunyai daya larut $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang paling tinggi. Pertumbuhan tanaman kedelai Rajabasa dan berat basah akar meningkat dengan pemakaian isolat-isolat mikroba pelarut fosfat tersebut. Dibandingkan dengan kontrol, tinggi tanaman meningkat sampai 327 %, berat basah tanaman meningkat sampai 857 %, berat basah akar meningkat sampai 650 %, dan jumlah daun meningkat sampai 266%. Hasil yang diperoleh karena inokulasi mikroba pelarut fosfat tidak berbeda nyata dengan hasil yang diperoleh karena penambahan CaCO_3 dan SP-36. Eksploitasi dan seleksi mikroba pelarut fosfat asli Indonesia dengan menggunakan teknik nuklir seperti teknik perunut masih terbuka lebar untuk dikembangkan sebagai elite mikroba bahan dasar untuk pengembangan produksi pupuk hayati.

Kata Kunci : Mikroba Pelarut Fosfat, Kedelai, Fosfat, Pupuk hayati, *Rhizotron*.

ABSTRACT

EFFECT OF APPLICATION OF PHOSPHATE SOLUBILIZER MICRO-ORGANISM ON GROWTH OF VAR. RAJABASA SOYBEAN. *Rhizotron* experiments were conducted to study the effect of application of phosphate solubilizing microorganism on growth of soybean plant in PATIR-BATAN Pasar Jumat, Jakarta. Phosphate solubilizing microorganism isolates were obtained from soil samples collected from corn-rhizospheres from 2 locations in Cipanas and in Cicurug, West Java. Base on visual observations on the development of holo-zone on Pikovskaya agar media, 2 isolates (isolate 7 and 8) from Cipanas I, 2 isolates (isolate 4 and 11) from Cipanas 2 and 2 isolates (isolate A and C) from Cicurug were collected, Isolate 7 and isolate 8 formed big colonies, wide holo-zones and have highest abilities on solubilization of $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Application of PSM increased growth of soybean plants. Compared to control, plant-height, plant-weight, root-weight and number of leaves increased by 427, 857, 650 and 266 % respectively. There were statistically no difference results obtained from PSM, CaCO_3 and SP-36 applications. Chance to select and to exploit an elite indigenous PSM with nuclear technique in Indonesia is still quite open and promising for production of bio-fertilizer.

Keywords: PSM, Soybean, Phosphate, Bio-fertilizer, *Rhizotron*.

PENDAHULUAN

Salah satu unsur hara dalam tanah yang diperlukan oleh tanaman adalah unsur fosfor (P). Unsur P sangat penting dalam metabolisme tanaman seperti pembelahan sel, pembentukan albumin, pembentukan bunga, buah, dan biji, mempercepat pematangan, memperkuat batang sehingga tidak mudah roboh, perkembangan akar, membentuk *nucleoprotein* (sebagai penyusun DNA dan RNA), menyimpan dan memindahkan energi misalkan ATP dan ADP (1). Oleh karena itu penambahan P ke dalam tanah mutlak diperlukan untuk menunjang pertumbuhan tanaman.

Pemberian pupuk P ke dalam tanah seringkali tidak efektif, hal ini disebabkan karena unsur P dalam tanah ketersediaannya sangat dipengaruhi oleh sifat kimia tanah. Pada tanah masam kelarutan Al dan Fe menjadi tinggi, dengan demikian ion fosfat ($\text{H}_2\text{PO}_4^{4-}$, HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}) akan segera terikat membentuk senyawa P yang kurang tersedia bagi tanaman. Mula-mula senyawa ini bersifat koloidal, lambat laun menjadi kristal yang sukar larut *varisit* $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan *strengit* $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2).

Untuk meningkatkan efisiensi pemupukan P dan meningkatkan ketersediaan P saat ini telah dikembangkan pemanfaatan mikroba tanah. Mikroba tanah mempunyai peranan yang sangat penting dalam proses penguraian bahan organik kompleks yang secara enzimatik akan membebaskan nutrisi dari fraksi mineral tanah sehingga tersedia bagi tanaman (3). Salah satu kelompok mikroba tanah yang penting adalah Mikroba Pelarut Fosfat (MPF). MPF merupakan satu-satunya kelompok mikroba yang dapat melarutkan P yang terjerap permukaan oksida-oksida Fe-P dan Al-P (4). Mekanisme utama dalam konversi ini sebagai akibat dari asam-asam organik yang dihasilkan oleh MPF. Asam organik utama yang dapat melarutkan fosfat adalah sitrat, laktat, glutamat, oksalat, asetat, tartarat, malat, fumarat, suksinat dan lain-lain (5). Asam organik ini menghasilkan ion H^+ yang dapat melarutkan fosfat dan menjadikannya tersedia bagi tanaman (6). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan MPF yang efektif dalam menyediakan P bagi tanaman untuk dikembangkan menjadi pupuk hayati.

BAHAN DAN METODE

Bahan, Tempat dan Waktu

Percobaan ini telah dilaksanakan pada bulan April 2009 sampai September 2009 di *greenhouse* di bidang pertanian PATIR-BATAN, Jl. Lebakbulus Raya, Cilandak, Jakarta Selatan. MPF diisolasi dari contoh tanah yang berasal dari rhizosfer jagung di daerah Cipanas dan Cicurug. Contoh tanah dimasukkan ke dalam kantong plastik berwarna hitam kemudian dibawa ke laboratorium mikrobiologi tanah PATIR-BATAN. Tanah dikeringanginkan, mikroba diisolasi dan dihitung populasinya dengan teknik penghitungan cawan petri (7; 8), kemudian dimurnikan dan diuji kemampuannya dalam melarutkan fosfat dengan spektrofotometer.

Isolasi dan penghitungan jumlah populasi MPF

Contoh tanah kering angin sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam 90 ml aquadest steril dalam Erlenmeyer 250 ml dikocok dengan tangan sampai homogen. Sebanyak 1 ml dari ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril, kemudian dikocok hingga homogen dan 1 ml dipindahkan ke tabung berikutnya, begitu seterusnya sehingga terjadi seri

pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-7} . Media Agar Pikovskaya (5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 10 g glukosa, 0.2 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g NH_4SO_4 , 0.1 ml MnSO_4 dan FeSO_4 , Agar 15 g dilarutkan dalam 1 liter H_2O) dituangkan ke dalam petridish steril kemudian setelah media dingin dan membeku sebanyak 0.1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam media tersebut kemudian diratakan dengan batang gelas L. Media diinkubasi selama 3, 10, dan 15 hari pada suhu 28°C . Koloni yang memiliki zona bening dihitung dan diamati secara visual (Tabel 1). Koloni-koloni tersebut kemudian dimurnikan dengan cara ditumbuhkan kembali (re-streak) dengan jarum Ose pada media Pikovskaya. Koloni tunggal (single colony) ditumbuhkan pada media agar miring dan disimpan.

Uji kemampuan MPF melarutkan P dalam media larutan pikovskaya secara spektrofotometri

Inokulan satu *loop Ose* dari kultur agar miring diinokulasikan kedalam 50 ml media larutan *Pikovskaya* (5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 10 g glukosa, 0.2 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g NH_4SO_4 , 0.1 ml MnSO_4 dan FeSO_4 dilarutkan dalam 1 liter H_2O) steril, digojok dengan mekanikal shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 15 hari. Larutan kultur 10 ml diambil secara aseptik pada umur 3 hari, 5 hari dan 15 hari, dan kemudian jumlah P tersedia dalam masing-masing larutan kultur tersebut diukur dengan spektrofotometer.

Pembuatan inokulan

Jumlah MPF yang dipakai dalam penelitian ini adalah 6 isolat yaitu Isolat 7, Isolat 8, Isolat 4, Isolat 11, Isolat A, Isolat B. Satu *loop Ose* dari masing-masing isolat tersebut diatas diinokulasikan pada 50 ml larutan media *Pikovskaya*, dikocok pada suhu kamar dengan kecepatan 100 rpm selama 3 hari.

Persiapan Media Tanam

Percobaan dalam penelitian ini menggunakan *rhizotron*, hal ini dimaksudkan untuk memudahkan pengamatan pertumbuhan akar, selain itu pada saat panen akar yang diambil untuk sampel utuh, tidak rusak atau terganggu. *Rhizotron* dibuat dari petri plastik (diameter 10 cm) dengan cara memotong bagian pinggir selebar 1 cm dengan menggunakan gerinda (Gambar1). Contoh tanah yang dipakai berasal dari Palembang dan Jakarta. Contoh tanah kering angin dengan ukuran lolos saringan 2 mm ditambah air sampai sekitar kapasitas lapang. Sebanyak 75 g contoh tanah basah tersebut dimasukkan kedalam *Rhizotron*, kemudian tanah dipadatkan dengan cara menekan bagian permukaan *rhizotron* dengan menggunakan plastik akrilik sehingga semua bagian *rhizotron* terisi rata oleh tanah dan kepadatannya sama. *Rhizotron* ditutup dengan

penutupnya dan siap dipakai untuk percobaan. Untuk percobaan *Rhizotron* digunakan kedelai varietas Rajabasa sebagai hasil litbang BATAN dengan teknik mutasi radiasi. Benih kedelai direndam dalam air selama 1 jam, kemudian 2 butir dari benih tersebut ditanam kedalam *Rhizotron*. Satu kecambah yang bagus dipilih untuk perlakuan selanjutnya. Setelah semua *rhizotron* ditanami selanjutnya diinkubasi di rumah kaca sampai tumbuh kecambah dengan posisi berdiri dengan kemiringan 60 derajat. Hal ini ditujukan agar akar tanaman tumbuh diatas permukaan tanah, sehingga dapat dilakukan pengamatan pola perakaran dengan mudah.

Perlakuan

Percobaan ini terdiri dari 20 perlakuan (Tabel 1) dan 3 ulangan. Perlakuan diberikan langsung pada tanah 0,5 cm dibawah ujung akar tanaman. Sebanyak 1 ml inokulan/benih dari masing-masing isolat diberikan menggunakan *disposable syringe*. Sedangkan untuk perlakuan CaCO_3 dan SP-36 diberikan dalam bentuk larutan dalam air yaitu 0,5 ml/ benih (0,075 g CaCO_3) dan 0,5 ml / benih (0,0125 g SP-36).

Pemeliharaan dan Pengamatan

Pemeliharaan dilakukan setiap hari dengan memberikan air sebanyak kapasitas lapang, sedangkan pengamatan dilakukan pada 14 hari setelah tanam (HST) dan pada saat panen yaitu pada 24 HST. Pengamatan tanaman kedelai meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah tanaman, dan bobot basah akar. Semua data dihitung secara statistik dengan program komputer MSTAT-C. Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan ada beda nyata pada $\alpha = 5$ % dengan Multiple Duncan's Test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pertumbuhan koloni pada media Pikovskaya dan pembentukan zona bening, ditemukan ada 2 populasi mikroba pelarut fosfat (MPF) pada contoh tanah dari lokasi Cipanas I, yaitu isolat 7 dan isolat 8, 2 populasi MPF pada contoh tanah Cipanas II, yaitu isolat 4 dan isolat 11 dan dua populasi MPF pada contoh tanah Cicurug, yaitu isolat A dan isolat C (Tabel 3). Jumlah sel (cfu) dari beberapa isolat tersebut bervariasi dari 10^5 - 10^8 /g tanah. Yang paling dominan adalah isolat 7 dan isolat 8 dengan tingkat populasi 10^8 /g tanah (Tabel 2). Hal ini menunjukkan kemungkinan bahwa akar tanaman jagung dapat meningkatkan jumlah sel dari populasi mikroba disekitarnya. Umumnya pada tanah-tanah pertanian jumlah sel mikroba berada disekitar 10^4 sel/g tanah. Oleh karena itu untuk memperoleh manfaat yang optimal dari MPF, selalu dianjurkan untuk meningkatkan jumlah sel mikroba dalam tanah dengan pemberian dari luar dalam bentuk inokulan. Daya larut terhadap P tidak tersedia $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ menjadi tersedia

(dalam media Pikovskaya) juga bervariasi. Daya larut yang paling tinggi diperoleh dari MPF isolat 7 dan isolat 8. Ukuran koloni MPF yang tumbuh pada media Pikovskaya juga bervariasi dari ukuran sebesar titik (kecil) , sekitar 2,0 mm (medium) dan 3,0-5,0 mm (besar) (Tabel 3).

Dari pengamatan secara visual tersebut menunjukkan bahwa ukuran koloni MPF sangat berhubungan dengan daya larut terhadap $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Isolat 7 dan isolat 8 membentuk koloni yang besar dan mempunyai daya larut $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang paling tinggi. Hal ini didukung dengan terbentuknya zona bening yang sangat besar dari isolat 7 dan isolat 8 (Gambar 2). Zona bening adalah salah satu parameter kualitatif yang sangat penting dalam identifikasi dan isolasi MPF. Dari hasil data pada tabel 2 dan 3 juga menunjukkan bahwa kemampuan MPF dalam melarutkan fosfat tidak tersedia menjadi tersedia berhubungan dengan kecepatan tumbuh dari mikroba tersebut. Waktu tumbuh yang diperlukan oleh isolat 7 dan isolat 8 yang mempunyai kemampuan melarutkan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang tinggi adalah 3 hari. Sedangkan isolat lainnya memerlukan waktu tumbuh 5 hari.

Hasil dari percobaan *Rhizotron* menunjukkan bahwa pemberian MPF dapat meningkatkan tinggi tanaman, berat basah akar, berat basah tanaman dan jumlah daun. Pada tanaman umur 14 HST dibandingkan dengan kontrol tinggi tanaman meningkat 427 %, sedangkan pada tanaman umur 21 HST tinggi tanaman meningkat sampai 415 % (Tabel 4). Berat basah akar dan berat basah tanaman meningkat masing-masing menjadi 650 % dan 857 % (Tabel 5). Demikian juga untuk jumlah daun, terjadi peningkatan sebesar 267 pada umur 14 HST dan 205 % pada umur 21 HST karena pemberian MPF (Tabel 6). Hasil dari percobaan ini juga menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata antara pemberian isolat MPF dengan pemberian SP-36. Hal ini sesuai dengan Subba-Rao (9) yang menyatakan bahwa mikrobia pelarut fosfat dapat mereduksi pH substrat dengan mensekresi sejumlah asam organik seperti asam-asam format, asetat, propionat, laktonat, glikolat dan fumarat dan suksinat. Selanjutnya asam-sam tersebut akan membentuk khelat dengan kation-kation seperti Ca, Al, Fe, Mn, dan khelasi semacam ini akan menyebabkan pelarutan fosfat yang efektif, sehingga bisa tersedia dan diserap bagi tanaman.

KESIMPULAN

Inokulasi MPF terhadap pertumbuhan tanaman kedelai berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman kedelai varietas Rajabasa. Pemberian MPF mampu menggantikan fungsi dari pupuk P terhadap pertumbuhan tanaman kedelai. Daya larut terhadap P tidak tersedia [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] menjadi tersedia yang paling tinggi diperoleh dari MPF isolat 7 dan isolat 8. Melihat kemampuannya yang bervariasi, menunjukkan bahwa masih terbuka lebar untuk melakukan eksploitasi dan seleksi MPF asli Indonesia untuk dikembangkan sebagai elite MPF sebagai bahan dasar untuk pengembangan produksi pupuk hayati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Drs. Harsojo, APU yang telah membimbing penulis dan menyediakan fasilitas bagi percobaan ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hardjowigeno, Sarwono. Ilmu Tanah. Edisi Baru. Akademi Pressindo. Jakarta. (2003).
2. Havlin, J.L. J.D. Beaton., S.L. Tisdale., and W.L. Nelson. *Soil Fertility and Fertilizer. An Introduction to Nutrient Management*. Sixth ed. Prentice Hall, New Jersey. (1999).
3. Athlas, R.M. and R. Bartha. *Microbial ecology, Fundamentals and Applications*. New York: Addition Wesley. (1993).
4. Hartono, A. Pengaruh Pupuk Fosfor, Bahan Organik dan Kapur Terhadap Pertumbuhan Jerapan P Pada Tanah Masam Latosol Darmaga. *Gakuryoku* 6 (1): 73-78.(2000).
5. Goenadi, D.H., Siswanto, Sugiarto, Y. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64, 927-932. (2000).
6. Bhattacharyya, R., Jain R.K., *Fert. News*, 45, 45-52. (2000).
7. Thompson, J.P. Counting Viable Azotobacter Chroococcum in vertisols. *Plant and Soil* 117: 1-9. (1989).
8. Revina, M.D. M.J. Acea, and T. Carballas. Seasonal Fluctuauios in microbial populations and available nutrients in forest soil. *Biology Fertilizer Soils* 16: 198-204. (1992).
9. Subba-Rao, N.S. 1982. *Advanced of Agricultural Microbiology*. Oxford and IBH Publishing co. New Delhi. India.

Tabel 1. Jumlah perlakuan percobaan MPF pada tanaman kedelai.

MPF	Contoh tanah	
	Palembang	Jakarta
ISOLAT 7	1	11
ISOLAT 8	2	12
ISOLAT 4	3	13
ISOLAT 11	4	14
ISOLAT A	5	15
ISOLAT C	6	16
AIR	7	17
TSP	8	18
CaCO ₃	9	19
CaCO ₃ +SP-36	10	20

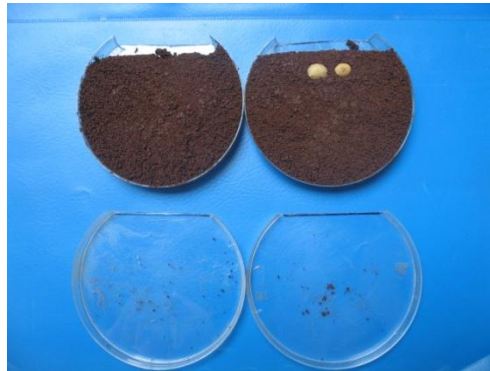
Tabel 2. Populasi MPF tanah dan daya larut terhadap Ca₃(PO₄)₂ dalam larutan media Pikovskaya

MPF	Σ MPF (sel/g tanah)	P- Total (ppm)	
Isolat A	1,8 x 10 ⁶	3 HSI	6,67
		5 HSI	8,50
		15 HSI	10,67
Isolat C	2,9 x 10 ⁶	3 HSI	7,94
		5 HSI	8,44
		15 HSI	9,78
Isolat 4	8,2 x 10 ⁵	3 HSI	3,67
		5 HSI	8,67
		15 HSI	9,28
Isolat 11	4,4 x 10 ⁵	3 HSI	5,44
		5 HSI	7,61
		15 HSI	8,72
Isolat 7	1,0 x 10 ⁸	3 HSI	8,61
		5 HSI	15,89
		15 HSI	16,00
Isolat 8	1,2 x 10 ⁸	3 HSI	8,50
		5 HSI	16,00
		15 HSI	15,56

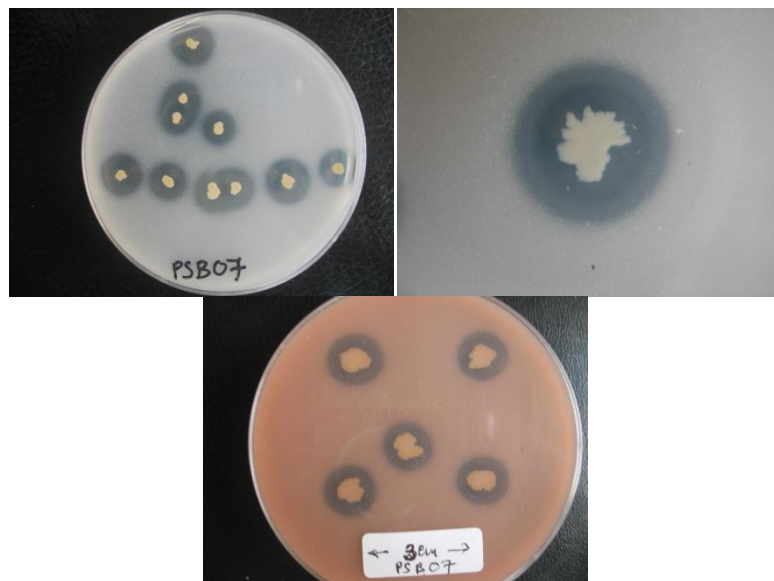
*HSI = Hari Setelah Inkubasi

Tabel 3. Karakteristik koloni mikroba pelarut fosfat pada media Pikovskaya

MPF	ISOLAT 7	ISOLAT 8	ISOLAT 4	ISOLAT 11	ISOLAT A	ISOLAT C
ASAL	CIPANAS I	CIPANAS I	CIPANAS II	CIPANAS II	CICURUG	CICURUG
WARNA KOLONI	kuning muda	kuning muda	coklat	kuning muda	Coklat muda	putih pucat
UKURAN	besar	besar	medium	medium	medium	titik
PERMUKAAN	mengkilat	mengkilat	semu	mengkilat	pucat/semu	pucat/semu
PINGGIRAN	tepi bergerigi	tepi halus	bergerigi	halus	bergerigi	halus
ELEVASI	cembung halus	cembung	cembung halus	cembung	cembung tidak rata	datar/flat
BENTUK	Tidak teratur	Tidak teratur	teratur	teratur	teratur	teratur
WAKTU TUMBUH	3 hari	3 hari	5 hari	3 hari	3 hari	3 hari



Gambar 1. *Rhizotron*.



Gambar 2. Pembentukan zona bening isolat 7 pada media Pikovskaya dan media Czapek.



Gambar 3. Percobaan *Rhizotron* pada Tanaman Kedelai

Tabel 4. Pengaruh pemberian MPF pada tinggi tanaman (cm).

MPF	14 HST		24 HST	
	Tanah Palembang	Tanah Jakarta	Tanah Palembang	Tanah Jakarta
ISOLAT 7	28.50 A	15.00 CDEFGH	39.83 ABCD	24.83 ABCDEFGHI
ISOLAT 8	27.83 A	12.17 EFGH	36.17 ABCDEF	22.00 BCDEFGHI
ISOLAT 4	24.33 ABCD	12.60 EFGH	34.33 ABCDEFG	21.33 CDEFGHI
ISOLAT 11	24.33 ABCD	12.00 EFGH	33.67 ABCDEFG	21.67 BCDEFGHI
ISOLAT A	26.83 AB	23.00 ABCDE	40.33 ABC	40.50 ABC
ISOLAT C	25.67 ABC	19.73 ABCDEF	41.50 AB	37.00 ABCDE
AIR	6.667 H	7.000 H	10.00 HI	8.333 I
TSP	25.50 ABC	6.667 H	34.83 ABCDEF	9.333 HI
CaCO ₃	28.07 A	11.83 EFGH	43.00 A	16.17 FGHI
CaCO ₃ +SP-36	28.17 A	10.77 FGH	30.50 ABCDEFG	16.50 FGHI

Tabel 5. Pengaruh pemberian MPF pada berat basah akar dan tanaman (gram)

MPF	Akar		Tanaman	
	Tanah Palembang	Tanah Jakarta	Tanah Palembang	Tanah Jakarta
ISOLAT 7	0.4033 BCDEF	0.4233 BCDEF	1.500 ABCD	0.9400 BCDEFGH
ISOLAT 8	0.3667 BCDEF	0.3633 BCDEF	1.033 BCDEFGH	1.300 ABCDEF
ISOLAT 4	0.5333 BCD	0.3000 BCDEF	1.133 ABCDEFG	0.8900 BCDEFGH
ISOLAT 11	0.4000 BCDEF	0.2167 DEF	1.000 BCDEFGH	0.8000 CDEFGH
ISOLAT A	0.3000 BCDEF	0.8667 A	1.287 ABCDEF	1.933 A
ISOLAT C	0.6000 AB	0.5667 BC	1.713 AB	1.610 ABC
AIR	0.1533 F	0.1333 F	0.2000 H	0.2667 H
TSP	0.4867 BCDE	0.1000 F	0.7667 DEFGH	0.3333 GH
CaCO ₃	0.3667 BCDEF	0.1567 EF	1.433 ABCDE	0.3333 GH
CaCO ₃ +SP-36	0.3833 BCDEF	0.1100 F	1.033 BCDEFGH	0.4033 GH

Tabel 6. Pengaruh pemberian MPF pada jumlah daun.

MPF	14 HST		24 HST	
	Tanah Palembang	Tanah Jakarta	Tanah Palembang	Tanah Jakarta
ISOLAT 7	7.333 AB	5.667 ABCDE	12.00 BCDE	11.00 DE
ISOLAT 8	8.000 A	6.333 ABCD	13.33 ABCD	14.00 ABC
ISOLAT 4	7.333 AB	8.000 A	11.00 DE	15.33 A
ISOLAT 11	5.667 ABCDE	6.000 ABCD	11.00 DE	12.00 BCDE
ISOLAT A	7.667 AB	8.000 A	12.00 BCDE	15.33 A
ISOLAT C	8.000 A	8.000 A	14.33 AB	12.33 BCDE
AIR	3.000 DE	2.000 E	7.000 GH	8.000 FG
TSP	7.000 ABC	3.333 DE	3.333 J	10.67 DE
CaCO ₃	7.000 ABC	3.667 CDE	11.00 DE	8.000 FG
CaCO ₃ +SP-36	7.667 AB	4.667 ABCDE	11.00 DE	10.00 EF