

**KEMELIMPAHAN BAKTERI DAN FUNGI RHIZOSFER PADA FASE
PERKECAMBAHAN 4 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merill)
BERBASIS POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

(Skripsi)

Oleh

Adinda Nurulita Putri
NPM 1814161006



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

KEMELIMPAHAN BAKTERI DAN FUNGI RHIZOSFER PADA FASE PERKECAMBAHAN 4 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max (L.) Merill*) BERBASIS *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*

Oleh

ADINDA NURULITA PUTRI

Tanaman kedelai (*Glycine max (L.) Merill*) merupakan salah satu sumber pangan terutama protein terpenting bagi masyarakat Indonesia. Permintaan kedelai terus meningkat, namun produksi kedelai domestik terus menurun setiap tahunnya. Produksi kedelai dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti perkembahan tanaman. Komposisi dan diversitas komunitas mikroorganisme tanah seperti bakteri dan fungi rhizosfer juga menjadi bagian esensial yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemelimpahan bakteri dan fungi di rhizosfer kedelai pada fase perkembahan berbasis *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Sampel merupakan tanah dari perakaran tanaman kedelai dengan 4 varietas berbeda, yaitu Anjasmoro, Argomulyo, Dena-1, dan Devon-1 dengan 4 ulangan tiap varietas, yang diambil secara acak sebanyak 3 sampel dari masing-masing ulangan. Penelitian ini menggunakan rancangan non faktorial yang disusun dengan Rancangan Acak Lengkap dan dianalisis dengan *software online GerminaQuant*, dianalisis ragam, dan dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) program statistika RStudio. Sampel diekstraksi dengan metode kit Promega. Sekuen 16s rRNA diamplifikasi dengan primer 63F dan 1387R sedangkan sekuen 28s rDNA diamplifikasi dengan primer ITS1F dan ITS4R. Hasil amplifikasi divisualisasi dengan metode *capillary electrophoresis digital*. Visualisasi menunjukkan pita dengan ketebalan berbeda yang mengindikasikan perbedaan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer. Varietas dengan viabilitas terbaik adalah varietas Argomulyo, dengan nilai 99,0%, sedangkan indeks vigor benih tertinggi pada Devon-1 yaitu 0,215. Pita fragmen DNA bakteri dan fungi rhizosfer kedelai paling tebal ditunjukkan oleh varietas Anjasmoro dan Dena-1, berturut-turut. Hal ini mengindikasikan bahwa, fungi pada varietas Dena-1. Viabilitas dan vigor berkorelasi positif dengan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer dengan nilai 0,935 dan 0,263.

Kata Kunci : Kedelai, Perkembahan, Rhizosfer, Bakteri, Fungi, Korelasi

**KEMELIMPAHAN BAKTERI DAN FUNGI RHIZOSFER PADA FASE
PERKECAMBAHAN 4 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill)
BERBASIS *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)**

Oleh

ADINDA NURULITA PUTRI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Agronomi dan Hortikultura
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : KEMELIMPAHAN BAKTERI DAN FUNGI
RHIZOSFER PADA FASE PERKECAMBAHAN 4
VARIETAS KEDELAI (*Glycine max (L.) Merill*)
BERBASIS POLYMERASE CHAIN REACTION
(PCR)

Nama Mahasiswa : Adinda Nurulita Putri

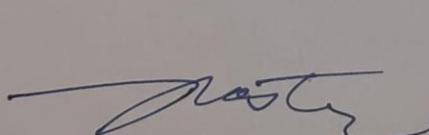
Nomor Pokok Mahasiswa : 1814161006

Program Studi : Agronomi

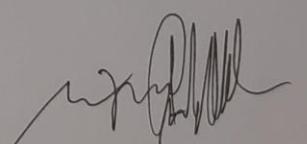
Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

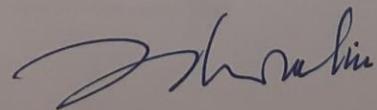


Dr. Ir. Paul Benjamin Timotiuw, M.S.
NIP 196209281987031001



Wawan A. Setiawan, S.Si. M.Si.
NIP 197912302008121001

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura



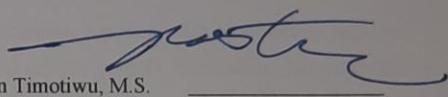
Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.
NIP 196110211985031002

MENGESAHKAN

1. Tim Pengaji

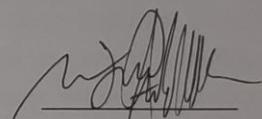
Ketua

: Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S.



Sekretaris

: Wawan A. Setiawan, S.Si. M.Si.



Anggota

: Dr. Sri Ramadiana, S.P. M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 07 Februari 2023

SURAT PERNYATAAN

Saya Adinda Nurulita Putri mahasiswi Jurusan Agronomi dan Hortikultura angkatan 2018 yang bertanda tangan dibawah ini sebagai penulis, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer pada Fase Perkecambahan 4 Varietas Kedelai (*Glycine Max (L.) Merill*) Berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR)" adalah hasil tulisan saya sendiri yang menjadi suatu karya yang menjadi syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Pertanian, Universitas Lampung. Tulisan yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku di Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 20 Februari 2023
Penulis



Adinda Nurulita Putri
NPM 1814161006

RIWAYAT HIDUP

Adinda Nurulita Putri, dilahirkan di Lampung Timur, pada 09 Mei 2000.

Penulis merupakan anak bungsu dari tiga bersaudara pasangan bapak Ngadio dan Ibu Sukami, dan memiliki kakak kandung yang bernama Eko Apriyanto dan Dwi Muhamad Novianto. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 1 Tanjung Kesuma, pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama di SMPN I Purbolinggo pada tahun 2015, dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Purbolinggo pada tahun 2018.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswi di Program Studi Agronomi dan Hortikultura pada tahun 2018 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan akademik dan organisasi. Penulis pernah mengikuti salah satu organisasi jurusan, yaitu Himpunan Mahasiswa Agronomi dan Hortikultura (HIMAGRHO). Tahun 2020 penulis menjadi anggota dalam bidang Kaderisasi dan Organisasi. Tahun 2021 penulis menjadi Sekretaris Umum HIMAGRHO. Penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Februari-Maret 2021 di Desa Tegal Gondo, Kecamatan Purbolinggo, Kabupaten Lampung Timur. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) pada Agustus 2021 di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT), Universitas Lampung. Penulis menjadi asisten

pada tahun 2021 dalam beberapa mata kuliah seperti Pemuliaan Tanaman, Biologi Tanaman, dan Bioteknologi Tanaman, serta Pembiakan Vegetatif, Fisiologi Tumbuhan, dan Biologi Molekuler pada Tahun 2022. Penulis juga menjadi presenter oral pada Seminar Nasional XXV PBBMI Tahun 2022 Dies Natalis 57 Universitas Lampung.

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan

- QS. Al-Insyirah : 5

Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanku tidak
akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukku tidak

akan pernah melewatkanku

- Umar bin Khattab

All iZZ Well

- Phunsukh Wangdu : *3 Idiots*

Orang lain boleh tidak “percaya” kepada kita, tapi kita tidak boleh tidak “percaya”

pada diri kita sendiri

- Adinda Nurulita Putri

PERSEMBAHAN

Tiada kata yang lebih indah selain ucapan syukur kepada Allah Azawajalla
atas segala rahmat dan hidayah-Nya.

Kupersembahkan karya ini kepada :

Kedua orang tuaku tercinta yang selalu mencerahkan kasih sayang dan
dukungan penuh ketulusan serta mendoakan kebaikan dan kebahagiaan
untuk putri bungsunya, serta kakak -kakak tersayang yang selalu mendoakan
yang terbaik bagi adik kecilnya.

Dosen – dosen pembimbing yang terhormat, sahabat-sahabat tersayang, dan
teman seperjuangan yang telah memberikan dukungan serta semangat

Dosen dan civitas akademika Jurusan Agronomi dan Hortikultura

Serta almamater yang kubanggakan,

Universitas Lampung.

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah subhanahu wa ta'ala yang memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga terlaksana seluruh rangkaian kegiatan dan penyelesaian studi dari merencanakan penelitian sampai penyusunan konsep skripsi yang berjudul “Kemelimahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer pada Fase Perkecambahan 4 Varietas Kedelai (*Glycine Max (L.) Merill*) Berbasis *Polymerase Chain Reaction (PCR)*”. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura.
3. Bapak Ir. Dad Resiworo Jekti Sembodo, M.S., selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberi motivasi, bimbingan, dan saran sejak penulis masuk menjadi mahasiswa baru sampai dengan penulis menyelesaikan tugasnya sebagai mahasiswa
4. Bapak Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiu, M.S., selaku dosen pembimbing pertama yang senantiasa memberi motivasi, mencerahkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan gagasan penelitian, bimbingan, kritikan saran, dan terus memacu untuk terbuka pada wawasan baru kepada penulis sejak perencanaan penelitian sampai terwujudnya skripsi ini, bahkan senantiasa memberikan nasihat-nasihat diluar penelitian untuk terus memperbaiki diri
5. Bapak Wawan A. Setiawan, M.Si., yang juga senantiasa memberi motivasi, mencerahkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan gagasan penelitian, bimbingan, kritikan dan saran kepada penulis sejak magang, perencanaan penelitian sampai terwujudnya skripsi ini, tiada lelah mengajarkan

penulis dalam bidang biomolekuler, maupun bidang-bidang lain dan senantiasa memberikan nasihat-nasihat diluar penelitian untuk terus memperbaiki diri

6. Ibu Dr. Sri Ramadiana, S.P. M.Si. selaku penguji dalam penelitian ini atas saran dan kritik membangun terhadap penulisan skripsi ini sejak awal penelitian hingga skripsi ini selesai
7. Bapak dan Ibu dosen pengampu mata kuliah pada Program Studi Agronomi dan Hortikultura Universitas Lampung yang telah membekali ilmu yang sangat bermanfaat dalam memperluas wawasan sebagai calon lulusan pertanian yang juga menunjang penulisan skripsi ini.
8. Teristimewa untuk Ayahanda Ngadio dan Ibunda Sukami yang senantiasa selalu memberikan kasih sayang, motivasi, dukungan moral dan material, kesabaran, dan pengorbanan serta iringan doa yang tiada henti.
9. Kakak kandung, kakak ipar, dan keponakan penulis, yaitu Kak Eko, Kak Dwi, Mba Mona, Mba Ike, Narendra, Nindy, Zyan, Kaira, dan Kinza yang selalu memberikan motivasi, doa, dukungan, dan hiburan
10. Sahabat dan teman seperjuangan di berbagai hal seperti hima, PU, penelitian, maupun berjuang untuk tetap kuat sampai hari ini dan semoga sampai ke surga, Dian Anjar Sari.
11. Sahabat-sahabat tersayang penulis, Asmi, Windi, Anggun, Meyliana, Indah, Febyola, Reni, Debi, Julio, Kahfi, dan Alm. Evan, juga sahabat-sahabat baru yang ditemui dalam kerasnya dunia menuju kedewasaan, Bunga, Intania, Tarissa, Noly, Des Nidi, Barkah, Ifan, Maqrus, Rafi, Alipha, Salman, Galang, dan Kelvin yang selalu membantu, mendukung, menghibur, memotivasi, dan mewarnai hari-hari penulis, semoga kita sampai ke surga.
12. Rekan - rekan penelitian biomolekuler, Ketut, Kak Mikha, Riski, Ade, Syakila, Mba Dona, dan Mba Desi yang telah banyak membantu, memotivasi, menyemangati, menemani pelaksanaan dan kelancaran penelitian.
13. Seluruh teman-teman angkatan 2018 yang telah berjuang meraih mimpi dan cita-cita yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga tulisan ini bermanfaat bagi pembaca

Bandar Lampung, 20 Februari 2023

Adinda Nurulita Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Pendahuluan	1
1.2.Rumusan Masalah	4
1.3.Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Landasan Teori dan Kerangka Pemikiran.....	5
1.5..Hipotesis Penelitian.....	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1. Botani Tanaman Kedelai	10
2.2. Syarat Tumbuh Tanaman Kedelai	11
2.3. Unsur Hara bagi Tanaman Kedelai	12
2.4. Deskripsi Varietas Kedelai	13
2.4.1. Varietas Anjasmoro	13
2.4.2. Varietas Argomulyo.....	14
2.4.3. Varietas Dena-1.....	14
2.4.4 Varietas Devon-1	14
2.5 Perkecambahan Benih Kedelai.....	15
2.6. Viabilitas Benih.....	16
2.7. Vigor Benih	17
2.8. Bakteri Rhizosfer.....	18
2.9. Fungi Rhizosfer	19
2.10. Analisis Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer	21

2.10.1. Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi	21
2.10.2. Amplifikasi sekuens DNA dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	21
2.10.3. Visualisasi Hasil Amplifikasi dengan Elektroforesis	23
2.11. Klasifikasi Tanaman Kedelai	23
III. BAHAN DAN METODE25	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.2. Bahan dan Alat.....	25
3.3. Metode Penelitian	26
3.3.1. Pengamatan Komponen Perkecambahan	26
3.3.1.1. Rancangan Percobaan Penelitian.....	26
3.3.1.2. Persiapan Media Tanam	27
3.3.1.3. Pelaksanaan Pengamatan Komponen Perkecambahan	27
3.3.2. Analisis Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer	28
3.3.2.1. Persiapan Sampel Tanah untuk Analisis Bakteri dan Fungi Rhizosfer	28
3.3.2.2. Preparasi Sampel Bakteri dan Fungi	29
3.3.2.3. Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi.....	30
3.3.2.4. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA Hasil Ekstraksi	31
3.3.2.5. Amplifikasi Gen dengan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	32
3.3.2.6. Visualisasi Hasil Amplifikasi Gen dengan Elektroforesis	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....35	
4.1. Hasil	35
4.1.1. Perkecambahan Benih Kedelai 4 Varietas	35
4.1.2. Hasil Analisis Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer Kedelai.....	37
4.1.2.1. Hasil Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi Rhizosfer Kedelai	37
4.1.2.2. PCR Gen dan Visualisasi Hasil PCR.....	39
4.1.3. Hubungan Parameter Viabilitas dan Vigor terhadap Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer	44
4.2 Pembahasan.....	50
V. KESIMPULAN DAN SARAN67	
5.1 Kesimpulan.....	67
5.2 Saran	67

DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	83
Tabel 8-12	84

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Unsur dalam Media Perkecambahan	27
2. Hasil Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada Daya Berkecambah (DB (%)) dan Indeks Vigor (IV) Perkecambahan Benih Kedelai 4 Varietas.....	34
3. Hasil Analisis Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi.....	35
4 Hubungan antar variabel berdasarkan koefisien korelasi (r).....	43
5. Hasil Analisis Hubungan Parameter Viabilitas dan Vigor terhadap Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer.....	46
6. Hasil Uji Lanjut Kemelimpahan Bakteri Rhizosfer Berdasarkan Hasil Ekstraksi DNA dengan Standar Deviasi	49
7. Kadar Genistein, Daidzein, dan Total Isoflavon 4 Varietas Kedelai dari Berbagai Literatur	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram Alir Kerangka Berpikir.....	8
2. Tata Letak Percobaan.....	26
3. Grafik Persentase Perkecambahan Benih Kedelai selama 7 Hari pada 4 Varietas.....	37
4. Hasil Visualisasi DNA Bakteri Rhizosfer Kedelai	41
5. Hasil Visualisasi DNA Bakteri Rhizosfer Kontrol	41
6. Hasil Visualisasi DNA Fungi Rhizosfer Kedelai.....	42
7. Hasil Visualisasi DNA Fungi Rhizosfer Kontrol.....	43
8. Diagram Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer.....	47
9. Kemelimpahan Bakteri Gram Positif dan Negatif Berdasarkan Hasil Ekstraksi DNA.....	49

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) merupakan tanaman pangan dari jenis kacang-kacangan yang menjadi salah satu sumber pangan terutama protein terpenting bagi masyarakat Indonesia. Berbagai bahan pangan berbahan dasar kedelai, seperti tempe, tahu, susu, tauco, tepung, dan lain sebagainya. Tempe dan tahu pun banyak dikembangkan kembali menjadi makanan selain lauk-pauk, seperti menjadi makanan ringan berupa keripik tempe, tempe mendoan, gorengan, dan banyak makanan lain. Kedelai menjadi pilihan tidak hanya disebabkan oleh cita rasanya yang gurih, namun juga karena gizi yang terkandung di dalamnya. Kanchana (2016) menyatakan bahwa, kacang kedelai mengandung protein (34%), minyak (19%), karbohidrat (34%), dan vitamin seperti isoflavon, tiamin, riboflavin, dan asam folat. Kacang kedelai juga merupakan sumber mineral seperti kalsium, zat besi, zat besi, seng, fosfor, dan magnesium.

Menurut Kementerian Pertanian (2017), produksi kedelai domestik hanya mampu memenuhi $\pm 15\%$ dari total keseluruhan permintaan kedelai, sehingga sisa kebutuhan kedelai yang mencapai $\pm 85\%$ dipenuhi dengan melakukan impor. Produksi kedelai domestik pun diketahui terus menurun setiap tahunnya. Berdasarkan data Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Lampung (2020), produktivitas kedelai di Lampung mengalami penurunan dari tahun 2017 ke tahun 2018. Produktivitas pada tahun 2017 yang semula 13,50 kuintal/ha turun menjadi

13,20 kuintal/ha pada tahun 2018. Kemudian, produksi kedelai di Lampung pada tahun 2018 yaitu 70.012 ton, kemudian turun menjadi 12.318 ton pada tahun 2019. Produksi tanaman kedelai tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti bagaimana fase awal perkembangan tanaman tersebut. Perkembangan tanaman diawali dengan terjadinya proses perkecambahan benih (Wolny *et al.*, 2018). Hal ini mendukung pernyataan Cardoso *et al.*(2015) bahwa perkecambahan merupakan proses krusial pada perkembangan tanaman. Tolok ukur daya perkecambahan benih dapat terlihat dari viabilitas dan vigor benih tersebut. Viabilitas benih merupakan kemampuan benih untuk berkecambah dan menghasilkan tanaman muda yang normal pada kondisi optimum (Tsvetkova *et al.*, 2021), sedangkan vigor benih merupakan potensi benih untuk dapat berkecambah dengan cepat dan seragam pada berbagai kondisi lingkungan (Wang *et al.*, 2019). Benih dengan viabilitas dan vigor rendah atau bahkan kehilangan viabilitas dan vigornya akan menyebabkan tanaman tidak dapat tumbuh dengan baik atau bahkan tidak tumbuh sama sekali, sehingga hal ini dapat mempengaruhi produksi tanaman tersebut, baik dari segi kualitas maupun kuantitas.

Perkecambahan dapat dipengaruhi oleh varietas benih itu sendiri maupun lingkungan tumbuh benih, seperti media perkecambahan yang digunakan. Setiap varietas kedelai memiliki karakteristik benih dan hasil tanaman yang beragam. Varietas dapat mempengaruhi kondisi fisik benih dan ketahanan terhadap cekaman lingkungan. Kondisi fisik seperti permeabilitas kulit benih berpengaruh pada proses imbibisi. Proses imbibisi melibatkan penyerapan air dari media perkecambahan ke dalam benih, sehingga benih kering terpacu untuk bertransisi menjadi tanaman hidup (Belin *et al.*,2018). Kulit benih dengan permeabilitas rendah akan kesulitan menyerap air dari lingkungan, sehingga air tidak dapat masuk ke dalam benih. Selain mempengaruhi kulit benih, varietas juga mempengaruhi ukuran benih kedelai, sehingga terdapat benih berukuran besar , sedang, dan kecil. Menurut Kering & Zhang (2015), pada kondisi optimum sekalipun, daya berkecambah benih berukuran kecil lebih rendah dari benih berukuran besar.

Perkecambahan benih juga dipengaruhi oleh tanah yang digunakan sebagai media perkecambahan benih tersebut. Benih membutuhkan tanah yang kaya nutrisi agar dapat berkecambah dengan baik. Nutrisi tanah dipengaruhi pula oleh keberadaan mikroorganisme rhizosfer pada tanah tersebut. Nutrisi tanah dapat berasal dari perombakan materi organik organisme yang berada di tanah. Menurut Ma *et al.* (2019), mikroorganisme yang terdapat di zona rhizosfer dapat membantu proses perombakan atau dekomposisi tersebut. Menurut Larekeng *et al.*(2019), aktifitas fisiologis mikroorganisme rhizosfer berperan penting pada kekayaan tanah, penyerapan nutrisi, pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Mikroorganisme rhizosfer berperan krusial dan langsung dalam meningkatkan kesehatan, kualitas, dan kesuburan tanah yang sangat berkontribusi terhadap kualitas dan hasil produk budidaya (Wang *et al.*, 2020). Zhu *et al.*(2021) menyatakan bahwa, mikroorganisme rhizosfer juga berpengaruh pada ketahanan tanaman terhadap penyakit.

Mikroorganisme yang terdapat pada zona rhizosfer diantaranya yaitu bakteri dan fungi. Mikroorganisme ini dapat membantu sirkulasi nutrisi seperti karbon, nitrogen, fosfor, dan sulfur, memperbaiki polusi lingkungan, dan menjaga kestabilan terestrial (Yang *et al.*, 2021). Bakteri rhizosfer dapat berperan dalam penambatan unsur nitrogen yang dibutuhkan dalam jumlah cukup besar untuk proses fisiologis bagi tanaman (Shahrajabian *et al.*, 2021). Menurut Widawati (2015), bakteri penambat nitrogen ini digolongkan menjadi 2 jenis, yaitu simbiotik yang perlu bersimbiosis dengan akar tanaman untuk menambat nitrogen dan non-simbiotik yang tidak memerlukan simbiosis untuk dapat menambat nitrogen. Nitrogen yang tersedia bebas di udara berbentuk N_2 sehingga tidak dapat langsung diserap oleh tanaman dan perlu melewati proses fiksasi menjadi NH_4^+ dan NO_3^- yang dapat diserap tanaman. Selain bakteri, zona rhizosfer juga diperkaya oleh mikroorganisme dari jenis fungi. Fungi ini membantu tanaman mendapatkan nutrisi, meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman, meningkatkan resistensi terhadap stress abiotik, dan menjaga stabilitas zona rhizosfer di sekitar tanaman inang (Yang *et al.*, 2021). Beberapa jenis fungi berperan dalam siklus ketersediaan nutrisi dan mengandung biokontrol melawan

mikroorganisme patogen (Qiao *et al.*, 2018). Fungi di zona rhizosfer juga berperan dalam mendegradasi substrat kompleks yang berasal dari tanaman sebelumnya di zona tersebut (Zhang *et al.*, 2019). Fosfor anorganik diserap oleh fungi dan diubah menjadi arginin dan polifosfat, kemudian ditranslokasikan ke tanaman melalui hifa fungi tersebut (Madigan *et al.*, 2019).

Berdasarkan pentingnya peranan bakteri dan fungi rhizosfer tersebut terhadap pertumbuhan tanaman, maka kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer yang terdapat pada tanah sebagai media tanam akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman tersebut, termasuk pada fase perkecambahan benih. Namun, hingga saat ini belum ada penelitian yang menganalisis kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer pada tanah media perkecambahan benih kedelai pada 4 varietas berbeda dan mengetahui pengaruhnya terhadap viabilitas dan vigor benih tersebut. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menganalisis kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer pada tanah media perkecambahan agar dan mengetahui pengaruhnya terhadap viabilitas dan vigor benih 4 varietas kedelai yang berbeda.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka terbentuk rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat perbedaan antara komponen perkecambahan benih 4 varietas kedelai?
2. Bagaimanakah kondisi kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer masing-masing varietas?
3. Apakah korelasi yang terdapat pada komponen perkecambahan dengan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan masalah yang telah dikemukakan, maka dilakukan penelitian dengan tujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui perbedaan antara komponen perkecambahan benih 4 varietas kedelai kedelai
2. Untuk mengetahui kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer masing-masing varietas
3. Untuk mengetahui korelasi komponen perkecambahan dengan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer

1.4 Landasan Teori dan Kerangka Pemikiran

Produksi dan produktivitas tanaman kedelai yang tidak stabil ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Salah satu faktor krusial yang menentukan produksi dan produktivitas tanaman kedelai adalah perkecambahan benih kedelai, Farajollahi (2014) menyatakan bahwa perkecambahan benih termasuk fase kritis dalam siklus kehidupan tanaman untuk dapat bertahan hidup. Perkecambahan benih merupakan fase saat bagian termuda tanaman (embrio) melanjutkan aktifitas fisiologisnya dan menjadi titik awal pertumbuhan tanaman tersebut sebagai tanaman baru (Guo *et al.*,2020). Perkecambahan benih dapat diukur dari viabilitas dan vigor benih tersebut. Rao *et al.*(2006) menyatakan bahwa viabilitas menunjukkan jumlah benih yang dapat bertahan dan bisa berkembang menjadi tanaman normal pada kondisi yang sesuai. Benih yang telah kehilangan viabilitasnya dapat dikatakan sebagai benih mati sehingga tidak dapat berkecambah meskipun diberikan perlakuan apapun. Sedangkan, vigor menunjukkan kemampuan benih untuk dapat berkecambah, kecepatan membentuk bibit, seragam, dan kokoh dalam segala kondisi termasuk kondisi suboptimum (Savage & Bassel, 2016). Benih dengan vigor rendah akan tumbuh dengan lambat dan tidak serempak , sehingga dapat meningkatkan persaingan antar kecambah maupun tanaman yang tumbuh.

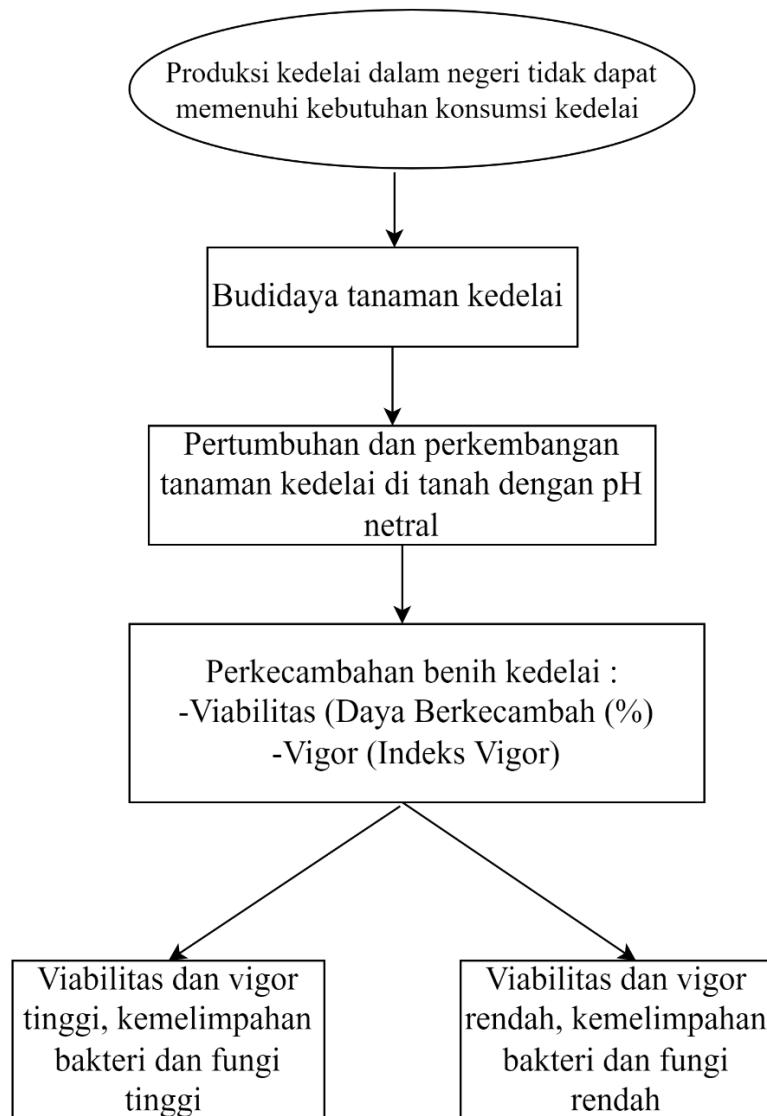
Keberhasilan perkecambahan benih dipengaruhi oleh faktor internal yang berasal dari dalam itu sendiri dan faktor eksternal yang berasal dari luar benih tersebut. Menurut Murniati (2017), salah satu faktor internal pada perkecambahan benih adalah genetik benih tersebut yang mempengaruhi kondisi fisik benih dan komposisi kimia benih. Genetik benih dipengaruhi oleh perbedaan varietas benih tersebut. Sedangkan, faktor eksternal berkaitan dengan lingkungan di sekitar benih, seperti ketersediaan air dan hara pada media untuk benih tersebut berkecambah. Benih sangat sensitif pada kondisi cekaman lingkungan (Kundrat *et al.*, 2017). Benih akan berkecambah setelah menyerap air dari sekitar lingkungannya (Mwami *et al.*, 2017). Di sisi lain Martinez-Ballesta *et al.*(2020) menyatakan bahwa benih juga terstimulasi pada tanah kaya nutrisi.

Ketersediaan air dan hara di dalam tanah berkorelasi terhadap kemelimpahan mikroorganisme, seperti bakteri dan fungi yang berada di zona rhizosfer. Ketersediaan air berpengaruh pada kelembaban tanah. Penurunan kelembaban tanah menyebabkan terjadinya penurunan aktifitas mikroba (Jiang *et al.*, 2021). Namun, Kim *et al.*(2008) menyatakan bahwa bakteri tidak melimpah pada kondisi tanah berair. Oleh karena itu, kondisi kelembaban tanah yang terlalu ekstrim rendah maupun tinggi diduga tidak kondusif bagi mikroba (Bian *et al.*, 2022).

Diversitas mikroorganisme merupakan bagian esensial bagi kesuburan dan ketersediaan nutrisi tanah. Mikroorganisme tanah mendukung pertumbuhan tanaman melalui beberapa proses seperti fiksasi nitrogen, sintesis hormon, dan peredaran nutrisi dari dekomposisi sisa tanaman (Wang *et al.*, 2020). Bakteri rhizosfer mempermudah kelarutan fosfat yang bermobilitas rendah di tanah sehingga lebih mudah diserap oleh tanaman. Bakteri rhizosfer juga berperan sebagai bakteri pemfiksasi nitrogen atmosfer (N_2) menjadi ammonia (NH_3) (Aasfar *et al.*, 2021). Menurut Igiehon & Babalola (2018), bakteri rhizosfer memiliki gen *Nif* yang bertanggung jawab untuk mengkode enzim nitrogenase yang dapat mereduksi dinitrogen (N_2) yang tersedia bebas di atmosfer namun tidak dapat langsung digunakan oleh tanaman menjadi ammonium (NH_4^+).

Kemudian, menurut Murali *et al.*(2021), fungi dapat melarutkan unsur seperti fosfor (P), kalium (K), seng (Zn) dan memproduksi fitohormon sehingga meningkatkan produksi tanaman dengan meningkatkan perkecambahan benih, pertumbuhan tunas dan akar, produksi klorofil, produksi buah, dan lain sebagainya baik secara langsung maupun tidak langsung.

Berdasarkan hal yang telah dipaparkan sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer pada media perkecambahan memiliki potensi untuk memiliki pengaruh yang berbeda-beda terhadap perkecambahan benih tersebut pada varietas yang beragam. Analisis kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer diawali dengan melakukan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan untuk memurnikan DNA dari membran sel, protein, dan komponen lain (Gupta, 2019). DNA yang dihasilkan dari ekstraksi kemudian dijadikan sebagai *template* untuk proses amplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat mengamplifikasi sampel DNA dalam jumlah kecil menjadi cukup besar untuk dapat dianalisis (Tortora *et al.*, 2018). Proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dikatalis oleh enzim *Taq* polymerase yang dapat menyisipkan 2000 nukleotida setiap menit (Ehtisham *et al.*, 2016). DNA yang telah diamplifikasi kemudian divisualisasi dengan proses elektroforesis. Pita DNA yang dihasilkan dapat menginformasikan secara sederhana indikasi kesuksesan ataupun kegagalan suatu reaksi PCR dan dapat digunakan sebagai penilaian terhadap kuantitas relatif dari amplikon dengan panjang yang sama (Wittmeier & Hummel, 2022). Namun, hingga saat ini belum ada penelitian yang menganalisis kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer pada media perkecambahan dan hubungannya dengan viabilitas dan vigor benih pada varietas yang beragam. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui perbedaan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer pada media perkecambahan dan hubungannya dengan viabilitas dan vigor benih pada 4 varietas kedelai yang berbeda. Alur kerangka pemikiran penelitian ini dapat dilihat pada diagram alir (Gambar 1) berikut ini:



Gambar 1. Diagram Alir Kerangka Berpikir

1.5 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, maka dapat ditarik hipotesis sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan viabilitas dan vigor benih 4 varietas kedelai dan didapatkan 1 varietas dengan viabilitas dan vigor terbaik

2. Perbedaan viabilitas dan vigor benih 4 varietas kedelai merepresentasikan perbedaan kemelimahan bakteri dan fungi rhizosfer dengan viabilitas dan vigor benih terbaik memiliki kemelimahan bakteri dan fungi rhizosfer paling tinggi
3. Perbedaan komponen perkecambahan memiliki korelasi dengan kemelimahan bakteri dan fungi rhizosfer, komponen perkecambahan tinggi menghasilkan kemelimahan bakteri dan fungi rhizosfer yang tinggi pula, dan sebaliknya

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Kedelai

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) merupakan tanaman pangan dari jenis kacang-kacangan. Tanaman ini berasal dari daratan Cina sejak tahun 2500 SM. Awal abad ke-16, kedelai mulai menyebar di Indonesia dimulai dari Pulau Jawa, kemudian menyebar ke Bali, Nusa Tenggara, dan pulau lain di Indonesia. Hal ini menyebabkan kedelai memiliki beberapa nama lokal seperti kacang bulu, kacang jepung, kacang kuning, gadule, demokam, dan sebagainya (Usnawiyah dan Khaidir, 2017).

Kedelai merupakan tanaman pangan semusim yang tergolong tanaman kacang-kacangan. Batang tanaman kedelai memiliki tinggi 70-90 cm yang berasal dari poros embrio yang terdapat pada biji masak (Adie dan Krisnawati, 2013).

Kumudini (2010) menyatakan bahwa batang kedelai tidak memiliki kloroplas dan memiliki kambium diantara xilem dan floem. Kedelai memiliki 4 tipe daun, yaitu daun kotiledon, daun primer, daun trifoliat, dan profila. Daun primer dan daun trifoliat memiliki pulvinus cukup besar pada titik perlekatan tangkai dan batang. Pulvinus ini berhubungan dengan gerakan dan posisi daun pada siang dan malam hari yang dipengaruhi oleh perubahan osmotik. Kedelai tergolong sebagai tanaman kleistogami sehingga mampu menyerbuk sendiri (Adie dan Krisnawati, 2013). Bunga kedelai berwarna keunguan dengan tipe bunga papilionaceae yang memiliki 5 kelopak dan 5 bagian mahkota bunga. Bunga kedelai memiliki *gynoecium* sebagai alat reproduksi betina dan *androecium* sebagai alat reproduksi jantan. Bunga yang telah melewati masa pembuahan akan membentuk polong,.

meskipun 20-80% bunga dapat mengalami absisi sebelum berhasil menjadi polong (Singh, 2013). Polong mencapai ukuran maksimum ketika usia 20-30 hari.

Biji kedelai berbentuk lonjong hingga bulat dengan berat sekitar 10-14 gram dan berwarna kuning. Kedelai memiliki perakaran tunggang dengan panjang 200-250 cm. Akar tersebut dapat bersimbiosis dengan mikroba seperti bakteri rhizobium membentuk bintil akar (nodul). Bakteri ini mendapat energi dari fotosintesis tanaman dan kemudian memfiksasi nitrogen bebas dari udara menjadi ammonia yang dibutuhkan tanaman kedelai (Kumudini, 2010).

2.2 Syarat Tumbuh Tanaman Kedelai

Faktor agroklimat yang menentukan keberhasilan budidaya tanaman kedelai diantaranya adalah faktor iklim dan tanah. Faktor iklim berpengaruh terhadap pembungaan, pembentukan polong kedelai, dan biji yang dihasilkan. Kedelai tergolong sebagai tanaman hari pendek, sehingga tidak mampu berbunga jika penyinaran >16 jam, namun akan mempercepat pembungaan apabila penyinaran <12 jam. Kedelai yang ditanam di Indonesia lebih cepat berbunga meskipun baru berusia 20-22 hari. Tanaman kedelai membutuhkan penyinaran penuh tanpa naungan. Penyinaran yang tertahan dapat menyebabkan tanaman kedelai mengalami etiolasi dan menekan pertumbuhan karena laju fotosintesis menurun, terutama pada fase awal vegetatif. Tanaman kedelai tidak dapat membentuk polong pada suhu rendah ($<15^{\circ}\text{C}$) dan mengakibatkan kualitas benih yang buruk pada suhu tinggi (30°C). Suhu yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman kedelai yaitu sekitar $22\text{-}27^{\circ}\text{C}$. Kelembaban udara yang optimal untuk pertumbuhan sampai stadia pengisian polong berkisar antara RH 70-90% dan turun menjadi RH 60-75 % untuk pemasakan polong sampai panen. Kelembaban yang terlalu tinggi saat pemasakan polong dan panen akan menyebabkan polong bercendawan maupun biji busuk (Sumarno dan Manshuri,2013).

Sumarno dan Manshuri (2013), menyatakan bahwa tanaman kedelai memiliki sifat yang berlawanan dengan tanaman padi terhadap kebutuhan fisika-kimia tanah. Tanaman kedelai tidak dapat tumbuh pada areal yang menggenang karena akan mengakibatkan akar mudah membusuk dan tanah menjadi masam ($\text{pH} < 5,5$), sehingga mikroorganisme disekitar perakaran yang dapat membantu penambatan nitrogen (N) bebas , seperti Rhizobium akan mati. Kisaran pH yang baik untuk tanaman kedelai yaitu sekitar $5,5 - 7,0$. Hara makro seperti magnesium (Mg), kalsium (Ca), dan kalium (K) sulit tersedia pada tanah masam dan mengakibatkan Al dan Fe tersedia secara berlebih. Sebaliknya, hara mikro seperti Mn, Zn, dan Fe sulit tersedia pada tanah dengan $\text{pH} > 7,0$, sehingga memudahkan terjadinya klorosis. Namun, kondisi kapasitas lapang dengan kelembaban tinggi bermanfaat saat penanaman benih sampai berkecambah, yang akan terus menurun seiring dengan pertumbuhan tanaman kedelai. Hal ini disebabkan karena benih akan mengalami imbibisi atau absorbansi air pada saat proses perkecambahan benih (Pereira & Masetto, 2021). Akar tanaman kedelai membutuhkan jangkauan yang cukup dalam untuk dapat menyerap hara, sehingga dibutuhkan lapisan olah tanah sekitar 40 cm. Lapisan olah yang dangkal akan menghambat perkembangan akar dan drainase tanah Tanah dengan tekstur liat atau lempung berpasir dengan drainase yang baik agar tidak tergenang dan kaya bahan organik (3-4%) sangat baik untuk pertumbuhan tanaman kedelai. (Sumarno dan Manshuri, 2013).

2.3 Unsur Hara bagi Tanaman Kedelai

Tanaman kedelai membutuhkan hara baik hara makro maupun mikro. Hara makro yang dibutuhkan diantaranya berupa unsur nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg) dan sulfur (S) (de Vargas et al., 2018). Nitrogen merupakan bagian dari penyusun klorofil dan enzim yang membantu regulasi pada proses fisiologis, juga dibutuhkan dalam pembentukan asam amino yang menjadi penyusun makromolekul protein dan metabolisme karbohidrat yang menstimulasi pertumbuhan akar dan penyerapan nutrisi lainnya. Fosfor berperan dalam menyimpan dan mendistribusikan energi yang dihasilkan saat fotosintesis.

Kalium berfungsi untuk mempertahankan turgor sel, mentrasnlokasikan pati, air, dan nutrisi, sintesa protein, dan pembentukan pati. Magnesium merupakan salah satu komponen klorofil dan berperan dalam metabolisme energi tanaman dan pembentukan protein. Sulfur dapat meningkatkan pertumbuhan, produktifitas, dan persentase minyak pada biji kedelai dengan berperan dalam pembentukan asam amino (Bagale, 2021). Kalsium berperan pada diferensiasi sel, fotomorfogenesis, pertahanan terhadap cekaman abiotik maupun biotik (Hong-Bo *et al.*, 2008), fusi sel, pembawa sinyal, dan perkembangan reproduksi sel (Ge *et al.*, 2007). Selain itu, tanaman kedelai juga membutuhkan hara mikro seperti boron (B), besi (Fe), mangan (Mn), molibdenum (Mo) and seng (Zn), aluminum (Al), dan sodium (Na) (de Vargas *et al.*, 2018).

2.4 Deskripsi Varietas Kedelai

2.4.1 Varietas Anjasmoro

Kedelai varietas Anjasmoro cukup popular di kalangan petani kedelai. Varietas ini berasal dari seleksi massa dari populasi galur murni Mansuria dan mulai dilepas sejak 22 Oktober 2001. Tinggi tanaman \pm 62-64 cm dan bobot 100 biji sebesar 16,0-17,0 g. Tanaman mulai berbunga pada umur 36,1-39,6 hari dan polong masak pada umur 83,5-94,8 hari. Potensi hasil varietas ini \pm 2,03-2,25 t/ha. Varietas ini memiliki kelebihan berupa tahan rebah, tahan terhadap penyakit karat daun, dan polong tidak pecah (Balitkabi, 2016). Bertham *et al.*(2020) menyatakan bahwa kedelai varietas Anjasmoro paling tahan terhadap zona koastal yang memiliki berbagai cekaman seperti kekurangan kelembaban tanah, nutrisi tanaman, dan bahan organik, suhu dan salinitas tinggi, serta angin kencang.

2.4.2 Varietas Argomulyo

Kedelai varietas Argomulyo merupakan kedelai introduksi dari Thailand oleh PT Nestle Indonesia pada tahun 1988 dengan nama asal Nakhon Sawan 1 dan mulai dilepas sejak tahun 1998. Tinggi tanaman \pm 40 cm dan bobot 100 biji sebesar 16,0 g. Tanaman mulai berbunga pada umur 35 hari dan polong masak pada umur 80-82 hari. Potensi hasil varietas ini tidak setinggi varietas lainnya, yaitu \pm 1,5-2,0 t/ha. Namun, varietas ini memiliki kelebihan berupa tahan rebah, toleran terhadap hama, dan cocok untuk dijadikan bahan baku susu kedelai (Balitkabi, 2016). Selain itu, pada cekaman NaCl (salinitas tinggi) kedelai varietas Argomulyo mampu menghasilkan embrio somatik lebih banyak dari kedelai varietas Wilis (Sari dan Ermavitalini, 2013).

2.4.3 Varietas Dena-1

Kedelai varietas Dena-1 merupakan hasil persilangan varietas Argomulyo dengan IAC 100 dan mulai dilepas sejak 05 Desember 2014. Tinggi tanaman \pm 59,0 cm dan bobot 100 biji sebesar 14,3 g. Tanaman mulai berbunga pada umur 33 hari dan polong masak pada umur 78 hari. Potensi hasil varietas ini cukup tinggi dibandingkan varietas populer lainnya yaitu mencapai \pm 2,9 t/ha. Varietas ini rentan terhadap hama pengisap polong (*Riptortus linearis*) dan hama ulat grayak (*Spodoptera litura* F.). Namun, varietas ini memiliki kelebihan berupa agak tahan rebah, polong tidak mudah pecah, tahan penyakit karat daun (*Phakopsora pachyrhizi*), dan toleran terhadap naungan hingga 50% (Balitkabi, 2016). Varietas ini menghasilkan produksi tertinggi di lahan kering diantara varietas Detap, Grobogan, Tanggamus, Anjasmoro, dan Devon, sehingga memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan di lahan kering (Susilawati *et al.*, 2021).

2.4.4 Varietas Devon-1

Kedelai varietas Devon-1 merupakan hasil persilangan varietas Kawi dengan IAC 100 dan mulai dilepas sejak 15 Desember 2015. Tinggi tanaman \pm 58,1 cm dan bobot 100 biji sebesar 14,3 g. Tanaman mulai berbunga pada umur 34 hari dan

polong masak pada umur 83 hari. . Potensi hasil varietas ini juga cukup tinggi dibandingkan varietas populer lainnya yaitu mencapai $\pm 2,75 - 3,09$ t/ha. Varietas ini cukup tahan rebah dan pecah polong, tahan terhadap penyakit karat daun (*Phakopsora pachirhyzi* Syd) dan cukup tahan hama pengisap polong (*Riptortus linearis*) (Balitkabi, 2016).

2.5 Perkecambahan Benih Kedelai

Benih berperan sebagai unit reproduktif yang menjamin kemampuan bertahan dari semua spesies tanaman. Selanjutnya, dikarenakan oleh peranan ini perkecambahan benih ditandai sebagai kunci pertanian modern. Perkecambahan benih dapat didefinisikan sebagai muncul dan berkembangnya secara aktif embrio dari benih yang ditandai dengan pecahnya selubung benih dan munculnya tanaman muda. Proses perkecambahan menjadi suatu urutan dalam kehidupan tanaman yang menjamin keberlangsungan hidup tanaman dan menjadi indikator bagi kemampuan tanaman untuk berkembang menjadi tanaman normal pada kondisi yang mendukung. Perkecambahan dapat terjadi apabila tercapai keseimbangan penghambat dan pendukung. Faktor penghambat yang lebih besar dari faktor pendukung akan menyebabkan dormansi benih. Perkecambahan benih dapat dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal dari benih tersebut. Faktor internal yang mempengaruhi perkecambahan benih yaitu kemasakan benih, umur benih, varietas dan kondisi fisik benih. Sedangkan, faktor eksternal yang mempengaruhi perkecambahan benih adalah kondisi lingkungan, seperti air, suhu, kesuburan tanah dan cahaya. Selama masa perkecambahan, benih melewati beberapa peristiwa, yaitu imbibisi, aktivasi enzim, inisiasi pertumbuhan embrio, pemecahan selubung benih, dan kemunculan bibit (Copeland & McDonald, 2001). Kondisi kekurangan unsur P dapat menyebabkan penurunan perkecambahan hingga 66% dan kekurangan unsur N dapat menyebabkan perkecambahan terhambat. Selain itu, meskipun kelebihan ion Ca^{2+} dapat menunda perkecambahan, namun ion Ca^{2+} mendominasi kation yang berperan dalam proses perkecambahan, sehingga kekurangan ion tersebut juga dapat menghambat proses perkecambahan (Martinez-Ballesta *et al.*, 2020).

2.6 Viabilitas Benih

Viabilitas adalah potensi suatu benih atau sekelompok benih untuk berkecambah. Benih yang memiliki viabilitas disebut benih viabel. Suatu benih dapat dikatakan sebagai benih viabel apabila memiliki jaringan hidup yang memadai untuk mampu berkecambah saat benih tidak dormansi dan jika kondisi lingkungan memadai. Sebaliknya, benih non viabel tidak akan mampu berkecambah meskipun pada kondisi demikian, namun tidak pula sepenuhnya mati (Black *et al.*, 2006). Kartika *et al.*(2017) menyatakan bahwa apabila benih ditanam dengan memenuhi semua faktor yang dibutuhkan untuk berkecambah, namun benih tidak berkecambah, hal itu dapat disebabkan oleh benih mengalami dormansi ataupun benih kehilangan viabilitasnya. Copeland & McDonald (2001) menyatakan bahwa viabilitas merupakan indikator benih manakah yang hidup, bermetabolisme aktif, dan pengaruh kemampuan enzim untuk mengatalis reaksi metabolisme untuk perkecambahan dan pertumbuhan bibit. Oleh karena itu, viabilitas dapat disebut juga sebagai daya berkecambah. Menurut Pradhan *et al.* (2022), pengujian viabilitas merupakan pokok dari konservasi dan penelitian tanaman serta menunjukkan kesuksesan usaha konservasi *ex-situ* tanaman. Pengujian ini diimplementasikan untuk memperkirakan benih yang viabel dan berguna setelah pengumpulan dan penyimpanan benih. Pengujian viabilitas benih dapat memperkirakan viabilitas jaringan sebaik viabilitas keseluruhan sel secara utuh. Viabilitas benih pada populasi benih ditunjukkan dengan persentase benih yang berkecambah pada pengujian langsung (diasumsikan ketiadaan benih dorman pada fraksi tidak berkecambah), ataupun persentase benih yang menunjukkan respon positif pada pengujian alternatif (tidak langsung). Pengujian secara langsung dapat dilakukan dengan mengukur kecambah normal yang muncul saat uji perkecambahan. Sedangkan, pengujian secara tidak langsung dapat dilakukan dengan perlakuan biokimia melalui uji tetrazolium (TTZ) (Black *et al.*, 2006). Selain itu, Kartika *et al.*(2017) menyatakan bahwa viabilitas benih dapat diukur dengan menguji daya berkecambah benih dan berat kering kecambah normal

2.7 Vigor Benih

Kartika *et al.* (2017) mendefinisikan vigor sebagai sebagai kemampuan benih untuk tumbuh normal dan berproduksi normal pada kondisi suboptimum. Benih dari berbagai sumber mungkin memiliki level perkecambahan yang sama pada kondisi optimum. Namun, sangat kontras terhadap kemampuan mengembangkan tanaman pada kondisi cekaman yang disebabkan oleh perbedaan vigor tersebut (Savage & Bassel, 2016). Black *et al.*(2006) mengemukakan bahwa konsep dari vigor benih timbul dari kegagalan standar pengujian perkecambahan untuk memprediksi perbedaan kemunculan di lahan yang diamati diantara tingginya lot benih yang mampu berkecambah, terutama di kondisi cekaman. Hal ini menimbulkan asumsi bahwa ada aspek fisiologis yang lebih jauh terhadap lot benih, melewati kemampuan sederhana dari sekelompok benih untuk berkecambah bahkan di bawah kondisi terkendali pada pengujian perkecambahan dan untuk menghasilkan struktur morfologi esensial bibit untuk berkembang sebagai tanaman normal. Lot benih dengan perkecambahan tinggi namun pertumbuhan rendah tergolong sebagai “vigor rendah”, sedangkan pertumbuhan yang baik kemudian digolongkan sebagai “vigor tinggi”.

Pengujian vigor dilakukan untuk mendapatkan informasi kualitas benih dari pengujian perkecambahan dalam rentang waktu yang relatif singkat. Pengujian vigor benih dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu langsung dan tidak langsung. Pengujian langsung mengukur perbedaan istilah dari sebuah aspek dari perkecambahan ataupun pertumbuhan, seperti pengujian fisiologi dan pengujian penuaan benih. Sedangkan, pengujian tidak langsung berfokus pada satu aspek vigor saja, daripada mengevaluasi berbagai aspek secara bersamaan, seperti pengujian biokimia (Black *et al.*,2006). Menurut Ebene *et al.*(2020) dan pengujian vigor benih dapat dilakukan dengan pengujian kecepatan tumbuh benih dan indeks keserempakan tumbuh benih. Benih dengan vigor tinggi tumbuh lebih cepat dibandingkan dengan benih vigor rendah. Selain itu, semakin tinggi keserempakan tumbuh benih maka, semakin tinggi pula vigor benih tersebut. Keserempakan tumbuh sangat penting bagi kualitas tanaman, karena dapat

mengurangi resiko persaingan antar tanaman tersebut, sehingga tidak terjadi perbedaan seperti luas daun maupun jumlah nodul yang terbentuk.

2.8 Bakteri Rhizosfer

Rhizosfer telah didefinisikan sebagai zona di sekitar perakaran yang banyak mengandung mikroorganisme dan proses penting untuk pertumbuhan dan kesehatan tanaman selama lebih dari 100 tahun. Berbagai studi terbaru mengungkapkan bahwa ada keterkaitan yang sangat besar dengan sistem akar (Bakker *et al.*, 2013). Ling *et al.*(2022) menyatakan bahwa salah satu bakteri yang memperkaya rhizosfer yaitu dari filum *Proteobacteria*. Sebagian besar bakteri rhizosfer dari *Proteobacteria* berasal dari kelas *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, dan *Gammproteobacteria*. Bakteri rhizosfer didominasi dari kelas *Alphaeobacteria* yang terdiri dari famili *Rhizobiales* dan *Rhodospirillales*. *Rhizobiales* sendiri memiliki 9 genus, dengan 5 genus diantaranya tergolong sebagai bakteri rhizosfer, yaitu *Bradyrhizobium*, , *Azorhizobium*, , *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, dan *Rhizobium*. Kemudian, *Rhodospirillales* memiliki 1 genus yang tergolong sebagai bakteri rhizosfer yaitu genus *Azospirillum*. Bakteri rhizosfer dari ordo *Betaproteobacteria* memiliki famili Nitrosomonadales dan genus *Nitrosomonas*. Kemudian, dari ordo *Gammproteobacteria* dengan genus *Nitrosococcus* dan *Pseudomonas* (Madigan *et al.*, 2019).

Soumare *et al.*(2020) menyatakan bahwa nitrogen yang tersedia bebas di atmosfer tidak dapat langsung digunakan oleh tanaman. Hal ini disebabkan karena tanaman menyerap nitrogen untuk proses metabolismenya dalam bentuk ammonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-), sedangkan nitrogen yang tersedia di atmosfer berbentuk dinitrogen (N_2). Oleh karena itu, dibutuhkan bakteri rhizosfer yang dapat membantu fiksasi nitrogen agar dapat diserap oleh tanaman. Menurut Mahmud *et al.*(2020) bakteri ini dapat bersimbiosis dengan akar tanaman membentuk nodul

atau bintil akar, terutama dengan tanaman legume seperti kedelai. Bakteri di dalam bintil akar kemudian terdiferensiasi menjadi bakteroid dan memfiksasi nitrogen menggunakan enzim nitrogenase kompleks. Pembentukan enzim nitrogenase ini dikode oleh gen *nif* yang terkandung di dalam bakteri-bakteri tersebut. Enzim nitrogenase berfungsi sebagai katalisator proses fiksasi nitrogen dan membantu transport elektron dalam suasana mikroaerobik. Madigan *et al.*,(2019) menyatakan bahwa, hal ini menyebabkan enzim terinaktifasi pada kadar O₂ tinggi, sehingga O₂ ini diikat oleh leghehemoglobin yang berada pada simbiosom dalam bintil akar. Oksigen ini kemudian menjadi salah satu bahan pembentuk ATP yang menjadi sumber energi proses fiksasi nitrogen yang menghasilkan NH₃. Tortora *et al.*(2018) menyatakan bahwa dengan bantuan bakteri *Nitrosomonas* NH₃ yang terbentuk dari fiksasi mengalami nitrifikasi menjadi NO₂⁻ dan menjadi NO₃⁻ dengan bantuan bakteri *Nitrobacter*. Selain itu, NH₄⁺ pun terbentuk dari NH₃ yang mengalami amonifikasi dengan melibatkan berbagai bakteri dan bahkan fungi. Namun, NH₄⁺ yang terbentuk ini pun dapat diubah menjadi NO₂⁻ dan NO₃⁻ dengan bantuan *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*. Menurut Gopalakrishnan *et al.*(2015), bakteri rhizosfer memperkaya nutrisi tanah, dan meningkatkan proteksi tanaman dari hama dan penyakit. Bakteri rhizosfer dapat memicu selulase, protease, lipase dan β-1,3 glucanase dan meningkatkan pertahanan tanaman dengan memicu induksi system resistensi melalui lipopolisakarida, flagela, laktton homoserin,, azetoin, butanediol untuk melawan hama dan penyakit.

2.9 Fungi Rhizosfer

Zona rhizosfer juga diperkaya oleh mikroorganisme dari golongan fungi. Fungi yang berada di daerah rhizosfer tanah didominasi oleh divisi *Ascomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota*, dan *Glomeromycota* (Song *et al.*, 2018). Murali *et al.*(2020) menyatakan bahwa, fungi rhizosfer sebagian berasal dari *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Phoma* dari divisi *Ascomycota*, *Rhizoctonia* dari divisi *Basidiomycota*, dan *Mortierella* dari divisi *Zygomycota*.

Kemudian, fungi rhizosfer yang bersimbiosis dengan akar tanaman disebut dengan mikoriza. Ada 2 jenis mikoriza, yaitu ektomikoriza dan endomikoriza. Ektomikoriza membentuk lapisan luas seperti mantel di luar akar dengan hanya sedikit penetrasi ke dalam akar dan berperan penting dalam keberlangsungan ekologi hutan. Fungi ini banyak ditemukan di tumbuhan konifer, beech, dan oak. Sedangkan, endomikoriza menempel dengan kuat di dalam sel-sel penyusun akar. Meskipun ektomikoriza menguasai ekologi hutan, diversitas endomikoriza lebih besar dari ektomikoriza yang didominasi oleh mikoriza arbuskular (MA), terutama filum *Glomeromycota* (Madigan *et al.*, 2019). Ektomikoriza dan mikoriza arbuskular meningkat setelah terjadi perubahan dari fungi saprofit menjadi fungi simbion yang bersimbiosis dengan akar tanaman. Yang *et al.* (2021) mendapatkan hasil berupa zona rhizosfer dengan kondisi padang rumput salin alkali didominasi oleh fungi dari genus *Funneliformis* dan *Glomus* dari divisi *Glomeromycota*.

Komunitas fungi rhizosfer berperan esensial untuk menentukan kesehatan tanaman dan meningkatkan produksi tanaman. Komunitas fungi rhizosfer sangat penting bagi komponen mikrobioma dan berperan penting dalam ekologi terestrial, seperti siklus nitrogen dan karbon, parasitisme, dan patogenisitas (Yao *et al.*, 2020). Fungsi fisiologis tanaman yang memiliki fungi rhizosfer seperti mikoriza, bekerja lebih baik dan mampu bersaing dengan baik dengan tanaman lain karena pasokan nutrisi ke tanaman lebih stabil dan efektif (Madigan *et al.*, 2019). Keberadaan fungi rhizosfer ini juga meningkatkan pertumbuhan akar lateral dan keseluruhan biomassa tanaman, menginduksi pembungaian, meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah buah dan daun. Kemampuan antagonis fungi rhizosfer terhadap patogen dan predator mikrobial dan mampu menginduksi resistensi untuk meningkatkan sistem imun tanaman, sehingga tanaman dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman tersebut. Fungi ini memproduksi *1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase* dan fitohormon seperti IAA, giberelin, sitokin, dan asam absisat untuk mengurangi produksi etilen. Produksi siderofor dan enzim hidrolisis seperti kitinase, selulase, dan β -1,3 glucanase membantu melawan infeksi penyakit akibat mikroorganisme

patogen. Selain itu, fungi rhizosfer dapat membantu proses mineralisasi dan kelarutan fosfor organik kompleks yang merupakan salah satu unsur krusial bagi pertumbuhan tanaman (Murali *et al.*, 2021).

2.10 Analisis Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer

2.10.1 Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi

Ekstraksi DNA merupakan teknik dasar dari pekerjaan laboratorium molekuler. Teknik ekstraksi DNA harus menghasilkan kualitas dan kuantitas DNA yang baik, murni, dan terhindar dari kontaminan seperti RNA dan protein. Proses ekstraksi DNA melibatkan pelisiran sel dan pelarutan DNA dengan metode kimia ataupun enzimatis dengan untuk menghilangkan makromolekul, lipid, RNA, dan protein. Metode ekstraksi DNA diantaranya yaitu menggunakan fenol-kloroform, *salting-out*, pengaplikasian proteinase-K, dan menggunakan membran gel silika (Gupta, 2019). Prinsip ekstraksi DNA terdiri dari beberapa tahapan yaitu perusakan sitoplasma dan membran inti, pemisahan dan pemurnian DNA dari komponen lain seperti lipid, protein, dan asam nukleat lain (Ali *et al.*, 2017). Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi dapat diukur secara akurat dengan absorbansi ultraviolet (UV) spektrofotometer. Absorbansi DNA terukur pada 260 nm. Sampel DNA murni memiliki rasio absorbansi 260 dan 280 nm (A_{260}/A_{280}) pada kisaran 1,8. Namun, rasio kurang dari 1,8 mengindikasikan bahwa sampel terkontaminasi baik oleh protein maupun fenol (Brown, 2016).

2.10.2 Amplifikasi sekuen DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik yang mengamplifikasi sampel DNA dengan spesifik secara *in vitro* (Gupta, 2019). Seluruh reagen yang

dibutuhkan dimasukkan ke dalam tube dan ditempatkan pada *thermal cycler*. Setiap untai DNA target digunakan sebagai *template* untuk sintesis DNA. Katalisator yang digunakan yaitu enzim DNA polymerase dari bakteri termofilik seperti *Thermus aquaticus* yang dapat melewati fase pemanasan tanpa terjadi kerusakan. Proses ini hanya dapat mengamplifikasi sekuens DNA relatif sedikit dan spesifik yang ditentukan dari primer yang dipilih. Primer digunakan untuk membantu dimulainya reaksi sebagai pelengkap ujung DNA target dan akan berhbridisasi ke fragmen DNA untuk diamplifikasi (Tortora *et al.*, 2018). Sekuens DNA bakteri dapat diamplifikasi dengan amplifikasi gen 16S rRNA (dos Santos *et.al.*, 2019), menggunakan primer *Forward* (5'-3') 63F dengan sekuens CAGGCCTAACACATGCAAGTC dan *Reverse* (5'-3') 1387 R dengan sekuens GGGCGGWGTGTACAAGGC (Integrated DNA Technologies, 2016). Sedangkan DNA fungi dapat diamplifikasi dengan primer ITS (*Internal Transcribed Spacer*), *Forward* (5'-3') ITS1 dengan sekuens TCCGTAGGTGAACCTGCGG dan *Reverse* (5'-3') ITS4 dengan sekuens TCCTCCGCTTATTGATATGC (White *et al.*, 1990).

Polymerase Chain Reaction (PCR) memiliki 3 prinsip utama, yaitu denaturasi, penempelan primer (*annealing*), dan elongasi. Denaturasi merupakan fase saat DNA yang semula beruntai ganda terpisah menjadi beruntai tunggal pada suhu 94-95°C dengan enzim *Taq* polymerase sebagai katalisnya. Selanjutnya, tahap penempelan primer (*annealing*) berlangsung dengan suhu 55-65°C. Suhu *annealing* yang terlalu tinggi akan menyebabkan primer tidak melekat dengan baik, sehingga DNA yang teramplifikasi sangat rendah. Namun, apabila suhu terlalu rendah, primer menempel tidak spesifik pada DNA target, sehingga terjadi amplifikasi pada segmen DNA yang tidak diharapkan. Pemanjangan primer oligonukleotida dan pembentukan untai baru berlangsung pada suhu optimal 72-78°C (Ehtisham *et al.*, 2016). Tahap-tahap tersebut diulang sebanyak 30-40 kali (Gupta, 2019).

2.10.3 Visualisasi Hasil Amplifikasi dengan Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA dapat dilihat dengan menggunakan gel elektroforesis. Elektroforesis memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran dengan gel elektroforesis. Setiap pita yang muncul saat proses elektroforesis berisi banyak salinan dari partikel fragmen DNA (Tortora *et al.*, 2018). Menurut Oliveira *et al.*(2017) DNA merupakan molekul bermuatan negatif karena fosfat yang berbentuk gula fosfat pada “tulang punggung” molekul DNA mempunyai muatan negatif. Oleh karena itu, ketika ditempatkan pada medan elektrik, DNA akan bermigrasi ke kutub positif (anoda). Metode elektroforesis telah berkembang dari metode kovensional dengan gel agarose elektroforesis ke elektroforesis gel kapiler. Pemisahan fragmen DNA pada metode elektroforesis gel kapiler dilakukan dengan pada kapiler dari gel *catridge* pracetak. Molekul berpindah melalui kapiler melewati detektor yang mendekripsi dan mengukur sinyal fluoresens. Detektor *photomultiplier* mengubah sinyal emisi menjadi data elektronik. Setelah rangkaian proses selesai, data ditampilkan sebagai elektroferogram atau *gel image*. Software proses elektroforesis menghitung ukuran fragmen DNA berdasarkan pada waktu migrasi fragmen yang dibandingkan dengan referensi *size marker* yang berukuran 50 bp-1,5 kb (Qiaxcell DNA Handbook, 2014).

2.11 Klasifikasi Tanaman Kedelai

Mishra *et al.*(2010) menyatakan bahwa genus dan nama spesies pada taksonomi kedelai mengalami berbagai perubahan. Kedelai tergolong dalam genus *Glycine* dengan 2 subgenera, yaitu *Soja* dan *Glycine*. Kedelai budidaya (*Glycine max*) dan kedelai liar (*Glycine soja*) tergolong dalam subgenus Soja. Kedelai pernah dikenal sebagai *Glycine hispida*, *Glycine soja*, dan *Glycine max*. *G. soja* sempat dipertimbangkan sebagai nama spesies kedelai pada tahun 1942 oleh Kelsey dan Dayton, namun nama *G. max* yang diusulkan oleh Merill pada 1917 telah dikenal luas. Singh (2013) menyatakan klasifikasi tanaman kedelai sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae (Leguminosae)
Sub Famili : Papilionadeae
Genus : Glycine
Spesies : *Glycine max* (L). Merill

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kebun milik Bapak Ngadio, Desa Tanjung Kesuma, Kecamatan Purbolinggo, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung dan Laboratorium Biomolekuler UPT LTSIT Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan mulai dari Bulan Juni 2022 sampai Bulan Agustus 2022.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu benih kedelai varietas Anjasmoro, Argomulyo, Devon-1, dan Dena-1, tanah, air, aquades, medium Nutrient Broth, kentang, gula, es batu, alkohol, kit ekstraksi DNA , kit pereaksi PCR, dan kit pereaksi elektroforesis. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mistar, ember, cangkul, karung, timbangan, cup plastik, *seedling tray*, plastik klip, pisau, alat tulis, sarung tangan, sendok, *styrofoam*, kardus, kertas *tissue*, Erlenmeyer, tabung reaksi, *alumunium foil*, *hot plate*, kapas, kasa, autoklaf, oven, *micropipette*, *microtube* steril 0,2 mL, 1.5 mL, dan 2 mL, tip steril ukuran 10 μ L, 200 μ L, dan 1000 μ L, *plate* , alat *Centrifuge*, *Tissue Lyser*, Vortex, Alat Inkubasi, Alat Spin, *Nanophotometer* (IMPLEN, AS), kuvet, Laminar UV 4 PCR, *thermocycler* (*Sensoquest*, Jerman), *tray buffer*, alat elektroforesis kapiler digital *QIAxcel Advanced* (Qiagen, Jerman), dan *freezer*.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengamatan Komponen Perkecambahan

3.3.1.1 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan non faktorial yang disusun dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 ulangan. Faktor pada penelitian ini yaitu benih kedelai dengan 4 varietas berbeda, yang terdiri dari :

V1 : Benih Kedelai Varietas Anjasmoro

V2: Benih Kedelai Varietas Argomulyo

V3 : Benih Kedelai Varietas Dena-1

V4 : Benih Kedelai Varietas Devon-1

Tata letak percobaan pada penelitian ini terdapat pada Gambar 2 :

I	II	III	IV
V1	V3	V4	V3
V3	V2	V2	V1
V4	V1	V3	V4
V2	V4	V1	V2

Gambar 2. Tata Letak Percobaan

Berdasarkan pengacakan 4 varietas dan 4 ulangan tersebut, maka masing-masing pengamatan didapatkan 16 satuan percobaan. Data yang diperoleh dianalisis dengan *software online GerminaQuant*, kemudian uji homogenitas dan perbedaan nilai tengah dengan Uji Bartlett, selanjutnya data dianalisis ragam dan dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 5%. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program statistika RStudio.

3.3.1.2 Persiapan Media Tanam

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan tanah pada kedalaman 20 cm sebagai media tanam. Sebelum digunakan sebagai media tanam, tanah dianalisis kadar kemasaman (pH) dan kandungan haranya terlebih dahulu. Pengujian dilakukan di Laboratorium Pengujian UPT LTSIT Universitas Lampung. Hara yang dianalisis yaitu kandungan hara makro seperti nitrogen (N), fosfat (P), dan kalium (K), hasil analisis terdapat pada Tabel 1. Derajat kemasaman yang optimal bagi tanaman kedelai berkisar antara 5,5-7,0 (Sumarno dan Manshuri, 2013). Pengujian ini dilakukan agar dapat dibandingkan dengan variabel pengamatan, sehingga dapat ditarik kesimpulan berdasarkan hipotesis pada penelitian ini

Tabel 1. Kandungan Unsur dalam Media Perkecambahan

No	Unsur	Jumlah
1	N	0,42 %
2	P	211,11 mg/kg
3	K	6,70 mg/kg

Tanah yang dibutuhkan untuk analisis pH sebanyak 10 gram dengan pH meter elektrik otomatis. Sebelum dianalisis tanah dihaluskan dan dilarutkan dengan aquades terlebih dahulu, dan kemudian *shake* dengan *shaker* selama 30 menit. Analisis dilakukan dengan pH meter elektrik otomatis. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan aquades sebelum analisis sampel tanah. Derajat kemasaman tanah yang didapatkan yaitu 6,95.

3.3.1.3 Pelaksanaan Pengamatan Komponen Perkecambahan

Pengamatan komponen perkecambahan dilakukan selama 7 hari. Benih kedelai ditanam pada *seedling tray* berisi tanah dari kedalaman 20 cm dan dibenamkan

sedalam 1 cm. Setiap varietas masing-masing ulangan terdiri dari 50 benih, sehingga benih yang dibutuhkan sebanyak 200 benih setiap varietas.

Variabel penelitian yang diamati yaitu :

a. Daya Berkecambah (DB) (%)

Daya berkecambah dihitung secara otomatis oleh *software online GerminaQuant* dan dapat juga dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah normal pada hari ke 3 (Pengamatan I) dan 5 (Pengamatan II) setelah tanam. Daya berkecambah dihitung dengan rumus :

$$DB(\%) = \frac{\sum KN \text{ Pengamatan I} + \sum KN \text{ Pengamatan II}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Keterangan:

KN = Kecambah Normal

b. Index Vigor (IV)

Pengamatan untuk perhitungan indeks vigor dilakukan dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah sejak pertama kali (Pengamatan 1) kemunculan radikula, dengan rumus:

$$IV (\%) = \frac{\sum \text{Pengamatan I}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

3.3.2 Analisis Kemelimpahan Bakteri dan Fungi Rhizosfer

3.3.2.1 Persiapan dan Pengumpulan Sampel Tanah Analisis Bakteri dan Fungi Rhizosfer

Pengembangan benih kedelai bertujuan untuk mempersiapkan sumber sampel yang akan dianalisis bakteri dan fungi pada area rhizosfernya. Benih kedelai yang ditanam adalah varietas Anjasmoro, Argomulyo, Devon 1, dan Dena-1 yang didapatkan dari Balitkabi Malang . Benih ditanam di *cup* plastik berisi tanah dari kedalaman 20 cm. Tanah yang digunakan sebagai media tanam diambil dari lahan

milik Bapak Ngadio di Desa Tanjung Kesuma, Kecamatan Purbolinggo, Kabupaten Lampung Timur. Benih dibenamkan pada tanah di dalam *cup* sedalam 2 cm. Setiap ulangan terdiri dari 10 *cup*, kemudian setiap *cup* berisi 3 benih kedelai. *Cup* ditata berbaris sesuai dengan masing-masing varietas, dan ulangan secara berurutan dan diletakkan di tempat teduh namun tetap mendapat pencerahan sinar matahari.

Tanah diambil saat kecambah sudah mulai membentuk daun dan terlepas dari kotiledon, sehingga mendapat suplai makanan dari luar benih yaitu pada 14 HST. Alat yang digunakan untuk mengambil tanah yaitu spatula dan kantung plastik steril (Gupta *et al.*, 2017). Alat yang sudah digunakan untuk mengambil satu tanah disterilisasi dahulu dengan alkohol sebelum digunakan kembali. Tanah dari *cup* pengamatan perkecambahan diambil sedalam 10 cm dari permukaan (sebatas ujung akar) untuk menghindari kontaminasi dari permukaan dan dicampur menjadi satu per masing-masing varietas sehingga didapatkan 4 campuran tanah. Sampel ditempatkan pada kantung plastik steril dan langsung disimpan di tempat dingin (Gaete *et al.*, 2020), seperti *icepack* atau *box* es. Sampel dibawa ke laboratorium biomolekuler UPT LTSIT Universitas Lampung dengan dibalut oleh agar-agar dingin, kemudian dilapisi *styrofoam* dan kardus kedap udara.

3.3.2.2 Preparasi Sampel Bakteri dan Fungi

Sampel bakteri dan fungi diperkaya terlebih dahulu pada medium universal dengan pengenceran 10^{-1} , yaitu 1 gram tanah dari masing-masing varietas dicampurkan ke dalam 9 ml masing-masing media. Bakteri diperkaya pada medium *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam. Sedangkan, fungi diperkaya dengan medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan diinkubasi selama 48 jam. Medium NB dibuat dengan melarutkan 2,8 gram NB pada 100 ml akuades menggunakan *hot plate*. Sedangkan, PDB dibuat dengan merebus 10 gram kentang bersama 100 ml akuades menggunakan *hot plate*, kemudian disaring dengan kapas untuk mendapatkan ekstrak kentang dan dicampurkan dengan 2 gram gula pasir. Masing-masing media dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak

9ml, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

3.3.2.3 Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, AS). Ekstraksi DNA diawali dengan menempatkan 1 ml sampel hasil perkayaan yang sudah dihomogenkan pada *tube* tumpul berukuran 2 ml dan ditambahkan 1 ml TAE 10x, lalu dihomogenkan kembali dengan vorteks. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, supernatan dikeluarkan perlahan. *Phosphate Buffer Saline* (PBS) 1x ditambahkan sebanyak 1 ml pada masing-masing sampel dan 10µl lisozim pada sampel bakteri gram positif dan fungi, sampel dihomogenkan dengan vorteks. Kemudian, sampel bakteri gram positif diinkubasi pada suhu 37°C di inkubator selama 60 menit dan sampel fungi selama 30 menit. Sedangkan, sampel bakteri gram negatif langsung disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, supernatan dikeluarkan perlahan. Sampel fungi yang telah selesai diinkubasi pada suhu 37°C diinkubasi kembali pada suhu 55°C selama 30 menit dan dibolak-balik setiap 5 menit untuk menghomogenkan kembali, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, supernatan dikeluarkan perlahan. Sedangkan sampel bakteri gram positif yang telah selesai diinkubasi langsung disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C dan supernatan dikeluarkan perlahan. Selanjutnya, 500 µl *Nucleic Lysis Solution* ditambahkan pada sampel bakteri dan 300 µl pada sampel fungi, dihomogenkan dengan vorteks. Sampel bakteri diinkubasi pada suhu 80°C selama 5 menit dan didinginkan sampai suhu ruang, sedangkan sampel fungi hanya didiamkan selama 2 menit di suhu ruang. Kemudian, 200 µl *Protein Precipitation Solution* ditambahkan pada sampel bakteri dan 100 µl pada sampel fungi, dihomogenkan dengan dibolak-balik secara perlahan dan diinkubasi dengan es selama 5 menit. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 x g selama 5 menit pada suhu 4°C. Hasil sentrifugasi yang

terbentuk diambil bagian paling atas, karena DNA yang bersifat hidrofilik berada pada bagian atas, sedangkan bagian bawah yang terdiri dari lapisan hidrofobik seperti fenol berada pada bagian bawah (Tan & Yiap, 2009). Cairan yang diambil dimasukkan pada *tube* lancip 1,5 ml berisi 600 μ l isopropanol bersuhu ruang untuk sampel dan 300 μ l untuk sampel fungi, dihomogenkan dengan menginversi perlahan sampai terbentuk benang-benang halus. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, supernatan dikeluarkan perlahan dengan menuangkan pada *tissue* bersih. Kemudian, ditambahkan 600 μ l etanol 75% bersuhu ruang untuk sampel bakteri dan 300 μ l etanol 70% bersuhu ruang untuk sampel fungi. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, etanol dikeluarkan perlahan dengan menuangkan pada *tissue* bersih. Etanol yang masih tersisa dikeringkan dengan menempatkan *tube* pada *tissue* bersih di dalam laminar secara terbalik dengan kondisi lampu dimatikan. Setelah etanol sudah tidak bersisa, ditambahkan 20 μ l *DNA Rehydration Solution* ke dalam masing-masing sampel dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 65 °C, setiap 5 menit dilakukan *taping* secara perlahan. Setelah inkubasi selesai, sampel ditap perlahan dan *dispin down* dengan *mini centrifuge*. DNA siap untuk dianalisis kemurnian dan konsentrasi DNA. Sampel DNA disimpan pada suhu -18 °C.

3.3.2.4 Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA

Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi dianalisis dengan menggunakan *Nanophotometer* (IMPLEN, Jerman). *Nanophotometer* menunjukkan konsentrasi DNA dalam satuan ng/ μ l, absorbansi A260/A280 sebagai ratio absorbansi asam nukleat dengan protein, dan A260/A230 sebagai indikasi keberadaan komponen lain seperti fenol. Sampel diteteskan pada *cell* sebanyak 1,5 μ l kemudian diletakkan pada *cell holder*. Sebelum dilakukan analisis sampel, dilakukan pemeriksaan blanko sebagai referensi pengukuran dengan *DNA rehydration solution* yang diteteskan pada *cell* sebanyak 1 μ L terlebih dahulu. Setiap pergantian sampel *cell* dibersihkan dengan *tissue* bersih. Sampel DNA yang murni

ditunjukkan dengan absorbansi A260/A280 berkisar 1,8 -2,0. DNA dengan kemurnian 1,8 -2,0 dan konsentrasi > 50 ng/ μ L dapat dilanjutkan ke proses amplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

3.3.2.5 Amplifikasi Gen dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

DNA bakteri dan fungi diamplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan alat *thermocycler* (*Sensoquest*, Jerman). Gen dari DNA bakteri diamplifikasi menggunakan primer 16S rRNA (*ribosomalRNA*) dengan *Forward* (5'-3') 63F (CAGGCCTAACACATGCAAGTC) dan *Reverse* (5'-3') 1387 R (GGCGGGWGTGTACAAGGC) (Marchesi *et.al.*, 1998). Setiap pereaksi PCR terdiri dari 10,5 μ L *mastermix MyTaqTM HS Red Mix*, 0,25 μ L primer *Forward* (F), 0,25 μ L primer *Reverse* (R), 8 μ L ddH₂O, dan 2 μ L sampel DNA yang dimasukkan pada *microtube* berukuran 0,2 mL. Program *thermocycling* yang digunakan memiliki 6 tahapan, yaitu tahap denaturasi awal (94°C selama 5 menit), tahap denaturasi (94°C selama 1 menit), tahap penempelan primer atau *annealing* (50°C selama 1 menit), pemanjangan atau *elongation* (72°C selama 1 menit), elongasi akhir (72°C selama 5 menit), dan *cooling* (20°C selama 10 menit). Tahap denaturasi, penempelan primer (*annealing*), dan pemanjangan (*elongation*) diulang sebanyak 30 siklus. Sedangkan DNA fungi diamplifikasi menggunakan primer ITS (*Internal Transcribed Spacer*) (White *et. al.*, 1990) dengan *Forward* (5'-3') ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) dan *Reverse* (5'-3') ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) . Pereaksi PCR terdiri dari 10,5 μ L *mastermix MyTaqTM HS Red Mix*, 0,25 μ L primer *Forward* (F), 0,25 μ L primer *Reverse* (R), 7 μ L ddH₂O, dan 3 μ L sampel DNA yang dimasukkan pada *microtube* berukuran 0,2 mL. Program *thermocycling* yang digunakan yaitu tahap denaturasi awal (94°C selama 5 menit), tahap denaturasi (94°C selama 30 detik), tahap penempelan primer atau *annealing* (52°C selama 30 detik), pemanjangan atau *elongation* (72°C selama 45 detik), elongasi akhir (72°C selama 5 menit), dan *cooling* (20°C selama 10 menit). Tahap denaturasi, penempelan primer (*annealing*), dan pemanjangan (*elongation*) diulang sebanyak 30 siklus. Setelah

seluruh pereaksi dimasukkan ke dalam *microtube*, sampel dihomogenkan dengan *tapping* dan *spin*. Proses pencampuran pereaksi PCR dilakukan di Laminar UV 4 PCR. Sampel hasil PCR diletakkan di lemari pendingin bersuhu 4°C.

3.3.2.6 Visualisasi Hasil Amplifikasi Sekuens DNA dengan Elektroforesis

Visualisasi dilakukan dengan metode *capillary electrophoresis* menggunakan alat elektroforesis digital *QiaxCel Advanced* (Qiagen, Jerman) menggunakan *DNA HIGH RESOLUTION KIT*. Prosedur yang digunakan mengikuti panduan manual *QiaxCel Advanced* dari Qiagen, Jerman.

Tahap Preparasi :

Sebelum dioperasikan *cartridge* diletakkan di suhu ruang terlebih dahulu selama ± 20 menit. Kemudian, *separation buffer* dan *wash buffer* dituang ke dalam *buffer tray*, ditempatkan pada *buffer tray holder*. *Alignment marker* yang berukuran 15 pb-3.000 pb (Qiagen, Jerman) untuk menyerupakan waktu migrasi DNA dihomogenkan dan diletakkan pada *well* di *buffer tray* dalam posisi *tube* terbuka.

Tahap visualisasi dan penentuan ukuran fragmen DNA :

Visualisasi dan penentuan ukuran fragmen DNA dilakukan dengan *software QIAxcel ScreenGel* yang ditampilkan dalam bahasa Instrumen QIAxcel dan komputer dinyalakan, masuk ke *QIAxcel ScreenGel software* pada “DNA mode” sebagai “routine user”. *Buffer tray* berisi *alignment marker*, *separation buffer*, dan *wash buffer* dimasukkan ke bagian dalam *QIAxcel Advanced* dengan memilih “*park position*” pada bagian *status information*. *Cartridge* dan *smart key* dimasukkan ke dalam *QIAxcel Advanced instruments* di bagian atas, kemudian nitrogen diaktifkan. *Size marker* yang berukuran 100 pb – 2.500 pb (Qiagen, Jerman) sebagai pembanding ukuran fragmen DNA dan sampel DNA dari proses PCR dihomogenkan dan diletakkan pada *well* di *sample row* dengan posisi *tube* terbuka. Kemudian, klik “*process profile*” pada bagian “*instrument status*”, *cartridge type* yang dipakai yaitu *DNA Screening*, pilih “*process profile*” yang akan digunakan. Pemilihan sampel dilakukan dengan memilih “*sample*

selection”, *size marker* yang digunakan 100 pb – 2,5 kb (20 ng/ μ l), *alignment marker* menggunakan QX 15pb -3 kb, pada bagian “*sample row selection*” dipilih baris A apabila hanya \leq 11 sampel yang akan dielektroforesis, klik kanan pada salah satu kolom antara 1-12 untuk memilih lokasi *size marker*, kemudian klik kotak “*show lot information*”. Selanjutnya, pilih “*sample information*” untuk memberi nama masing-masing sampel dan *size marker* untuk menyesuaikan posisi sampel di *sample row*. Setelah seluruh informasi *cartridge*, sampel dan penanda (*marker*) terisi, kemudian pilih “*run chceck*”. Klik pada kotak untuk mengkonfirmasi *sample rows* telah terisi sampel juga *alignment marker* dan *size marker* telah dimasukkan. Nitrogen diaktifkan dan *cartridge* dikunci dengan memilih “*latch*” pada bagian *status information*. Setelah “*errors and warnings*” tidak menunjukkan peringatan, maka proses elektroforesis dapat dijalankan dengan memilih “*Run*”. Setelah laju migrasi DNA selesai (\pm 11 menit), *software* akan menampilkan posisi dan ukuran fragmen DNA , untuk dapat mengetahui ukuran fragmen DNA pilih “*Analysis*” pada bagian *menu bar*.

Variabel yang diamati adalah ketebalan pita DNA. Tebal pita yang tervisualisasi dalam bentuk *gel image* pada proses elektroforesis mengindikasikan kemelimpahan sekuen DNA bakteri dan fungi rhizosfer yang terseparasi. Semakin tebal pita DNA yang terbentuk sampel diasumsikan dengan semakin melimpahnya bakteri dan fungi rhizosfer pada sumber sampel, karena semakin banyak pula DNA yang terdapat di dalamnya. Intensitas pita DNA yang muncul pada proses elektroforesis menggambarkan kemelimpahan bakteri relatif suatu populasi (Li *et al.*, 2015).

Pernyataan tersebut juga didukung oleh Boon *et al.*(2002), yang menyatakan bahwa intensitas pita dalam hal ini berupa ketebalan pita yang muncul pada *gel track* saat proses elektroforesis merefleksikan jumlah dan kemelimpahan relatif dari sekuen gen.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Benih kedelai dengan 4 varietas berbeda memiliki perbedaan viabilitas dan vigor, varietas dengan viabilitas dan vigor terbaik adalah varietas Argomulyo, dengan nilai 99,0% dan 0,99, diikuti varietas Dena-1, Anjasmoro, dan Devon-1
2. Bakteri rhizosfer memiliki kemelimpahan tertinggi pada varietas Anjasmoro diikuti Argomulyo, Dena-1, dan Devon-1, dan fungi rhizosfer pada varietas Dena-1 diikuti Anjasmoro, Argomulyo, dan Devon-1.
3. Daya berkecambah dan indeks vigor memiliki korelasi positif dengan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer dengan nilai 0,935 dan 0,263, sehingga seiring dengan peningkatan daya berkecambah dan indeks vigor, maka kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer cenderung meningkat pula.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan pada penelitian ini, maka penulis menyarankan untuk perlu dilakukan :

1. Penelitian lebih lanjut terkait eksudat akar yang diselektrik oleh masing-masing varietas kedelai agar dapat dilakukan pendekatan yang lebih akurat terkait terjadinya perbedaan kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer
2. Penelitian lebih lanjut terkait kemelimpahan bakteri dan fungi rhizosfer pada fase pertumbuhan lanjutan seperti pada fase vegetatif dan generatif tanaman kedelai, bahkan sampai ke tahap pemanenan, agar dapat peranan bakteri dan fungi rhizosfer tersebut diketahui hingga tahap akhir proses budidaya tanaman kedelai
3. Metaanalisis dengan metagenomik untuk mengetahui jenis dan peranan masing-masing bakteri dan fungi tersebut secara spesifik berdasarkan literatur yang telah tersedia

DAFTAR PUSTAKA

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., dan Kadmiri, M.I. 2021. Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Front. Microbiol.* 12 (628379) : 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>
- AbdelRazek, G. M., & Yaseen, R. 2020. Effect of some rhizosphere bacteria on root-knot nematodes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00340-y>
- Adie, M.M. dan Krisnawati, A. 2013. *Kedelai Teknik Produksi dan Pengembangan : Biologi Tanaman Kedelai*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian : Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Malang
- Albers, C. N., Jensen, A., Bælum, J., & Jacobsen, C. S. 2013. Inhibition of DNA Polymerases Used in Q-PCR by Structurally Different Soil-Derived Humic Substances. *Geomicrobiology Journal*, 30(8), 675–681. <https://doi.org/10.1080/01490451.2012.758193>
- Ali, N., Rampazzo, R.C.P., Costa, A.D.T., dan Krieger, M.A. 2017. Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *Biomed Res Int* (2017) : 1-13. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>.
- Arslan, M., Tezcan, E., Camci, H., & Avci, M. K. 2021. Effect of DNA Concentration on Band Intensity and Resolution in Agarose Gel Electrophoresis. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(3), 326–333. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.969547>
- Astuti, F., Budiman, C., & Ilyas, S. 2020. Pengembangan Metode Uji Cepat Vigor Benih Kedelai dengan Pemunculan Radikula. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 48(2), 135–141. <https://doi.org/10.24831/jai.v48i2.29635>
- Aytaç, Z., Gülbändilar, A., & Kürkçüoğlu, M. 2022. Humic Acid Improves Plant Yield, Antimicrobial Activity and Essential Oil Composition of Oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link.) Ietswaart). *Agronomy*, 12(9), 2086. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092086>

- Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Lampung. Bandar Lampung
- dos Santos, H.R.M., Argolo, C.S., Argôlo-Filho, R.C., dan Loguercilo, L.L. 2019. A 16S Rdna PCR-Based Theoretical to Actual Delta Approach on Culturable Mock Communities Revealed Severe Losses of Diversity Information. *BMC Microbiol*, 19(74) : 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1446-2>
- Dwiatmaka, Y., Lukitaningsih, E., Yuniarti, N., & Wahyuono, S. 2021. Fermentation of Soybean Seeds Using *Rhizopus oligosporus* for Tempeh Production and Standardization Based on Isoflavones Content. *Www.preprints.org*. <https://doi.org/10.20944/preprints202104.0610.v2>
- Ebone, L.A., Caverzan, A., Tagliari, A., Chiomento, J.L.T., Silveira, D.C., Chavarria, G. 2020. Soybean Seed Vigor: Uniformity and Growth as Key Factors to Improve Yield. *Agronomy* , 10 (545) : 1-15. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040545>
- Ehtisham, M., Wani, F., Wani, I., Kaur, P., dan Nissar, S. 2016. Polymerase Chain Reaction (PCR): Back to Basics. *Indian Journal of Contemporary Dentistry*, 4 (2) : 30-35. <https://doi.org/10.5958/2320-5962.2016.00030.9>
- Fosket, D. E. 1994. *Plant growth and development : a molecular approach*. Academic Press.
- Galitskaya, P., Biktasheva, L., Saveliev, A., Grigoryeva, T., Boulygina, E., & Selivanovskaya, S. 2017. Fungal and bacterial successions in the process of co-composting of organic wastes as revealed by 454 pyrosequencing. *PLoS ONE*, 12(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186051>
- Ge, L. L., Tian, H. Q., & Russell, S. D. 2007. Calcium function and distribution during fertilization in angiosperms. *American Journal of Botany*, 94(6) : 1046–1060. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.6.1046>
- Gebremikael, M. T., Steel, H., Buchan, D., Bert, W., & De Neve, S. 2016. Nematodes enhance plant growth and nutrient uptake under C and N-rich conditions. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep32862>
- Giyanto. 2003. APA YANG DAPAT MICROSOFT EXCEL LAKUKAN UNTUK MENGANALISIS DATA KELAUTAN?. *Oseana*, 28 (4) : 7-16.

- Gopalakrishnan, S., Sathya A., Vijayabharathi R., Varshney R.K., Gowda C.L., dan Krishnamurthy, L. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobia: Challenges and Opportunities. *3 Biotech*, 5(4) : 355-377. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0241-x>
- Gournas, C., Prévost, M., Krammer, E.-M., & André, B. 2016. Function and Regulation of Fungal Amino Acid Transporters: Insights from Predicted Structure. *Advances in Experimental Medicine and Biology* : 69–106. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25304-6_4
- Gorim, L. dan Asch, F. 2017. Seed Coating Increases Seed Moisture Uptake and Restricts Embryonic Oxygen Availability in Germinating Cereal Seeds. *Biology (Basel)*. 6(2) : 1-4. <https://doi.org/10.3390/biology6020031>.
- Gunina, A., & Kuzyakov, Y. 2015. Sugars in soil and sweets for microorganisms: Review of origin, content, composition and fate. *Soil Biology and Biochemistry*, 90 : 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.021>
- Guo, F., Yu, J., Zhang, L., & Li, J. 2017. Massively parallel sequencing of forensic STRs and SNPs using the Illumina® ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit on the MiSeq FGx™ Forensic Genomics System. *Forensic Science International: Genetics*, 31, 135–148. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.09.003>
- Guo, C., Shen, Y., dan Shi, F. 2020. Effect of Temperature, Light, and Storage Time on the Seed Germination of *Pinus bungeana* Zucc. ex Endl.: The Role of Seed-Covering Layers and Abscisic Acid Changes. *Forests* , 11 (3) :1-16. <https://doi.org/10.3390/f11030300>
- Gupta N. 2019. DNA Extraction and Polymerase Chain Reaction. *Journal of cytology*, 36(2) : 116–117. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_110_18
- Gupta, A., Sao, S., Kataria, R., dan Jain, Y. 2017. Isolation, Identification and Characterisation of Antibiotic Producing Bacteria from Soil at Dr C V Raman University Campus Bilaspur (C.G.). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6 (8) : 1004-1011.
- Haichar, F. el Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J. I., Prosser, J. I., Balesdent, J., Heulin, T., & Achouak, W. 2008. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *The ISME Journal*, 2(12) : 1221–1230. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.80>
- Han, L.-L., Wang, J.-T., Yang, S.-H., Chen, W.-F., Zhang, L.-M., & He, J.-Z. 2016. Temporal dynamics of fungal communities in soybean rhizosphere. *Journal of*

- Soils and Sediments*, 17(2) : 491–498. <https://doi.org/10.1007/s11368-016-1534-y>
- Harsono, A., Harnowo, D., Ginting, E., & Adi Anggraeni Elisabeth, D. 2022. Soybean in Indonesia: Current Status, Challenges and Opportunities to Achieve Self-Sufficiency. *Legumes Research*, 1. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101264>
- Hasanah, S. U., Sukrasno, S., & Hartati, R. 2020. Perbandingan Kandungan Genistein Pada Berbagai Varietas Kedelai (*Glycine max*) Di Indonesia. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 4(2) : 113. <https://doi.org/10.21082/jpptp.v4n2.2020.p113-118>
- Hasan, M.I. 2002. *Pokok-pokok Materi Statistik I (Deskriptif)*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Hong-Bo, S., Li-Ye, C., & Ming-An, S. 2008. Calcium as a versatile plant signal transducer under soil water stress. *BioEssays*, 30(7) : 634–641. <https://doi.org/10.1002/bies.20770>
- Huang, X.-F., Chaparro, J. M., Reardon, K. F., Zhang, R., Shen, Q., & Vivanco, J. M. 2014. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany*, 92(4) : 267–275. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0225>
- Hu, X., Chen, J., & Guo, J. 2006. Two Phosphate- and Potassium-solubilizing Bacteria Isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(9) : 983–990. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9144-2>
- Húngaro, H. M., Peña, W. E. L., Silva, N. B. M., Carvalho, R. V., Alvarenga, V. O., & Sant’Ana, A. S. 2014. Food Microbiology. *Science Direct*, 213–231. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00059-0>
- Integrated DNA Tehnologies. 2016. *Spesification Sheet : Sequence 63 F & 1387 R*. Integrated DNA Tehnologies. Iowa.
- Igiehon, N.O. dan Babalola, O.O. 2018. Rhizosphere Microbiome Modulators: Contributions of Nitrogen Fixing Bacteria towards Sustainable Agriculture. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 15 (574) : 1-25. <https://doi.org/10.3390/ijerph15040574>
- Jiang, Z., Bian, H., Xu, L., Li, M., & He, N. 2021. Pulse Effect of Precipitation: Spatial Patterns and Mechanisms of Soil Carbon Emissions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.673310>

- Jie, W., Lin, J., Guo, N., Cai, B., & Yan, X. 2019. Community composition of rhizosphere fungi as affected by *Funneliformis mosseae* in soybean continuous cropping soil during seedling period. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(3) : 356–365. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392019000300356>
- Kanchana, 2016 . *Glycine Max (L.) Merr. (Soybean)*. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 5(1): 356- 371.
- Kartika, T. 2017. *Dasar Ilmu dan Teknologi Benih : Viabilitas, Parameter, dan Tolak Ukur Viabilitas Benih*. IPB Press. Bogor
- Kayama, K., Kanno, M., Chisaki, N., Tanaka, M., Yao, R., Hanazono, K., Camer, G. A., & Endoh, D. 2021. Prediction of PCR amplification from primer and template sequences using recurrent neural network. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86357-1>
- Kementerian Pertanian. 2017. *Statistik Konsumsi Pangan 2017*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Jakarta.
- Kering, M.K. dan Zhang, Bo. 2015. Effect of Priming and Seed Size on Germination and Emergence of Six Food-Type Soybean Varieties. *International Journal of Agronomy*, vol. 2015 : 1-6.
- Kim, S.-Y., Lee, S.-H., Freeman, C., Fenner, N., & Kang, H. 2008. Comparative analysis of soil microbial communities and their responses to the short-term drought in bog, fen, and riparian wetlands. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(11) : 2874–2880. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.08.004>
- Kong, X., Han, Z., Tai, X., Jin, D., Ai, S., Zheng, X., & Bai, Z. 2020. Maize (*Zea mays L. Sp.*) varieties significantly influence bacterial and fungal community in bulk soil, rhizosphere soil and phyllosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(3) : 1-11.<https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa020>
- Krisnawati, A. dan Adie, M. M. 2009. Karakter Agronomik dan Kandungan Isoflavon Galur Kedelai F5. *PENELITIAN PERTANIAN TANAMAN PANGAN*, 28 (1) : 23-28
- Kumudini, S. 2010. The Soybean Botany, Production, and Uses : Soybean Growth and Development. CABI. Ludhiana.
- Kundrát, J.T., Gyulai, I., Edina, S., Mizsei, E., Braun, M., dan Tóthmérész, B. 2017. Study of the Effects of High Levels of Nutrients on Seed Germination and Root Elongation. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26 (4) : 1-6. <https://doi.org/10.15244/pjoes/68879>

- Larekeng, S.H., Gusmiaty, Restu, M., Tunggal, A., Susilowati, A. 2019. Isolation and Identification of Rhizospheric Fungus Under Mahoni (*Swietenia mahagoni*) Stands and Its Ability to Produce IAA (Indole Acetid Acid) Hormones. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 343 : 1-11.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/343/1/012051>
- Lestari, S., Solichatun, S., & Anggarwulan, E. 2018. Effect of cytokinin and gibberellic acid applications on seed germination and growth of Rauvolfia verticillata plant. *Cell Biology and Development*, 2(1).
<https://doi.org/10.13057/cellbioldev/v020104>
- Leyn, S. A., Maezato, Y., Romine, M. F., & Rodionov, D. A. 2017. Genomic Reconstruction of Carbohydrate Utilization Capacities in Microbial-Mat Derived Consortia. *Frontiers in Microbiology*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01304>
- Li, H., Luo, L., Tang, B., Guo, H., Cao, Z., Zeng, Q., Chen, S., & Chen, Z. 2022. Dynamic changes of rhizosphere soil bacterial community and nutrients in cadmium polluted soils with soybean-corn intercropping. *BMC Microbiology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02468-3>
- Li, R., Liu, J., Zhang, H., Piao, Y., Hu, X., Zhu, B., Cong, L., Zhao, C., & Dong, L. 2016. Assessment of the microbial diversity during an industrial-scale malting process by a polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(2) : 237–242. <https://doi.org/10.1002/jib.315>
- Li, X., Zhang, T., Wang, X., Hua, K., Zhao, L., & Han, Z. 2013. The Composition of Root Exudates from Two Different Resistant Peanut Cultivars and Their Effects on the Growth of Soil-Borne Pathogen. *International Journal of Biological Sciences*, 9(2) : 164–173. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5579>
- Lim, J.-W., Jo, Y. H., Choi, J.-S., Lee, M. K., Lee, K. Y., & Kang, S. Y. (2021). Antibacterial Activities of Prenylated Isoflavones from Maclura tricuspidata against Fish Pathogenic Streptococcus: Their Structure-Activity Relationships and Extraction Optimization. *Molecules*, 26(24), 7451.
<https://doi.org/10.3390/molecules26247451>
- Ling, N., Wang, T., dan Kuzyakov, Y. 2022. Rhizosphere Bacteriome Structure and Functions. *Nat Commun*, 13(836) :1-13. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9>
- Ma, J., Ma, Y., Wei, Z., Wu, J., Sun, C., Yang, J., Liu, L., Liao, H., Chen, T., dan Huang, J. 2021. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Symbiosis on Microbial Diversity and Enzyme Activities in The Rhizosphere Soil of

- Artemisia annua. Soil Science Society of America Journal, 85(3) : 703-716.*
<https://doi.org/10.1002/saj2.20229>
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M, dan Stahl, D.A. 2019.
Brock Biology of Microorganisms Fifteenth Edition. Pearson. London.
- Mahmud K., Makaju S., Ibrahim R., Missaoui A. 2020. Current Progress in Nitrogen Fixing Plants and Microbiome Research. *Plants*, 9(97) : 1-1-17.
<https://doi.org/10.3390/plants9010097>
- Manter, D. K., & Vivanco, J. M. 2007. Use of the ITS primers, ITS1F and ITS4, to characterize fungal abundance and diversity in mixed-template samples by qPCR and length heterogeneity analysis. *Journal of Microbiological Methods*, 71(1) : 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.06.016>
- Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J., Dymock, D. and Wade, W.G. 1998. Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers that Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol* 64 (2) :795-799.
<https://doi.org/10.1128/aem.64.6.2333-2333.1998>
- Martin, B. C., Gleeson, D., Statton, J., Siebers, A. R., Grierson, P., Ryan, M. H., & Kendrick, G. A. 2018. Low Light Availability Alters Root Exudation and Reduces Putative Beneficial Microorganisms in Seagrass Roots. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02667>
- Martínez-Ballesta, M.d.C., Egea-Gilabert, C., Conesa, E.; Ochoa, J., Vicente, M.J., Franco, J.A., Bañon, S., Martínez, J.J., dan Fernández, J.A. 2020. The Importance of Ion Homeostasis and Nutrient Status in Seed Development and Germination. *Agronomy* 10(504) : 1-22.
<https://doi.org/10.3390/agronomy10040504>
- Massimi, M. 2018. Impact of seed size on seeds viability, vigor and storability of *Hordeum vulgare* (L.). *Agricultural Science Digest - a Research Journal*, 00.
<https://doi.org/10.18805/ag.a-293>
- Mendes, L. W., Kuramae, E. E., Navarrete, A. A., van Veen, J. A., & Tsai, S. M. 2014. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *The ISME Journal*, 8(8) : 1577–1587.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2014.17>
- Micallef, S. A., Shiaris, M. P., & Colón-Carmona, A. 2009. Influence of *Arabidopsis thaliana* accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. *Journal of Experimental Botany*, 60(6) : 1729–1742.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erp053>

Mishra, S.K. dan Verma, V.D. 2010. *The Soybean Botany, Production, and Uses : Soybean Genetic and Resources.* CABI. Ludhiana.

Morton, J. B. 2021. Fungi. In *Principles and Applications of Soil Microbiology*. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-820202-9.00006-X>

Murali, M., Naziya, B., Ansari, M.A., Alomary, M.N., Al Yahya, S., Almatroudi, A., Thriveni, M.C., Gowtham, H.G., Singh, S.B., Aiyaz, M., Kalegowda, N., Lakshmidhi, N., Amruthesh, K.N. 2021. Bioprospecting of Rhizosphere-Resident Fungi: Their Role and Importance in Sustainable Agriculture. *J. Fungi*, 7(314) : 1-26. <https://doi.org/10.3390/jof7040314>

Murniati, E. 2017. *Dasar Ilmu dan Teknologi Benih : Fisiologi, Perkecambahan dan Dormansi Benih.* IPB Press. Bogor.

Murtius, W. S., Hari, P. D., & Putri, I. N. 2022. The Effect of Incubation Time to The Activity of Lipase Produced by *Bacillus thuringiensis* on Coconut (*Cocos nucifera L.*) Dregs. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1059(1) : 012076. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1059/1/012076>

Mwami, Boniface & Nguluu, Simon & Kimiti, J. & Kimatu, Josphert. 2017. Effects of Water Imbibition of Selected Bean Varieties on Germination. *International Journal of Agricultural Research and Review*, 5 : 579-587.

Myung, I.-S. ., Kim, J.-W. ., An, S. H., Lee, J. H., Kim, S. K., Lee, Y.-K. ., & Kim, W. G. 2009. Wildfire of Soybean Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, a New Disease in Korea. *Plant Disease*, 93(11) : 1214–1214. <https://doi.org/10.1094/pdis-93-11-1214a>

N., Heri, Yardha, dan Jumakir. 2019. Produksi Dan Penyebaran Benih Kedelai Varietas Anjasmoro Mendukung Meningkatkan Produktivitas Kedelai Di Provinsi Jambi. *Agroecotenia*, 2(1) : 27-38

NCBI. 2011. *Glomus* sp. CMCCROC4 clone 2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. *NCBI Nucleotide*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/HM195236.1>

NCBI. 2014. *Glomus* sp. Bad Sachsa clone M51_22 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. *NCBI Nucleotide*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FJ769291.1>

- NCBI. 2015. *Mucor* sp. AQGS 4 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. *NCBI Nucleotide*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KP670192.1>
- NCBI. 2016. *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NCTC 8325 chromosome, complete genome. *NCBI Nucleotide*.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_007795.1
- NCBI. 2016. *Streptococcus agalactiae* strain NGBS128 chromosome, complete genome. *NCBI Nucleotide*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP012480.1>
- NCBI. 2019. *Glomus* sp. (unid) 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, isolate 150_A07_21907. *NCBI Nucleotide*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/LR731219.1>
- NCBI. 2022. *Escherichia coli* str. K-12 substr. MG1655, complete genome. *NCBI Nucleotide*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000913.3
- NCBI. 2022. *Mucor* sp. strain SF-7570 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence. *NCBI Nucleotide*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OP295354.1>
- Oliveira, C., Aguiar, T. Q., & Domingues, L. 2017. Principles of Genetic Engineering. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 81–127. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63668-3.00004-4>
- Opel, K. L., Chung, D., & McCord, B. R. 2010. A Study of PCR Inhibition Mechanisms Using Real Time PCR. *Journal of Forensic Sciences*, 55(1), 25–33. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01245.x>
- Pereira, L. S. dan Masetto, T.E. 2021. Water uptake dynamics in soybean seeds: influence in seeds performance and DNA integrity. *Ciência Rural*, 51 (3) :1-7. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200212>
- Pradhan, N., Fan, X., Martini, F., Chen, H., Liu, H., Gao, D., Goodale, U.M. 2022. Seed Viability Testing for Research and Conservation of Epiphytic and Terrestrial Orchids. *Bot Stud* 63(3) : 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40529-022-00333-0>
- Qiao, Q., Zhang, J., Ma, C., Wang, F., Chen, Y., Zhang, C. 2019. Characterization and Variation of The Rhizosphere Fungal Community Structure of Cultivated

- Tetraploid Cotton. *PLoS ONE*, 14(10): 1-16.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207903>
- Qiaxcell DNA Handbook. 2014. Qiagen Sample Assay and Technologies. QIAGEN. Hilden.
- Quideau, S. A., McIntosh, A. C. S., Norris, C. E., Lloret, E., Swallow, M. J. B., & Hannam, K. 2016. Extraction and Analysis of Microbial Phospholipid Fatty Acids in Soils. *Journal of Visualized Experiments*, 114.
<https://doi.org/10.3791/54360>
- R., Nandini & T H, Udayashankara & M., Madhukar. 2015. Biosorption Studies using Pseudomonas Aeruginosa Bacteria for Depolluting Nickel Contaminated Soil. *International Journal of Science Technology & Engineering*, 2 : 100-106.
Rebollido, R., Martínez, J., Aguilera, Y., Melchor, K., Körner, Ina. 2007. Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 6.
- Rousk, J., & Bååth, E. 2011. Growth of saprotrophic fungi and bacteria in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 78(1), 17–30. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01106.x>
- Rousk J, Brookes PC, Baath E. 2009. Contrasting Soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Appl Environ Microbiol*, 75:1589–1596. <https://doi.org/10.1128/aem.02775-08>
- Salonen, A., Nikkilä, J., Jalanka-Tuovinen, J., Immonen, O., Rajilić-Stojanović, M., Kekkonen, R. A., Palva, A., & de Vos, W. M. 2010. Comparative analysis of fecal DNA extraction methods with phylogenetic microarray: Effective recovery of bacterial and archaeal DNA using mechanical cell lysis. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2), 127–134.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.007>
- Sari, H. M., Pramono, E., dan Kamal, M. 2021. Pengaruh Pengusangan Cepat dengan Larutan Etanol dan Metode Penyimpanan dibawah 27,3±0,9°C pada Viabilitas Kedelai (Glycine Max [L.] Merrill.). *Open Science and Technology*, 1(1). <https://doi.org/10.33292/ost.vol1no1.2021.4>
- Sari, R.L.K. dan Ermavitalini, D. 2013. Respon Pertumbuhan Embrio Somatik Kedelai (*Glycine max*) Varietas Argomulyo dan Wilis Terhadap Cekaman NaCl. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1) : 155-158
- Savage, W.E.F. dan G.W. Bassel, G.W. 2016. Seed Vigour and Crop Establishment: Extending Performance beyond Adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67(3) : 567–591, <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>

- Setiati, N., Partaya, & Hidayah, N. 2020. The use of two pairs primer for CO1 gene amplification on traded stingray at fish auction Tasik Agung Rembang. *Journal of Physics: Conference Series*, 1567(3), 032056. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1567/3/032056>
- Shahrajabian, M.H., Sun, W., dan Cheng, Q. 2021. The Importance of *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Bradyrhizobium*, *Herbaspirillum*, *Sinorhizobium* in Sustainable Agricultural Production. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(3) : 1-34. <https://doi.org/10.15835/nbha49312183>
- Shi, Q., Liu, Y., Shi, A., Cai, Z., Nian, H., Hartmann, M., & Lian, T. 2020. Rhizosphere Soil Fungal Communities of Aluminum-Tolerant and -Sensitive Soybean Genotypes Respond Differently to Aluminum Stress in an Acid Soil. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01177>
- Singh, R. 2017. The Soybean Genome : Botany and Cytogenetics of Soybean. Springer. Berlin. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64198-0_2.
- Srivas, S. 2017. *Primer. In: Vonk, J., Shackelford, T. (eds) Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_184-1
- Steiner, F., & Zuffo, A. M., Busch, A., Sousa, T. d. O., dan Zoz, T. 2019. Does Seed Size Affect The Germination Rate and Seedling Growth of Peanut under Salinity and Water Stress?. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 49 : 1-9. <https://doi.org/10.1590/1983-40632019v4954353>.
- Stephenson, F. H. 2003. Quantitation of Nucleic Acids. *Calculations for Molecular Biology and Biotechnology* : 90–108. <https://doi.org/10.1016/b978-012665751-7/50046-9>
- Soumare, A., Diedhiou, A.G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S., dan Kouisni, L. 2020. Exploiting Biological Nitrogen Fixation: A Route Towards a Sustainable Agriculture. *Plants*, 9 (1011) : 1-22. <https://doi.org/10.3390/plants9081011>
- Sumarno dan Manshuri, A.G. 2013. *Kedelai Teknik Produksi dan Pengembangan : Persyaratan Tumbuh dan Wilayah Produksi Kedelai di Indonesia*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian : Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Malang
- Sulistyowati, E., Martono, S., Riyanto, S., dan Lukitaningsih, E. 2018. ANALISIS DAIDZEIN DAN GENISTEIN PADA KEDELAI (*Glycine max* L. Merril) VARIETAS ANJASMORO, ARGOMULYO DAN DENA 2

MENGGUNAKAN METODE KCKT. *Media Farmasi Indonesia*, 13 (1) : 1299-1304

Susilawati, P.N., Kardiyono,K., Fauzan, A., Astuti, Y., Mutmainah, H., dan Yursak, H. 2021. Introduction of Dryland Soybean Technology in Pandeglang Regency, Banten. *IConARD*, 232 :1-7

Tan, S. C., & Yiap, B. C. 2009. DNA, RNA, and Protein Extraction: The Past and The Present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009(574398) : 1–10. <https://doi.org/10.1155/2009/574398>

Tint, A.M.M., Sarobol, Ed, Nakasathein, S., & Chai-Aree, W. 2011. Differential responses of selected soybean cultivars to drought stress and their drought tolerant attributions. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 45 : 571-582.

Thakur, P. S., Bhatia, V., Rajput, L. S., Rana, S., & Prakash, S. 2022. Laser Biospeckle Technique for Evaluating Biotic Stress on Seed Germination. 2022 Workshop on Recent Advances in Photonics (WRAP). <https://doi.org/10.1109/wrap54064.2022.9758282>

Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. 2018. *Microbiology An Introduction Thirteenth Edition*. Pearson. London

Tsvetkova, Y.E., Grancharova, P.Y., Aneva, I, Zhelev, P. On the Reproductive Potential in *Primula veris* L. (Primulaceae): Embryological Features, Pollen and Seed Viability, Genetic Diversity. *Plants*; 10(11):2296. <https://doi.org/10.3390/plants10112296>

Usnawiyah dan Khadir. 2017. *Produksi Kedelai pada Lahan Marjinal*. CV. Bumi Persada. Lhokseumawe

Vaz, A. B. M., Sampedro, I., Siles, J. A., Vasquez, J. A., García-Romera, I., Vierheilig, H., Rosa, C. A., & Ocampo, J. A. 2012. Arbuscular mycorrhizal colonization of Sorghum vulgare in presence of root endophytic fungi of Myrtus communis. *Applied Soil Ecology*, 61 : 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.10.017>

Veloo, A. C. M., Elgersma, P. E., Friedrich, A. W., Nagy, E., & van Winkelhoff, A. J. 2014. The influence of incubation time, sample preparation and exposure to oxygen on the quality of the MALDI-TOF MS spectrum of anaerobic bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*, 12, O1091–O1097. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12644>

Viveiros, S., Rodrigues, M., Albuquerque, D., Martins, S. A. M., Cardoso, S., & Martins, V. C. 2020. Multiple Bacteria Identification in the Point-of-Care: an

- Old Method Serving a New Approach. *Sensors*, 20(12), 3351.
<https://doi.org/10.3390/s20123351>
- Vives-Peris, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., & Pérez-Clemente, R. M. 2019. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Reports*, 39(1) : 3–17. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02447-5>
- Wang, G., Xu, Y., Jin, J., Liu, J., Zhang, Q., & Liu, X. 2008. Effect of soil type and soybean genotype on fungal community in soybean rhizosphere during reproductive growth stages. *Plant and Soil*, 317(1-2) : 135–144.
<https://doi.org/10.1007/s11104-008-9794-y>
- Wang, C. H., Wu, L., Wang, Z., Alabady, M. S., Parson, D., Molumo, Z., & Fankhauser, S. C. 2020. Characterizing changes in soil microbiome abundance and diversity due to different cover crop techniques. *PLOS ONE*, 15(5), e0232453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232453>
- Wang, X.; He, X.; Liang, J. 2022. Succession of Microbial Community during the Co-Composting of Food Waste Digestate and Garden Waste. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. <https://doi.org/10.3390/ijerph19169945>
- Wang, X., Zheng, H., Tang, Q., Mo, W., dan Ma, J. 2019. Effects of Gibberellic Acid Application after Anthesis on Seed Vigor of Indica Hybrid Rice (*Oryza sativa* L.). *Agronomy*, 9(861) : 1-10. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120861>
- Wydro, U. 2022. Soil Microbiome Study Based on DNA Extraction: A Review. *Water*, 14(24) :3999. <https://doi.org/10.3390/w14243999>
- White, T.J.T.D. Bruns, S.B. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. *Academic Press, Inc.*
- Widawati, S. 2015. Uji Bakteri Simbiotik dan Nonsimbiotik Pelarutan Ca vs. P dan Efek Inokulasi Bakteri pada Anakan Turi (*Sesbania grandiflora* L. Pers.). *Jurnal Biologi Indonesia*, 11 (2): 295-307.
- Wijayati, R.Y., Purwanti, S., dan Adie, M.M. 2014. Hubungan Hasil dan Komponen Hasil Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) Populasi F5. *Vegetalika*, 3(4), 88 – 97
- Wittmeier, P., & Hummel, S. 2022. Agarose gel electrophoresis to assess PCR product yield: comparison with spectrophotometry, fluorometry and qPCR. *BioTechniques*. <https://doi.org/10.2144/btn-2021-0094>
- Wolny, E., Betekhtin A., Rojek M., Braszewska-Zalewska A., Lusinska J., Hasterok, R.2018. Germination and The Early Stages of Seedling Development

- in *Brachypodium distachyon*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10):2916. <https://doi.org/10.3390/ijms19102916>
- Wu, X., Ning, F., Hu, X., & Wang, W. 2017. Genetic Modification for Improving Seed Vigor Is Transitioning from Model Plants to Crop Plants. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00008>
- Yang, C., Liu, Y., Zhao, W., dan Wang, N. (2021). Colonization Characteristics and Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Rhizosphere of *Iris lactea* in Songnen Saline-alkaline Grassland. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 90(3) : 719–729.
<https://doi.org/10.32604/phyton.2021.015024>
- Yao S., Li X., Cheng H., Sun K., Jiang X., Song Y. 2020. Insights into The Fungal Community and Functional Roles of Pepper Rhizosphere Soil under Plastic Shed Cultivation. *Diversity*, 12(432) : 1-12. <https://doi.org/10.3390/d12110432>
- Yusnawan, E., Nugrahaeni, N., & Utomo, J. S. 2018. Changes of Phenolic Contents and Antioxidant Activity in Soybean Seeds Harvested from Phakopsora pachyrhizi Infected Crops. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 10(2), 369–378. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v10i2.14481>
- Zhang, M., Wang, N., Zhang, J., Hu, Y., Cai, D., Guo, J., Wu, D., Sun, G. 2019. Soil Physicochemical Properties and The Rhizosphere Soil Fungal Community in a Mulberry (*Morus alba* L.)/Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Intercropping System. *Forests*, 10(167) : 1-17. <https://doi.org/10.3390/f10020167>
- ZHOU, T., WANG, L., DU, Y., LIU, T., LI, S., GAO, Y., LIU, W., & YANG, W. 2019. Rhizosphere soil bacterial community composition in soybean genotypes and feedback to soil P availability. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(10) : 2230–2241. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(18\)62115-x](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(18)62115-x)
- Zhu, L., Yan, H., Zhou, G., Jiang, C., Liu, P., Yu, G., Guo, S., Wu, Q.N., dan Duan, J. 2021. Insights into The Mechanism of The Effects of Rhizosphere Microorganisms on The Quality of Authentic *Angelica Sinensis* under Different Soil Microenvironments. *BMC Plant Biol* 21(285) : 1-15
- Zipper, H. 2003. Mechanisms underlying the impact of humic acids on DNA quantification by SYBR Green I and consequences for the analysis of soils and aquatic sediments. *Nucleic Acids Research*, 31(7).
<https://doi.org/10.1093/nar/gng039>

- Zou, Y. -N., Wu, Q. -S., & Kuča, K. 2020. Unravelling the role of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating the oxidative burst of plants under drought stress. *Plant Biology*. <https://doi.org/10.1111/plb.13161>
- Zubkov, M. V. 2014. Faster growth of the major prokaryotic versus eukaryotic CO 2 fixers in the oligotrophic ocean. *Nature Communications*, 5(1), 3776. <https://doi.org/10.1038/ncomms4776>