

**STUDI KEMELIMPAHAN FUNGI RHIZOSFER BERBASIS
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) DAN PENGARUHNYA
TERHADAP PERTUMBUHAN 4 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max*
(L.)Merill) DI LAHAN MARGINAL**

(Skripsi)

**KETUT PERIHARTINI
1814161004**



**AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

**STUDI KEMELIMPAHAN FUNGI RHIZOSFER BERBASIS
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) DAN PENGARUHNYA
TERHADAP PERTUMBUHAN 4 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max*
(L.)Merill) DI LAHAN MARGINAL**

Oleh

KETUT PERIHARTINI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

Pada

Jurusan Agronomi dan Hortikultura
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**JURUSAN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

STUDI KEMELIMPAHAN FUNGI RHIZOSFER BERBASIS *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)* DAN PENGARUHNYA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI 4 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max* (L.)Merill) DI LAHAN MARGINAL

Oleh

Ketut Prihartini

Selain kondisi lahan, aktivitas mikroorganisme seperti fungi rizosfer yang terdapat dilahan marginal juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai (Suharta,2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan viabilitas, vigor, pertumbuhan dan produksi dari 4 varietas kedelai yang ditanam di lahan marginal, mengetahui perbedaan kemelimpahan fungi rizosfer tanaman kedelai 4 varietas yang ada di lahan marginal dan mengetahui korelasi yang terdapat pada komponen variabel pengamatan tanaman kedelai dengan kemelimpahan fungi rizosfer. Sampel yang digunakan merupakan tanah yang terdapat disekitar perakaran 4 varietas tanaman kedelai yang berbeda, yaitu Argomulyo, Anjasmoro, Devon-1, Dena-1 dengan 4 ulangan setiap varietas. Masing-masing ulangan dari tiap varietas diambil 5 sampel secara acak dan dihomogenkan. Sampel tanah diambil 1gram kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode Promega. Konsentrasi dan kemurnian DNA pada absorbansi A260/A280 yang diuji dengan UV-Spektrofotometer menunjukkan hasil berturut-turut 485 ng/μl, 259 ng/μl, 212 ng/μl, 193 ng/μl dan 1,9; 19; 1,8; 1,8, maka hasil ekstraksi DNA dapat dilanjutkan ke proses amplifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Dimana pada setiap masing-masing tube berisi Master mix 10,5 μl, primer ITS 1 0,25 μl, ITS 4 0,25 μl, ddH₂O 8 μl dan template DNA 2 μl dengan menggunakan suhu *annealing* 54,0°C dengan target amplicon berkisar ukuran 500 pb. Kemudian hasil amplifikasi divisualisasi dengan metode *capillary electrophoresis digital*. Pita DNA yang tervisualisasi berkisar 500 bp sesuai dengan target amplicon yang diharapkan. Kemelimpahan fungi rizosfer diindikasikan dari perbedaan ketebalan pita yang tervisualisasi. Hasil visualisasi PCR pada masa perkecambahan menunjukkan bahwa varietas Devon-1 dan tertipis ada pada varietas Anjasmoro. Pada masa 100 hari setelah tanam hasil visualisasi PCR menunjukkan bahwa ke-4 varietas tidak memperlihatkan adanya pita DNA. Varietas tanaman kedelai dengan viabilitas dan indeks vigor tertinggi terdapat pada varietas Devon-1 dan terendah pada varietas Anjasmoro. Varietas tanaman kedelai dengan pertumbuhan terdapat pada varietas Dena-1 dan terendah pada varietas Argomulyo. Korelasi antara variabel pengamatan tiap varietas dan fungi rizosfer tidak ada korelasi, kecuali pada indeks vigor dan tinggi tanaman minggu ke-2 memiliki korelasi positif terhadap fungi rizosfer.

Kata Kunci: Kedelai, Fungi Rhizosfer, Ekstraksi, PCR, Elektroforesis

Judul Skripsi : **STUDI KEMELIMPAHAN FUNGI RHIZOSFER
BERBASIS *POLYMERASE CHAIN REACTION*
(PCR) DAN PENGARUHNYA TERHADAP
PERTUMBUHAN 4 VARIETAS KEDELAI
(*Glycine max* (L.)Merill) DI LAHAN MARGINAL**

Nama Mahasiswa : **Ketut Perihartini**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1814161004**

Jurusan : **Agronomi dan Hortikultura**

Fakultas : **Pertanian**



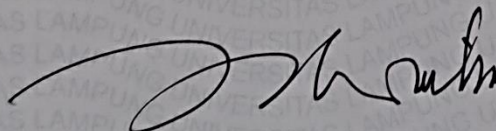
1. **Komisi Pembimbing**

Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S.
NIP 19620928 198703 1 001

Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si.
NIP 19791230 200812 1 001

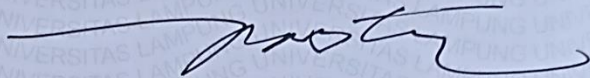
2. **Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura**



Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.
NIP 19611021 198503 1 002

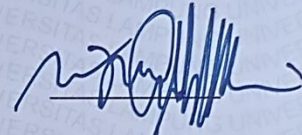
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

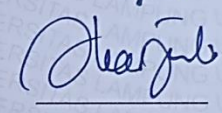


Ketua : **Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S.**

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



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Agus Karyanto M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Arwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **03 Agustus 2023**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Studi Kemelimpahan Fungi Rhizosfer Berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan 4 Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) di Lahan Marginal” merupakan hasil saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Bila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 30 Agustus 2023
Penulis



Ketut Periharini
NPM 1814161004

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Ketut Perihartini, dilahirkan di Way Kanan pada tanggal 30 Agustus tahun 2000 yang merupakan anak ke 4 dari lima bersaudara, dari pasangan Bapak I Wayan Cari dan Ibu Nengah Seripit. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar di SDN 1 Bali Sadhar Selatan pada tahun 2012, melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama SMPN 2 Banjit, pada tahun 2015, dan melanjutkan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Banjit, Banjit Way Kanan. Pada tahun 2018 melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) penulis diterima di Universitas Lampung, Fakultas Pertanian, Jurusan Agronomi dan Hortikultura.

Selama penulis menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti mengikuti KKN Mandiri Putra Daerah Universitas Lampung di Desa Bali Sadhar Utara Kecamatan Banjit Kabupaten Way Kanan, kemudian penulis juga pernah magang Penelitian di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung (UPT LTSIT). Penulis juga mengikuti aktivitas organisasi seperti Unit Kegiatan Mahasiswa Hindu Universitas Lampung (UKMH UNILA), Kesatuan Hindu Dharma Indonesia cabang Bandar Lampung (KMHDI), dan Himpunan Mahasiswa jurusan Agronomi dan Hortikultura (HIMAGRHO). Pada tahun 2022 penulis mendapat kesempatan untuk menjadi *Presenter* yang memaparkan hasil penelitian tentang “Studi Kemelimpahan Fungi Rhizosfer Berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan 4 Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) di Lahan Marginal” di Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia.

Ku persembahkan karya kecilku ini kepada Bapak I Wayan Cari dan Ibu Nengah Seripit, yang senantiasa dan tiada habisnya memberi Doa, dukungan dan kasih sayangnya kepada ku.

Ucapan syukur kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah memberikan Karunia dan Anugerah-Nya, dan kuucapkan terimakasih teruntuk keluargaku tersayang dan orang-orang yang membantu dan mendukung penulis selama ini

Hidup adalah kesempatan
(Ketut Perihartini)

SANWACANA

Puji syukur dan terimakasih kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah memberikan rahmat dan bimbingan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Penulis menyadari bahwa bantuan dan partisipasi dari berbagai pihak baik berupa bimbingan, dukungan, petunjuk, dan saran yang diberikan sangat penting dan sangat penulis hargai. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah mendukung, membantu, dan memfasilitasi penyusunan tugas akhir yang berjudul “Studi Kemelimpahan Fungi Rhizosfer Berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan 4 Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) di Lahan Marginal” sehingga berjalan dengan lancar. Diantaranya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. sebagai Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc. sebagai Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura.
3. Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S. selaku Dosen Pembimbing Pertama yang senantiasa memberi motivasi, memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah berkenan meluangkan waktunya untuk memberi motivasi, membimbing dan banyak memberi nasehat dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.
5. Dr. Ir. Agus Karyanto M.Sc. selaku Dosen Pembahas yang memberikan bimbingan, dukungan, masukan dan saran bagi penulis.
6. Dr. Ir. Muhammad Syamsoel Hadi., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selama ini telah membimbing, memberi nasehat, dan motivasi penulis sampai studi ini dapat terselesaikan.

7. Bapak dan ibu dosen Jurusan Agronomi dan Hortikultura yang telah membekali ilmu yang sangat bermanfaat selama penulis berkuliah sampai menyelesaikan studi ini.
8. Teristimewa untuk kedua Orangtuaku, Kak Ros, dan Adikku yang selalu memberi dukungan, kasih sayang, doa, motivasi, kesabaran, dan pengorbanan secara material dan non material yang selalu diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan studi saat ini.
9. Made Mudita yang telah menemani penulis di segala situasi.
10. Teman penelitian Mikha, Adinda, Dian dan Riski Ade. Teman-teman sepermainan Regitha, Barkah, dan Tinar dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu terimakasih atas waktu, dukungan, dan masukan sampai penyelesaian skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari atas segala kekuarangan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi yang membutuhkan, Amin.

Bandar Lampung, 30 Agustus 2023

Penulis

Ketut Perihartini

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Landasan Teori	3
1.5. Kerangka Pemikiran.....	5
1.6. Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tanah Marginal	7
2.2. Deskripsi Tanaman Kedelai (<i>Glycine max</i> Merr.).....	8
2.2.1 Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo.....	8
2.2.2 Deskripsi Kedelai Varietas Anjasmoro	8
2.2.3 Deskripsi Kedelai Varietas Devon-1	9
2.2.4 Deskripsi Kedelai Varietas Dena-1.....	9
2.3. Syarat Tumbuh Tanaman Kedelai	10
2.4. Viabilitas dan Vigor Benih	10
2.5. Total Isofavon pada 4 Varietas Kedelai.....	11
2.6. Identifikasi Mikroorganisme Tanah	12
2.7. Metode Analisis DNA Fungi.....	13
2.7.1 Ekstraksi DNA Fungi	15
2.7.2 Amplifikasi sekuens DNA dengan <i>Polymerase Chain</i> <i>Reaction</i> (PCR).....	15
2.7.3 Visualisasi Hasil Amplifikasi dengan Elektroforesis	16
III. METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1. Waktu dan Tempat	17

3.2. Alat dan Bahan	17
3.3. Metodologi Penelitian	18
3.4. Pelaksanaan Penelitian	18
3.4.1. Persiapan Benih	18
3.4.2. Persiapan Lahan.....	18
3.4.3. Penanaman Benih	20
3.4.4. Pemeliharaan Tanaman	20
3.4.5. Variabel Pengamatan Tanaman Kedelai 4 Varietas	20
3.4.5.1 Variabel Pengamatan di Lapangan	20
3.4.5.2 Variabel Pengamatan di Laboratorium.....	22
3.4.6 Pengambilan Sampel.....	23
3.4.7 Analisis DNA Fungi	24
3.4.7.1 Ekstraksi DNA Fungi.....	24
3.4.7.2 Analisis Hasil Ekstraksi DNA Isolat Fungi.....	25
3.4.7.3 Amplifikasi sekuen ITS1 – ITS4 fungi menggunakan instrument PCR	26
3.4.7.4 Elektroforesis Hasil PCR.....	26
3.5 Analisis Data	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Hasil	28
4.1.1 Perkecambahan Benih Kedelai 4 Varietas.....	28
4.1.2 Pengamatan Tinggi Tanaman, Jumlah Daun dan Kehijauan Daun.....	29
4.1.3 Pengamatan Jumlah Polong per Tanaman, Jumlah Polong Berisi per Tanaman, dan Jumlah Polong Hampa	30
4.1.4 Pengamatan Bobot 100 Biji dan Berat Kering Berangkasan.....	31
4.1.5 Analisis Kemelimpahan Fungi Rhizosfer Kedelai.....	31
4.1.5.1 Ekstraksi DNA fungi Rhizosfer Kedelai.....	31
4.1.5.2 PCR Sekuen ITS dan Visualisasi Hasil PCR	33
4.1.5.3 Korelasi Parameter Pengamatan terhadap Kemelimpahan Fungi Rhizosfer	34
4.2. Pembahasan	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram Alir Kerangka Pemikiran	6
2. Posisi Primer ITS1 dan ITS4 Pada Ribosom DNA White et al., 1990).....	14
3. Denah Persiapan Pertanaman Kedelai	20
4. Denah Pembagian Petak Pertanaman Kedelai	24
5. Grafik Persentase Perkecambahan Benih Kedelai di Lapangan Selama 7 Hari Pada 4 Varietas Kedelai.....	29
6. Hasil Visualisasi Elektroforesis Pada Masa Perkecambahan.....	33
7. Hasil Visualisasi Elektroforesis pada 100 Hari Setelah Tanam.....	34
8. Korelasi Viabilitas, Vigor dan Tinggi Tanaman Minggu ke-2 terhadap Kemelimpahan Fungi Rhizosfer	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kadar Genistein Daidzein Dan Total Isoflavon 4 Varietas Kedelai Dari Berbagai Literatur	12
2. Kandungan Unsur pada Tanah Pertanaman	19
3. Hasil Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) Daya Berkecambah (DB) dan Indeks Vigor (IV) Perkecambahan Benih Kedelai 4 Varietas ...	28
4. Hasil Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil Tinggi Tanaman, Jumlah Daun, dan Kehijauan Daun Kedelai 4 Varietas	30
5. Hasil Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil Jumlah Polong Per Tanaman, Jumlah Polong Berisi Per Tanaman, dan Jumlah Polong Hampa Kedelai 4 Varietas	30
6. Hasil Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil Bobot 100 Biji dan Berat Kering Berangkasan Kedelai 4 Varietas	31
7. Hasil Analisis Konsentrasi Ekstraksi DNA Fungi	32
8. Interpretasi Terhadap Nilai r Hasil Analisis Korelasi.....	35
9. Hasil Analisis Hubungan Parameter Uji Viabilitas, Vigor, dan Tinggi Tanaman Minggu ke-2 terhadap Kemelimpahan Fungi Rizosfer ...	35
10. Deskripsi Kedelai Varietas Anjasmoro	58
11. Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo.....	59
12. Deskripsi Kedelai Varietas Dena-1	60
13. Deskripsi Kedelai Varietas Devon-1	61
14. Rekapitulasi ANARA dan BNT Tinggi Tanaman Minggu ke-7	62
15. Rekapitulasi ANARA dan BNT Jumlah Daun Minggu ke-7.....	62
16. Rekapitulasi ANARA dan BNT Kehijauan Daun	63
17. Rekapitulasi ANARA dan BNT Jumlah Polong/tanaman.....	63
18. Rekapitulasi ANARA dan BNT Jumlah Polong Berisi/tanaman.....	64
19. Rekapitulasi ANARA dan BNT Bobot 100 Biji	65
20. Rekapitulasi ANARA dan BNT Berat Kering Berangkasan	66
21. Data Pengamatan Lapanagn Daya Berkecambah dan Indeks Vigor 4 Varietas Kedelai	67

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia, salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan adalah kedelai. Tanaman kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman penting nomor tiga setelah tanaman jagung dan padi. Kedelai juga memiliki protein yang tinggi. Protein pada kedelai berperan penting dalam pemenuhan nutrisi masyarakat di Indonesia (Rifqi dan Dewi, 2018). Kedelai banyak dimanfaatkan sebagai bahan di industri makanan, misalnya untuk bahan baku tahu, tempe, kecap, tauco, biskuit dan susu (Ginting *et al*, 2009). Bagian tanaman selain biji dimanfaatkan untuk pupuk hijau dan pakan ternak. Namun, seiring dengan pertumbuhan jumlah penduduk, kebutuhan kedelai juga terus meningkat (Kartiana Hendri dkk, 2023). Karena kebutuhan akan kedelai terus meningkat maka produksi tanaman kedelai di Indonesia juga harus di tingkatkan. Kondisi lahan tanam dan pertumbuhan tanaman harus diperhatikan agar produksinya meningkat.

Salah satu faktor yang mendukung pertumbuhan tanaman kedelai adalah lahan yang subur dan mengandung unsur hara yang diperlukan oleh tanaman. Unsur hara yang cukup dan seimbang akan membuat tanaman tumbuh dengan baik dan subur (Dewi, 2016). Permasalahannya, sebagian besar lahan di Indonesia di dominasi oleh lahan marginal. Menurut Suharta (2010), Lahan marginal adalah lahan yang miskin unsur hara, sehingga penggunaan lahan ini kurang optimal karena kandungan bahan organik yang sedikit. Kondisi lahan dengan kandungan bahan organik yang sedikit menyebabkan rendahnya aktivitas mikroorganisme yang memiliki peran sebagai penyedia hara (Direktorat Jendral Perkebunan, 2010).

Mikroorganisme didalam tanah, salah satunya fungi rizosfer adalah salah satu faktor yang mempengaruhi kesuburan tanah dan berperan menyediakan nutrisi bagi tanaman. Fungi rizosfer berinteraksi secara alami di dalam rizosfer. Salah satunya yaitu simbiosis antara tanaman dan mikroorganisme. Simbiosis antara fungi rizosfer dan tanaman kedelai sangat penting terutama di lingkungan yang miskin hara karena umumnya fungi rizosfer dapat membantu tanaman untuk menyerap fosfor yang biasanya tidak tersedia bagi tanaman. Fungi rizosfer juga dapat membantu mengangkut belerang dan nitrogen ke tanaman (Igiehon & Babalola, 2017). Contoh fungi rizosfer yang menguntungkan pada tanaman kedelai yaitu *Glomus mosseae* dimana fungi ini dapat membantu tanaman kedelai pada kondisi cekaman kekeringan, (Chen *et al.*, 2017). Dalam penelitian Miranda (2008) mengungkap jenis fungi rizosfer *G. eunikatum* dan *E. colombiana* dapat membantu tanaman kedelai berproduksi lebih tinggi.

Berdasarkan peran pentingnya fungi rizosfer bagi pertumbuhan tanaman, maka kelimpahan fungi rizosfer di lahan marginal seharusnya akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman tersebut. Namun, penelitian tentang kelimpahan fungi rizosfer pada lahan marginal masih belum banyak. Terbatasnya informasi kelimpahan dan keanekaragaman fungi rizosfer pada lahan marginal menjadi pemicu untuk melakukan penelitian kelimpahan fungi rhizosfer di lahan marginal yang dianalisis menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan 4 varietas tanaman kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) yang ditanam di lahan marginal.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan viabilitas, vigor, dan pertumbuhan dari 4 varietas kedelai yang ditanam di lahan marginal?
2. Apakah terdapat perbedaan kelimpahan fungi rizhosfer tanaman kedelai dari 4 varietas yang ditanam pada lahan marginal?

3. Apakah korelasi yang terdapat pada komponen variabel pengamatan tanaman kedelai dengan kelimpahan fungi rizosfer?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui perbedaan viabilitas, vigor, dan pertumbuhan dari 4 varietas kedelai yang ditanam di lahan marginal.
2. Mengetahui perbedaan kelimpahan fungi rizosfer tanaman kedelai 4 varietas yang ada di lahan marginal.
3. Mengetahui korelasi yang terdapat pada komponen variabel pengamatan tanaman kedelai dengan kelimpahan fungi rizosfer.

1.4 Landasan Teori

Pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara yang ada di dalam tanah. Menurut Husen dkk (2006), ketersediaan unsur hara di dalam tanah dipengaruhi oleh mikroorganisme, salah satunya fungi rizosfer. Fungi rizosfer secara alami berinteraksi di dalam rizosfer. Salah satunya yaitu interaksi simbiosis yang merupakan interaksi diantara tanaman dan fungi rizosfer agar sama-sama mendapatkan keuntungan. Menurut Siregar dkk (2020), tanaman bersimbiosis dengan fungi rizosfer agar tanaman mendapat unsur hara yang cukup. Membantu tanaman menyerap unsur hara adalah peran utama fungi rizosfer, mendapat makanan dan habitat dari tanaman adalah keuntungan yang didapat fungi rizosfer (Widyati 2013). Keberadaan fungi rizosfer dipengaruhi oleh kondisi tanah. Yunus dkk (2017), menyatakan kondisi tanah yang digunakan untuk pertanaman kedelai harus memiliki kondisi lingkungan yang baik, sehingga fungi rizosfer dalam tanah dapat terjaga. Akan tetapi lahan di Indonesia didominasi oleh lahan marginal. Lahan marginal biasanya miskin unsur hara dan memiliki bahan organik yang sedikit. Menurut Yuwono (2009), lahan marginal merupakan lahan dengan mutu yang rendah karena kandungan unsur hara dan bahan organik yang sedikit.

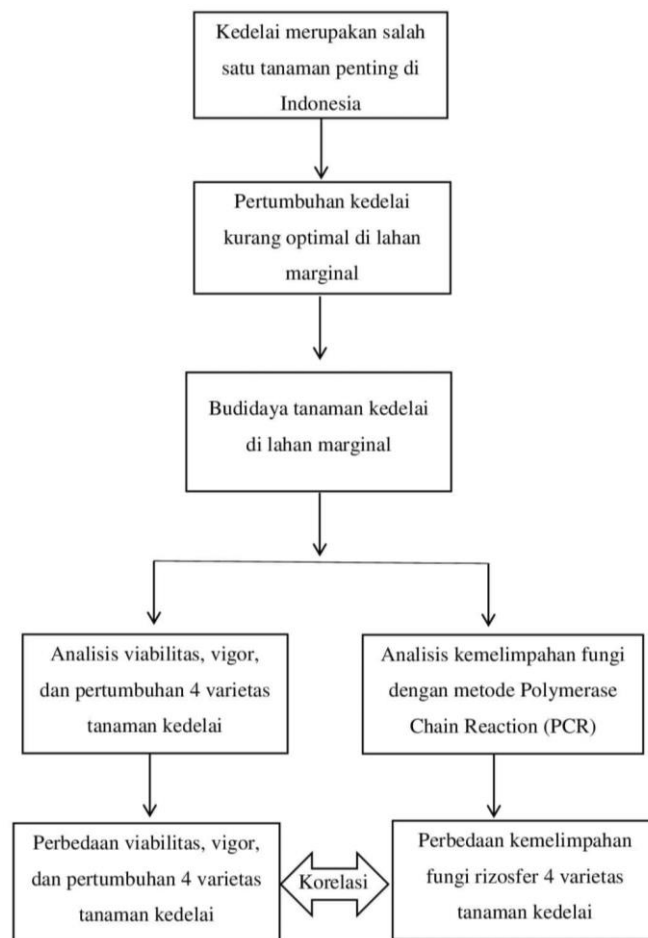
Kandungan bahan organik yang sedikit ini menyebabkan rendahnya aktivitas fungi rizosfer. Menurut Azeem *et al.* (2013), menunjukkan bahwa di lahan marginal Pakistan terdapat berbagai macam fungi rizosfer yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen biokontrol terhadap penyakit tanaman. Beberapa jenis fungi yang ditemukan yaitu *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma harzianum*, dan *Aspergillus niger*. Studi yang dilakukan oleh Zainuddin *et al.* (2016) di lahan marginal Aceh menunjukkan bahwa terdapat sejumlah fungi rizosfer yang dapat berperan dalam meningkatkan produktivitas tanaman. Beberapa jenis fungi yang ditemukan yaitu *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, dan *Rhizopus sp.* Penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan *et al.* (2019) di lahan marginal Banyumas menunjukkan bahwa terdapat berbagai macam fungi rizosfer yang dapat diisolasi dan dikarakterisasi. Beberapa jenis fungi yang ditemukan yaitu *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Mucor sp* dan Studi yang dilakukan oleh Susilowati *et al.* (2020) di lahan marginal Brebes menunjukkan bahwa terdapat sejumlah fungi rizosfer yang memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap nematoda parasit tanaman. Beberapa jenis fungi yang ditemukan yaitu *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.*, dan *Aspergillus sp.*

Untuk mengetahui lebih jauh simbiosis antara fungi rizosfer dan tanaman kedelai yang ditanam di lahan marginal, perlu dilakukan analisis dengan metode PCR (*Polymerase chain reaction*). Metode PCR adalah metode enzimatik yang digunakan untuk melipatgandakan (*amplification*) secara berulang suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro* (Yuwono, 2006). Kelebihan menggunakan metode ini yaitu membutuhkan sampel yang sedikit tetapi dapat menghasilkan amplifikasi yang akurat dan cepat (Ismaun dkk, 2021). Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah template DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; dNTPs (Deoxynucleotide trifosfat); buffer PCR; magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA. Proses PCR melibatkan beberapa langkah, yaitu: (1) pra-denaturasi DNA template; (2) denaturasi DNA template; (3) penempelan primer pada template (*annealing*); (4) pemanjangan primer (*perpanjangan*) dan (5) stabilisasi (*pasca*

ekstensi). Langkah (2) hingga (4) merupakan langkah berulang (siklus) yang berulang dengan penggandaan jumlah DNA pada setiap siklusnya (Handoyo & Rudiretna, 2001).

1.5 Kerangka Pemikiran

Tanaman kedelai merupakan salah satu tanaman penting setelah padi dan jagung. Tanaman kedelai biasanya dimanfaatkan di industri makanan. Namun, seiring bertambahnya jumlah penduduk membuat kebutuhan kedelai juga terus meningkat. Akan tetapi kedelai di Indonesia belum mencukupi untuk kebutuhan penduduk. Salah satu penyebabnya karena pertumbuhan kedelai yang kurang optimal. Pertumbuhan kedelai yang kurang optimal bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan kedelai menjadi kurang optimal yaitu kondisi lahan. Lahan di Indonesia didominasi oleh lahan marginal. Lahan marginal adalah lahan yang miskin unsur hara dan memiliki sedikit bahan organik. Bahan organik yang sedikit ini dapat mempengaruhi aktivitas mikroorganisme, salah satunya fungi rizosfer dalam lahan yang berperan sebagai penyedia unsur hara. Selain unsur hara, faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman kedelai tumbuh dengan baik adalah viabilitas dan vigor benih pada fase perkecambahan benih. Berdasarkan masalah tersebut, penulis melakukan budidaya kedelai di lahan marginal kemudian dilakukan analisis viabilitas dan vigor benih serta pertumbuhan dan produksi 4 varietas tanaman kedelai dan dilakukan analisis kemelimpahan fungi rizosfer menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Tujuannya untuk mengetahui terdapat atau tidak perbedaan viabilitas, vigor, pertumbuhan dan produksi dari 4 varietas kedelai yang ditanam di lahan marginal, ada perbedaan atau tidak jumlah fungi rizosfer dari 4 varietas kedelai dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) melalui perbedaan visualisasi pita DNA saat elektroforesis. Setelah mengetahui adanya perbedaan kemelimpahan fungi rizosfer, penulis ingin mengetahui korelasi antara variabel pengamatan tanaman kedelai dengan Kemelimpahan fungi rizosfer.



Gambar 1. Diagram alir Kerangka Pemikiran

1.6 Hipotesis

1. Terdapat perbedaan viabilitas, vigor, pertumbuhan dari ke-4 varietas kedelai yang ditanam di lahan marginal.
2. Terdapat perbedaan jumlah fungi rizhosfer tanaman kedelai dari 4 varietas yang ditanam pada lahan marginal.
3. Perbedaan komponen variabel pengamatan tanaman kedelai memiliki korelasi dengan kemelimpahan fungi rhizosfer, komponen variabel pengamatan tanaman kedelai yang tinggi menghasilkan kemelimpahan fungi rhizosfer yang tinggi pula, dan sebaliknya.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanah Marginal

Di Indonesia, tanah marginal memiliki sebaran yang sangat luas dari dataran rendah sampai dataran tinggi dengan daerah dataran rendah dan pegunungan, umumnya beriklim lembab. Kendala utama yang biasa ditemui pada tanah marginal baik di iklim kering maupun lembab adalah unsur hara yang sedikit, kandungan bahan organik yang rendah, kadar besi dan aluminium yang tinggi yang melebihi batas toleransi tanaman dan kepekaan terhadap erosi sehingga produktivitas dapat menurun (Buol *et al.*, 1980). Dilihat dari cakupannya, tanah marginal memiliki potensi yang tinggi untuk pengembangan pertanian kering. Namun, penggunaan tanah ini memiliki keterbatasan sifat-sifat tanah yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman, terutama tanaman pangan, jika tidak dikelola dengan baik. Beberapa batasan umum untuk tanah marginal adalah kemasaman tanah yang tinggi, pH sedang <4,50, kandungan hara yang rendah, dan kandungan bahan organik yang rendah. Teknologi pengapuran, pemupukan P dan K serta bahan organik dapat digunakan untuk mengatasi kendala tersebut. Untuk kedelai, pemberian kapur sedalam 30 cm memberikan hasil tertinggi, tetapi sisa kapur tidak mempengaruhi tinggi jagung yang ditanam setelah kedelai, hanya berat tongkol basah. Pemberian kapur dapat mengatasi masalah pengasaman tanah dan juga memastikan tanaman dapat bertahan hidup dan berproduksi di musim kemarau (Prasetyo *et al.*, 2006).

2.2 Deskripsi Tanaman Kedelai (*Glycine max* Merr.)

Kedelai merupakan sumber protein yang murah, sehingga dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan pangan penduduk. Permintaan kedelai setiap tahun meningkat seiring dengan pertumbuhan penduduk dan kesadaran masyarakat yang semakin meningkat terhadap pangan berprotein nabati. Kedelai juga mengandung asam tak jenuh yang dapat mencegah timbulnya aterosklerosis, atau pengerasan pembuluh darah (Taufiq dan Novo, 2004).

2.2.1 Deskripsi Kedelai Varietas Argomulyo

Kedelai varietas Argomulyo merupakan salah satu varietas kedelai unggul di Indonesia. Kedelai varietas Argomulyo merupakan kedelai dari Thailand, dengan nama asal Nakhon Sawan 1. Kedelai varietas Argomulyo ini memiliki daya hasil 1,5-2,0 ton/ha (Balitkabi, 2016). Kedelai varietas Argomulyo merupakan tipe kedelai determinate. Varietas ini mempunyai batang agak berkayu dan tumbuh cenderung tegak biasanya dengan tinggi tanaman 31,69-36,57 cm. Batang varietas ini berwarna hijau dan berbentuk silindris yang dipenuhi bulu berwarna coklat. Batang memiliki 2-4 cabang. Sistem perakaran kedelai varietas ini adalah akar tunggang, daunnya berbentuk majemuk dan berwarna hijau. Bentuk bunga seperti kupu-kupu dan berwarna ungu. Permukaan polong ditumbuhi bulu berwarna coklat. Polong berwarna hijau Ketika masih muda dan berwarna coklat Ketika sudah tua. Biji varietas ini cukup besar dengan berat setiap 100 biji mencapai 15,5-17,8 g/100 biji dengan bentuk biji berbentuk oval agak pipih dan berwarna kuning (Darsono, 2010).

2.2.2 Deskripsi Kedelai Varietas Anjasmoro

Salah satu varietas kedelai yang biasa ditanam petani adalah varietas Anjasmoro. Varietas kedelai Anjasmoro dilepas secara resmi oleh Balitkabi pada tahun 2001 dengan potensi hasil 2,03 - 2,25 ton/ha (Widyaningrum *et al.*, 2018). Kedelai varietas Anjasmoro tidak tahan terhadap kekeringan, sehingga kebutuhan air tanaman harus tercukupi secara optimal. Kedelai varietas Anjasmoro memiliki kebutuhan air 440–550ml/tanaman per hari atau setara 5,37–5,95mm/hari dan

efisiensi penggunaan air 3,49–5,60 g/mm (Makarim *et al.*, 2017). Kedelai varietas Anjasmoro merupakan tipe kedelai determinate. Varietas ini mempunyai batang agak berkayu dan tumbuh cenderung tegak biasanya dengan tinggi tanaman 43-50,3 cm. Batang varietas ini berwarna hijau dan berbentuk silindris yang dipenuhi bulu berwarna putih. Sistem perakaran kedelai varietas ini adalah akar tunggang, daunnya berbentuk majemuk dan berwarna hijau. Bentuk bunga seperti kupu-kupu dan berwarna ungu. Varietas Anjasmoro dapat dipanen ketika memasuki umur 82 HST. Permukaan polong dipenuhi bulu berwarna putih seperti pada batang. Polong berwarna hijau Ketika masih muda dan berwarna coklat Ketika sudah tua. Bentuk biji berbentuk oval agak pipih dan berwarna kuning (Darsono, 2010).

2.2.3 Deskripsi Kedelai Varietas Devon-1

Kedelai varietas Devon-1 merupakan hasil persilangan dari galur harapan K dan IAC 100-997-1035 dikeluarkan pada 1 Desember 2014. Varietas ini memiliki kadar Isoflavon yang tinggi. Varietas ini memiliki daya hasil rata-rata 2,75 ton/ha. Biji varietas ini cukup besar dengan berat setiap 100 biji mencapai 14,3 g/100 biji. Daun berwarna hijau dan berbentuk bulat, batang memiliki 2-3 cabang dan memiliki bulu berwarna coklat keputihan, bunga berwarna ungu. Varietas ini dapat dipanen pada umur sekitar 83 HST (Balitkabi, 2015). Varietas Devon-1 tahan terhadap penyakit karat daun dan agak tahan terhadap hama ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) dan penghisap polong (*Riptortus linearis*) (Balitkabi, 2015).

2.2.4 Deskripsi Kedelai Varietas Dena-1

Varietas Dena I adalah varietas hasil persilangan antara Agromulyo dan IAC 100 dan dikeluarkan pada 5 Desember tahun 2014. Kedelai varietas Dena-1 merupakan tipe kedelai determinate. Mulai berbunga pada umur 33 HST dan dapat dipanen pada umur 78 HST. Daun berbentuk oval dengan ukuran sedang, batang memiliki 1-3 cabang/tanaman. Biji varietas ini cukup besar dengan berat setiap 100 biji mencapai 14,3 g/100 biji. Kulit biji berwarna kuning, kotiledon berwarna hijau dan polong berwarna coklat kekuningan. Varietas ini memiliki

sifat polong tidak mudah pecah. Varietas Dena-1 tahan terhadap penyakit karat daun dan rentan terhadap hama ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) dan penghisap polong (*Riptortus linearis*) (Balitkabi, 2015).

2.3 Syarat Tumbuh Tanaman Kedelai

Tanah dan iklim merupakan faktor penentu dalam keberhasilan budidaya kedelai. Kedelai dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang tidak tergenang air, lembab, bertekstur gembur dan memiliki pH 6-6,8. Kedelai masih dapat berproduksi pada pH 5,5, tetapi tidak sebaik pada pH 6-6,8. Pertumbuhan kedelai pada pH < 5,5 sangat terlambat karena keracunan aluminium. Tanaman kedelai biasanya dapat beradaptasi dengan berbagai jenis tanah dan dapat tumbuh pada tanah yang bertekstur ringan hingga sedang (Sofia, 2007). Sebagian besar tanaman kedelai tumbuh di daerah yang memiliki iklim tropis dan subtropis. Tanaman kedelai lebih menyukai iklim kering dibandingkan dengan iklim lembab. Tanaman kedelai umumnya dapat tumbuh dengan baik di daerah yang mempunyai curah hujan sekitar 100-400 mm/bulan. Sedangkan pada curah hujan antara 100-200 mm/bulan, kedelai dapat tumbuh dengan optimal. Kedelai dapat tumbuh dengan baik pada suhu antara 21-34°C, akan tetapi suhu optimal untuk pertumbuhan tanaman kedelai yaitu antara 23-30°C. Benih kedelai memerlukan suhu sekitar 30°C pada saat proses perkecambahan. Tanaman kedelai umumnya dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian kurang dari 500 mdpl dan tergantung varietas (Irwan, 2006).

2.4 Viabilitas Benih dan Vigor Benih

Viabilitas benih adalah kemampuan suatu benih atau sekelompok benih untuk tumbuh dan berkecambah normal (Ridha *et al.*, 2017). Viabilitas benih merupakan parameter dari proses pertumbuhan benih itu sendiri. Uji viabilitas benih bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan keseluruhan benih yang hidup

Terdapat metabolisme yang dapat dilihat di dalam proses tersebut. Proses yang terjadi di dalam benih tidak bisa dilihat secara langsung, namun dapat dilihat perubahan dari hari-kehari pada benih dan kemajuan-kemajuan tumbuh pada benih (Rohbiyah, 2021).

Viabilitas benih mencakup daya berkecambah dan vigor benih (Shari *et al.*, 2013). Viabilitas dan vigor mempunyai hubungan yang dapat dilihat pada daya berkecambah dan perkecambahan pada hitungan pertama. Benih yang mempunyai vigor yang tinggi akan memiliki viabilitas yang tinggi, sebaliknya benih yang mempunyai viabilitas yang tinggi belum tentu mempunyai vigor yang tinggi (Permanasari, 2014). Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan varietas (Syamsudin *et al.*, 2011). Vigor benih dapat diketahui melalui pengujian vigor benih. Pengujian vigor benih dihitung pada hitungan pertama.

2.5 Total Isoflavon pada 4 Varietas Kedelai

Isoflavon adalah subkelompok flavonoid yang ditemukan terutama pada tanaman kacang-kacangan. Menurut Sugiyama (2019), Isoflavon terkenal karena fungsinya dalam interaksi tanaman-mikroba, terutama dalam simbiosis dan pertahanan. Dalam simbiosis, akar kedelai mengeluarkan isoflavon seperti daidzein dan genistein ke dalam rizosfer sebagai senyawa sinyal bagi rhizobia untuk membentuk nodulasi. Dalam pertahanan, daidzein berfungsi sebagai prekursor untuk biosintesis gliseollin dan fitoaleksin yang memiliki aktivitas antimikroba dan diinduksi saat infeksi oleh patogen seperti *Phytophthora sojae* dan *Macrophomina phaseolina*. Isoflavon rizosfer juga memainkan berbagai peran dalam komunikasi biologis dengan mikroba tanah (Sugiyama, 2019). Pada ke-4 varietas tanaman kedelai yang diujikan Devon-1 memiliki kandungan isoflavon tertinggi diantara varietas lainnya, diikuti Argomulyo, Anjasmoro, dan Dena-1 (Tabel 1)

Tabel 1. Kadar Genistein, Daidzein, dan Total Isoflavon 4 Varietas Kedelai dari Berbagai Literatur

Varietas	Genistein	Daidzein	Total Isoflavon
Anjasmoro	23,67 mg/100g (Sulistyowati, <i>et al.</i> , 2018)	18,69 mg/100g (Sulistyowati, <i>et al.</i> , 2018)	0.068±0.0009 % w/ (Dwiatmaka, <i>et al.</i> , 2021)
Argomulyo	22,15 mg/100g (Sulistyowati, <i>et al.</i> , 2018)	29,68 mg/100 g (Sulistyowati, <i>et al.</i> , 2018)	0.074±0.0015 % w/w (Dwiatmaka, <i>et al.</i> , 2021)
Dena-1	± 10mg/100g (Yusnawan, <i>et al.</i> , 2018)	±12 , <i>et al.</i> , 2018)	0.062±0.0009 (Dwiatmaka, <i>et al.</i> , 2021)
Devon-1	40,7 mg/100g (Krisnawati dan Adie, 2009)	69,5 mg/100g (Krisnawati dan Adie, 2009)	200 mg/100g (Balitkabi, 2016); 0.112±0.0012 %w/w (Dwiatmaka, <i>et al.</i> , 2021)

2.6 Identifikasi Mikroorganisme Tanah

Keanekaragaman hayati adalah berbagai jenis makhluk hidup yang ada di bumi ini, maupun di darat, di lautan dan tempat lain dan terdiri dari hewan, tumbuhan, mikroorganisme dan semua gen yang dikandungnya, dan ekosistem yang telah terbentuk (Sugandi dkk., 2010). Organisme hidup berukuran kecil sering disebut sebagai mikroba atau mikroorganisme. Rhizosfer merupakan daerah yang cocok dan sangat baik bagi pertumbuhan mikroorganisme tanah yang pada umumnya didominasi oleh fungi, aktinomicetes, dan bakteri (W. Meng *et al.*, 2007). Rhizosfer banyak mengandung eksudat akar yang dikeluarkan melalui proses sekresi akar oleh tanaman (R. E. Hoagland and R. D. Williams, 1985 dalam Widiastutik dan Alami, 2014). Eksudat akar mengandung karbohidrat, asam organik, asam amino, enzim, dan senyawa-senyawa lain (S. A. Cheema *et al.*, 2008). Rhizosfer merupakan habitat yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Daerah akar relatif kaya akan unsur hara atau nutrisi bagi mikroorganisme termasuk fungi. Faktor tanah yang mempengaruhi keberadaan mikroorganisme adalah jenis tanah, kelembaban tanah, pH tanah, suhu tanah dan umur tanah. Peran mikroorganisme didalam rizosfer yaitu berperan dalam proses

pembentukan tanah, berperan dalam siklus hara, membantu pertumbuhan tanaman, sebagai pengendali hayati terhadap patogen akar serta memengaruhi aktivitas mikroorganisme (Prayudyaningsih *et al.*, 2015).

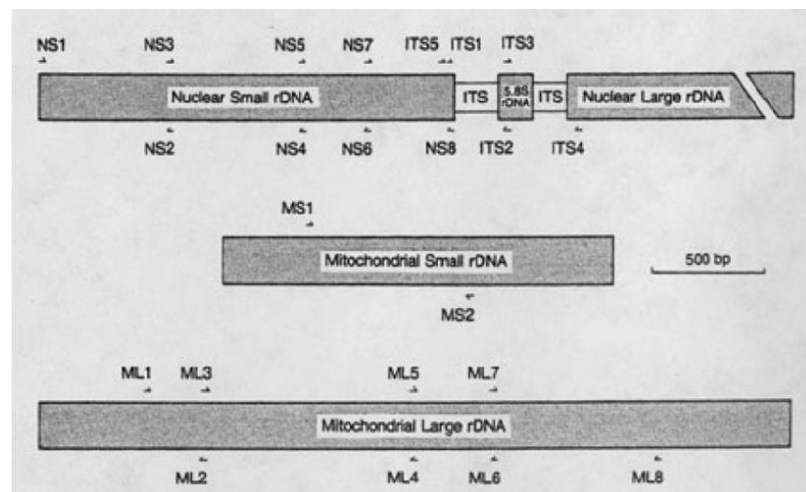
Ada dua metode yang biasa digunakan untuk mengidentifikasi komunitas mikroba, yaitu: metode yang hanya mengidentifikasi mikroba yang dapat ditumbuhkan (*culture dependent*) dan metode yang dapat mengidentifikasi mikroba tanpa dikultur (*culture independent*). Metode untuk mengidentifikasi mikroba yang dapat ditumbuhkan (*culture dependent*) adalah dengan menumbuhkan beberapa mikroba dalam sampel pada nutrisi terpilih untuk merangsang pertumbuhannya. Struktur komunitas dinilai dengan mengidentifikasi isolat dari koloni dominan. Susilowati dkk. (2015) menyatakan bahwa metode ini dianggap kurang efisien karena setiap isolat harus dipantau lebih lanjut karakteristik fisiologis, taksonomi dan reaktivitasnya.

2.7. Metode Analisis DNA Fungi

Keragaman genetik dapat diamati dengan melihat sifat-sifat genetik, sifat yang diamati adalah DNA, yang sulit dipengaruhi dari lingkungan. Penggunaan penanda molekuler berupa DNA (*deoxyribonucleic acid*) sedang digunakan sejalan dengan perkembangan ilmu biologi molekuler. Penanda DNA, yang digunakan sejak 1980-an, merupakan pendekatan untuk lebih meningkatkan informasi genetik yang tidak dapat diperoleh dengan penanda protein. Keunggulan penanda DNA adalah dapat digunakan dalam jumlah yang tidak terbatas dan dapat mencakup seluruh genom tanaman, tidak terpengaruh oleh peraturan perkembangan tanaman, dan memiliki kemampuan yang tinggi untuk menggambarkan keragaman sifat antar individu. Kekurangannya masih membutuhkan biaya yang tinggi dalam penerapannya dibandingkan dengan analisis isoenzim dan peralatan yang tersedia masih terbatas pada institusi atau institusi tertentu. Penanda molekuler banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik tanaman, yaitu RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Oleh karena itu, molekul ini dapat didasarkan pada PCR (*polymerase chain reaction*),

yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi keanekaragaman pada tingkat intraspesies dan interspesies (Langga, 2012).

Salah satu cara untuk mengidentifikasi spesies jamur secara molekuler adalah dengan menggunakan urutan DNA ribosom (rDNA) di wilayah ruang transkripsi internal (ITS). Wilayah rDNA ITS yang cocok untuk identifikasi spesies diagnostik dan analisis filogenetik adalah wilayah tersebut. ITS-1 dan ITS-2 bersama-sama mengapit wilayah 5.8S dari rDNA jamur. Posisi primer ITS1 dan ITS4 pada ribosom DNA disajikan pada gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Posisi primer ITS1 dan ITS4 pada ribosom DNA (White *et al.*, 1990)

Sebelum dapat dilakukan analisis filogenetik molekuler berdasarkan sekuens rDNA di wilayah ITS, perlu dilakukan optimasi isolasi DNA dan amplifikasi rDNA ITS tersebut. Optimalisasi ini harus dilakukan untuk mendapatkan produk amplifikasi ITS rDNA PCR yang cukup baik untuk menghasilkan sekuens DNA yang baik untuk analisis lebih lanjut (Schoch *et al.*, 2012). Menurut White, *et al.* (1990), Primer ITS menggunakan daerah yang dilestarikan dari gen rRNA 18S, 5.8S, dan 28S untuk memperkuat daerah noncoding di antara mereka. ITS1 adalah pelengkap dari NS8.

2.7.1 Ekstraksi DNA Fungi

Prinsip dasar ekstraksi DNA adalah menghancurkan dinding sel dan membran tanaman kemudian mengeluarkan DNA yang terdapat dalam inti sel tanpa

merusak DNA tersebut (Sharma *et al.*, 2010). Sedangkan menurut Chi *et al.* (2009), proses ekstraksi DNA secara umum dibagi menjadi beberapa tahapan, yaitu penyiapan bahan yang akan digunakan, proses penghancuran sel, penghilangan pengotor dan pengumpulan DNA. Menurut Ogunkanmi dkk. (2011), DNA yang diekstraksi harus bebas dari senyawa pencemar seperti polisakarida, polifenol dan tanin, yang sering terbawa dan dapat menghambat kerja beberapa enzim yang terlibat dalam aktivitas molekuler. Analisis konsentrasi dan kemurnian hasil ekstraksi DNA diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer. Menurut Barbas *et al.* (2001), Konsentrasi DNA dihitung dengan menggunakan rumus:

Konsentrasi DNA (ng/ μ L)

= $A_{260} \times 50 \text{ ng}/\mu\text{L} \times \text{faktor pengenceran}$

Rasio Kemurnian DNA = $\frac{[\text{Abs pada } \lambda \text{ A260} - \text{Abs pada } \lambda \text{ A320}]}{[\text{Abs pada } \lambda \text{ A280} - \text{Abs pada } \lambda \text{ A320}]}$ (Sambrook dkk. 1989):

Keterangan:

A_{260} = Nilai absorbansi pada λ 260 nm

50 = Larutan dengan nilai absorbansi 1.0 sebanding dengan 50ug untai ganda DNA per mL.

Kemurnian DNA dapat dilihat dari rasio absorbansi DNA ($A_{260} : A_{280}$). Dimana nilai rata-rata kemurnian (R) DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini berkisar antara 1,7-2,1. Menurut Sambrook *et al.* (1989), hasil isolasi DNA dikatakan murni jika nilai rasio $A_{260/280}$ antara 1,8 hingga 2,0.

2.7.2 Amplifikasi sekuens DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Metode reaksi berantai polimerase atau *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah metode enzimatik yang digunakan untuk melipatgandakan (*amplification*) secara berulang suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro* (Yuwono, 2006).

Komponen yang dibutuhkan dalam proses PCR adalah DNA template yang biasanya berupa DNA plasmid, DNA kromosom. DNA template berfungsi sebagai cetakan untuk pembentukan DNA baru yang sama. Pasangan primer, dimana primer adalah penentu keberhasilan proses PCR. Primer berfungsi untuk menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' dan sebagai pembatas fragmen DNA. dNTP (deoksinukleotida trifosfat) merupakan campuran yang terdiri dari

dATP (deoksiadenosin trifosfat), dTTP (deoksitimidin trifosfat) , dCTP (deoksisitidin trifosfat) dan dGTP (deoksiguanosin trifosfat). Fungsi dNTP pada proses PCR yaitu sebagai building block DNA dalam proses ekstensi DNA. Pada proses PCR dNTP menempel pada gugus –OH pada ujung 3' dari primer yang akan membentuk untai baru yang komplementer dengan untai DNA templat. Buffer berfungsi sebagai penyeimbang pH, karena reaksi PCR akan terjadi pada pH tertentu. Magnesium klorida ($MgCl_2$) bertindak sebagai kofaktor yang dapat menstimulasi aktivitas DNA polimerase. Enzim DNA polimerase berfungsi sebagai katalis pada proses PCR (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Proses PCR melibatkan beberapa langkah, yaitu: (1) pra-denaturasi DNA template; (2) denaturasi DNA template; (3) penempelan primer pada template (annealing); (4) pemanjangan primer (perpanjangan) dan (5) stabilisasi (pasca ekstensi). Langkah (2) hingga (4) merupakan langkah berulang (siklus) yang berulang dengan penggandaan jumlah DNA pada setiap siklusnya (Handoyo & Rudiretna, 2001).

2.7.3 Visualisasi Hasil Amplifikasi dengan Elektroforesis

Elektroforesis adalah teknik untuk memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekul. Prinsip kerja elektroforesis didasarkan pada pergerakan partikel bermuatan negatif (anion), seperti DNA, yang bergerak menuju kutub positif, sedangkan partikel bermuatan positif (kation) bergerak menuju kutub negatif. Semakin kecil molekul DNA maka semakin cepat migrasi molekul DNA melewati gel (Nugraha *et al.*, 2014). Hasil elektroforesis yang menunjukkan pita dibandingkan ketebalannya antara varietas satu dengan varietas lainnya, pita yang paling tebal menunjukkan kemelimpahan fungi rizosfer yang paling banyak, seperti yang dikemukakan oleh Machsun dan Zulaika (2017) pada hasil elektroforesisnya terdapat sejumlah pita protein yang memiliki ketebalan yang berbeda-beda. Protein yang lebih besar dari protein lain menunjukkan bahwa protein tersebut memiliki konsentrasi yang tinggi. Semakin tinggi konsentrasi protein, semakin tebal pita yang terbentuk.

III METODELOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2022 sampai juli 2022, di Kabupaten Way Kanan dan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini di lapangan yaitu tugal, cangkul, ember, kored, meteran, alat tulis, karung dan timbangan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini di laboratorium yaitu *cool box*, kertas *tissue*, autoklaf, oven, *micropipette eppendorf*, alat *Centrifuge (Hybrid refrigerated Centrifuge CAX-370)*, *Tissue Lyser (Tissue Lyser LT Qiagen)*, *Vortex (Bio Vortex V1)*, Alat Inkubasi (*Thermo-shaker TS-100 DAN CH-100*), Alat Spin (*mIcro one*), *Nanophotometer P 360 (Implen) Qiaxsel advanced*, kuvet, alat PCR *Thercycler PCR Sensoquest Sensodirect (Sensoquest Jerman)*, *well buffer*, alat elektroforesis (*Qiaxsel advanced 12352* dari Qiagen), *disposable free powder goves* dan *freezer*.

Bahan-bahan yang akan digunakan di lapangan pada penelitian ini yaitu kedelai varietas Dena-1, Anjasmoro, Agromulyo, Devon-1, pupuk urea, KCL, SP-36, insektisida, plastik PE (Polythylene) atau plastik tahan panas. Bahan-bahan yang akan digunakan di laboratorium pada penelitian ini yaitu plastik klip, air, es batu, alkohol, kit ekstraksi DNA, *microtube* steril, tip steril 1000 μ L, tip steril 200 μ L, tip steril 10 μ L, kit pereaksi PCR, dan kit pereaksi elektroforesis.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Percobaan ini merupakan percobaan non faktorial yang terdiri dari 4 perlakuan dan diulang sebanyak 4 kali, yang dilakukan di Kabupaten Way Kanan sehingga terdapat 16 satuan percobaan. 4 perlakuan sebagai berikut:

1. Tanah marginal + kedelai varietas Dena-1
2. Tanah marginal + kedelai varietas Anjasmoro
3. Tanah marginal + kedelai varietas Agromulyo
4. Tanah marginal + kedelai varietas Devon-1

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Benih

Benih kedelai yang dibudidayakan adalah varietas Dena-1, Anjasmoro, Agromulyo dan Devon-1 yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman kacang-kacangan dan Ubi-ubian, Malang. Setiap percobaan benih yang digunakan berjumlah 150 benih/ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 4 ulangan.

3.4.2 Persiapan Lahan

Lahan yang digunakan merupakan lahan bekas pertanaman jangung. Sebelum lahan diolah dilakukan uji analisis unsur hara tanah yang ada pada lahan tersebut. Hara yang dianalisis yaitu kandungan hara makro seperti nitrogen (N), fosfat (P), dan kalium (K). 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 2. Kandungan Unsur pada Tanah Pertanaman

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 dihomogenasi dengan *shaker* selama 30 menit. Analisis pH dilakukan dengan pH meter elektrik otomatis. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan aquades sebelum analisis sampel tanah. Derajat kemasaman tanah yang didapatkan yaitu 5,00.

Lahan tersebut diolah menggunakan cangkul, kemudian dibuat bedengan selebar 3 x 2 m per ulangan dengan menggunakan cangkul. Langkah berikutnya, membuat jarak tanam 40 x 15 cm. Pembuatan lubang tanam ini dilakukan dengan cara ditugal sedalam 2-3 cm. Bedengan dibuat setinggi 10 cm. Ilustrasi denah persiapan lahan pertanaman kedelai disajikan pada gambar 3 di bawah ini.

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

Gambar 3. Denah Persiapan Lahan Pertanaman Kedelai

Keterangan:

V1: Benih Kedelai Varietas Argomulyo

V2: Benih Kedelai Varietas Anjasmoro

V3: Benih Kedelai Varietas Devon-1

V4: Benih Kedelai Varietas Dena-1

3.4.3 Penanaman Benih

Benih di tanam dengan cara dimasukkan ke dalam lubang penanaman sebanyak 2 benih kedelai/lubang, kemudian ditaburkan sedikit tanah. Ditaburkan furadan secukupnya dan yang terakhir ditutup kembali menggunakan tanah.

3.4.4 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman meliputi: (1) penyulaman yaitu mengganti tanaman mati dengan benih baru pada satu minggu setelah tanam agar pertumbuhan tanaman serentak; (2) penyiraman dilakukan secara rutin pagi dan sore, namun penyiraman dilakukan dengan menyesuaikan kondisi cuaca, apabila tanah kering maka dilakukan penyiraman; (3) penyiangan dilakukan dengan membersihkan gulma yang tumbuh disekitar tanaman agar tidak terjadi kompetisi dalam memperebutkan unsur hara antar tanaman; (4) Pemupukan dilakukan pada umur 2 MST dan 4 MST dengan menggunakan pupuk urea 1,2 kg/luas lahan, SP36 1,6 kg/luas lahan, dan Kcl 1,6 kg/luas lahan. Pemupukan dilakukan dengan cara membuat larikan di dekat tanaman kedelai.

3.4.5 Variabel Pengamatan Pertumbuhan Tanaman Kedelai 4 Varietas

3.4.5.1 Variabel Pengamatan di Lapangan

1. Pengamatan Komponen Perkecambahan

Benih kedelai 4 varietas ditanam pada *seedling tray* yang berisi tanah marginal dari kedalaman 20 cm dan ditanam sedalam 1 cm. Masing-masing ulangan setiap varietas terdiri dari 50 benih, sehingga benih yang dibutuhkan adalah sebanyak 200 benih setiap varietas. Pengamatan ini dilakukan selama 7 hari.

Variabel penelitian yang diamati yaitu:

a. Daya Berkecambah (DB) (%)

Daya berkecambah dihitung secara otomatis menggunakan *software online GerminaQuant* dan dapat juga di hitung dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah normal pada hari ke 5 (Pengamatan I) dan 8 (Pengamatan II) setelah tanam. Daya berkecambah dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

KN = Kecambah Normal

b. Indeks Vigor (IV)

Pengamatan untuk perhitungan indeks vigor dilakukan dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah pada hari ke 5 (ISTA, 2010), dengan rumus:

$$IV (\%) = \frac{\sum t = 5}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

2. Jumlah daun

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah daun tanaman dimulai dari daun yang berada di pangkal batang sampai titik tumbuh munculnya daun.

Pengamatan ini dilakukan saat tanaman berumur 2 minggu, pengamatan dilakukan seminggu sekali.

3. Tinggi Tanaman (cm)

Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur batang utama tanaman dari atas permukaan media tanam atau pangkal batang sampai titik tumbuh munculnya daun. Pengamatan ini dilakukan saat tanaman berumur 2 minggu, pengamatan dilakukan seminggu sekali.

4. Jumlah Polong Berisi/Tanaman (Buah)

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung semua polong yang berisi pada tanaman sampel setelah panen dilakukan pada setiap perlakuan. Polong yang berisi adalah polong yang paling sedikit memiliki 1 biji per-polong.

5. Bobot Kering Brangkasan (gram/tanaman)

Pengamatan dilakukan dengan cara mengeringkan tanaman dibawah panas matahari selama 1 hari selanjutnya tanaman di keringkan menggunakan oven selama 24 jam pada suhu 70°C selanjutnya ditimbang setiap varietas. Pengamatan ini dilakukan pada saat tanaman kedelai sudah dipanen.

6. Jumlah Polong Per Tanaman (Buah)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah seluruh polong pada masing-masing tanaman yang telah diberi pita baik polong yang hampa maupun polong yang bernas. Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel.

7. Berat 100 Biji (g)

Pengamatan berat 100 biji dilakukan dengan cara menghitung dan memilih 100 biji secara acak dari tanaman sampel kemudian ditimbang pada kadar air 10%. Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis secara statistik dan disajikan dalam bentuk tabel.

8. Kehijauan Daun

Pengamatan kehijauan daun dilakukan untuk mengetahui salah satu pengaruh klorofil terhadap warna daun. Kehijauan daun atau klorofil dianalisis dengan menggunakan alat *Chlorophyll Meter Soil Plant Analysis Development (SPAD)*. Alat SPAD merupakan alat untuk mengukur Kesehatan daun melalui klorofil daun yang dinyatakan dalam satuan unit (Prabowo *et al.*, 2018). Daun sampel yang diukur dibersihkan menggunakan kertas tisu. Untuk membaca kandungan klorofil, daun hijau dijepitkan dengan sensor SPAD *Chlorophyll Meter*. Nilai klorofil akan muncul pada layar SPAD *Chlorophyll Meter*. Pengamatan dilakukan pada saat tanaman memasuki masa generatif.

3.4.5.2 Variabel Pengamatan di Laboratorium

1. Kemelimpahan Fungi Rhizosfer 4 Varietas Tanaman Kedelai

Pengamatan kemelimpahan fungi rhizosfer dari 4 varietas kedelai diukur dengan cara menganalisis visualisasi hasil amplifikasi sekuens DNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Kemelimpahan fungi rhizosfer tanaman kedelai 4 varietas diukur melalui :

a. Ketebalan Pita DNA

Kemelimpahan sekuens DNA fungi rhizosfer yang terseparasi diindikasikan dengan tebal pita yang tervisualisasi dalam bentuk gel image pada proses

elektroforesis. Semakin tebal pita yang terbentuk maka dapat diasumsikan bahwa semakin melimpah fungi rhizosfer pada sumber sampel.

b. Ukuran Fragmen DNA

Pada proses elektroforesis ukuran fragmen DNA yang terseparasi ditunjukkan dengan jumlah pasang basa (*base pair* (bp)) pada sekuen DNA. Ukuran fragmen DNA dihitung dengan cara membandingkannya dengan ukuran fragmen *size marker*. Ukuran *size marker* sendiri berkisar antara 100 pb-3000 pb. Semakin banyak pasang basa pada sekuen DNA atau semakin besar ukuran fragmen DNA mengasumsikan bahwa semakin melimpahnya fungi rizhosfer pada sumber sampel.

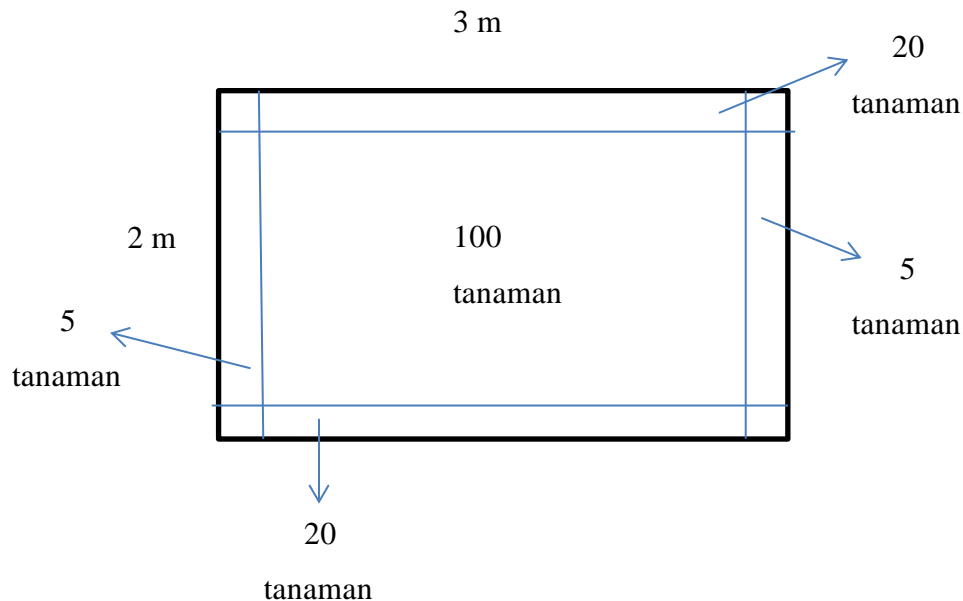
3.4.6 Pengambilan Sampel Fungi Rhizosfer Tanaman Kedelai

Luas lahan perpetak adalah 3m x 2m dengan jarak tanam 40 cm x 15 cm, pada setiap petak ulangan terdapat 100 populasi tanaman, maka tanaman yang tumbuh dipinggir yang tidak dipakai berjumlah 50 tanaman. Pengambilan sampel dilakukan 1 kali yaitu pada saat masa berkecambah. Pengambilan sampel tanah pada saat masa berkecambah dilakukan dengan cara mengambil tanah di sekitar daerah pertanaman kecambah dari 5 tanaman per ulangan pada setiap varietas, selanjutnya tanah yang telah diambil dari setiap ulangan per varietas dicampur lalu dimasukkan kedalam 3-4 plastik klip. Setiap plastik klip berisi kurang lebih 10 gram tanah sampel. Setelah itu tanah sampel dimasukkan ke frezeer.

Kemudian untuk pengambilan sampel pada saat tanaman berumur 100 hari dilakukan dengan cara mengambil sampel tanah disekitar daerah perakaran dari 5 tanaman per ulangan pada setiap varietas. Tanah yang telah diambil dari setiap ulangan per varietas dicampur lalu dimasukkan kedalam 3-4 plastik klip.

Pengambilan sampel pada masa berbunga dilakukan karena pada fase ini fungi rhizosfer memiliki kemelimpahan yan lebih tinggi dibandingkan dengan tahap perkembangan lainnya (Hou Qian *et al.*, 2020). Setelah itu tanah sampel dimasukkan ke frezeer. Saat akan dibawa ke laboratorium sampel dimasukkan kedalam ice box, hal ini bertujuan untuk menjaga populasi kemelimpahan fungi rhizosfer dan meminimalisir terjadinya reaksi enzimatik. Sebanyak 40 tanaman yang tersisa diambil secara acak 10 tanaman lalu di beri pita untuk diamati

parameter pertumbuhan tanaman, kehijauan daun dan jumlah daun, sisa 30 tanaman diambil secara acak 10 tanaman lalu diberi pita untuk diamati parameter jumlah polong per tanaman dan jumlah polong berisi. Sisa 20 tanaman diambil secara acak 10 tanaman untuk diamati parameter bobot kering tanaman. Lalu sisa 10 tanaman di amati parameter serangan hama dan penyakit. Ilustrasi denah pembagian petak pertanaman kedelai disajikan pada gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4. Denah Pembagian Petak Pertanaman Kedelai

3.4.7 Analisis DNA Fungi

3.4.7.1 Ekstraksi DNA Fungi

Ekstraksi DNA isolat fungi dilakukan dengan mengikuti protokol kit Promega dengan beberapa modifikasi. Tahap pertama yaitu isolat fungi sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam microtube 2 mL. Kemudian sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.500 rpm pada suhu 4°C. Supernatan yang terbentuk kemudian dikeluarkan. Dimasukkan 1 mL TAE 10x, sampel di vortex sebentar. Sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.500 rpm pada suhu 4°C. Supernatan yang terbentuk kemudian dikeluarkan secara langsung. PBS 1 mL dimasukkan ke dalam tube kemudian divortex sebentar agar PBS dapat. Dimasukkan 10 µL enzim litik bersama dengan pelordan divortex selama 2-3

menit. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit tanpa dibolak-balik, setelah itu dikeluarkan dan diinkubasi lagi pada suhu 55°C selama 30 menit. Setiap 5 menit sekali dibolak-balik. Setelah selesai diinkubasi pelor dibuang sampel dipindahkan ke microtube baru ukuran 2 mL. Tahap dilanjutkan dengan penghancuran nukleus menggunakan penambahan Nucleic Lysis Solution sebanyak 300µL, kemudian diinversi lalu didiamkan sebentar. Sampel divortex selama 30 detik. Ditambahkan 100 µL Protein Precipitation Solution lalu dihomogenkan dengan vortex selama 30 detik dan didiamkan selama 5 menit. Diinkubasi dalam ice box selama 5 menit. Sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.500 xg pada suhu 4°C. Selanjutnya, supernatan dipindahkan ke dalam tube lancip berisi isopropanol sebanyak 300µL untuk mengendapkan DNA. Sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.500 xg pada suhu 4°C. Supernatan dikeluarkan. DNA dicuci dari sisa isopropanol dengan menambahkan 300µL etanol, kemudian dibolak-balik. Sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.500 xg pada suhu 4°C. Kemudian, etanol dibuang secara horizontal dengan perlahan dan dikeringkan pada kertas tissue. Setelah mengering, sampel ditambahkan 15-25 µL DNA Rehydration Solution dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 15 menit (setiap 5 menit ditapping perlahan).

3.4.7.2 Analisis Hasil Ekstraksi DNA Isolat Fungi

Kemurnian dan konsentrasi DNA diketahui dengan menggunakan *Nanophotometer*. Sampel diteteskan pada kuvet sebanyak 1,5 µl kemudian diletakkan pada tempat pemeriksaan. Kemurnian DNA ditentukan dengan menghitung rasio absorbansi pada A260 dengan A280 (Rasio A260/A280) sebagai ratio absorbansi asam nukleat dengan protein, dan A260/A230 sebagai indikasi keberadaan komponen lain seperti fenol. Sebelum dilakukan pemeriksaan sampel, dilakukan pemeriksaan blanko dengan *DNA rehydration solution* yang diteteskan pada kuvet sebanyak 1 µL terlebih dahulu. Setiap pergantian sampel kuvet dibersihkan dengan *tissue* bersih.

3.4.7.3 Amplifikasi sekuen ITS1 – ITS4 fungi menggunakan instrument PCR

Pertumbuhan fungi dianalisis dengan membandingkan ketebalan hasil amplifikasi sekuen ITS pada elektrolisis hasil PCR. Fungi diamplifikasi dengan PCR menggunakan primer *internal transcribed spacer*. Menurut White *et al.* (1990), *Forward* (5'-3') ITS1 dengan sekuens TCCGTAGGTGAACCTGCGG dan *Reverse* (5'-3') ITS4 dengan sekuens TCCTCCGCTTATTGATATGC. Setiap campuran PCR mengandung 10µL *mastermix GoTaq Green*, 10 pM primer *Forward* (F), 10 pM primer *Reverse* (R), 5 µL ddH₂O, dan 5µL sampel DNA yang dimasukkan pada *microtube* berukuran 0,2 mL. Setelah seluruh pereaksi dimasukkan ke dalam *microtube*, sampel dihomogenkan dengan *tapping* dan *spin*. Program *thermocycling* yang digunakan adalah tahap denaturasi awal (94°C selama 5 menit), tahap denaturasi (94°C selama 1 menit), tahap penempelan primer (54°C selama 1 menit), dan tahap perpanjangan (72°C selama 1 menit). Tahap denaturasi, penempelan primer, dan perpanjangan diulang sebanyak 35 siklus. Tahap selanjutnya yaitu stabilisasi (72°C selama 5 menit) (Dong, *et al.*, 2018) dan pendinginan selama 10 menit pada suhu 4°C (White, *et al.*, 1990).

3.4.7.4 Elektroforesis Hasil PCR

Sampel hasil PCR dielektroforesis dengan alat elektroforesis digital *QiaxCel Advanced* dari Qiagen, Jerman menggunakan *DNA HIGH RESOLUTION KIT*. Prosedur yang digunakan mengikuti panduan manual *QiaxCel Advanced* dari Qiagen, Jerman.

3.5 Analisis Data

Pita DNA fungi rizhosfer tanaman kedelai dibandingkan dengan metode deskriptif. Data perkecambahan yang diperoleh dianalisis menggunakan program statistik Rstudio dan *software online GerminaQuant*. Parameter pertumbuhan tanaman kedelai diuji dengan pengujian homogenitas dengan menggunakan uji Bartlett yang selanjutnya dilakukan analisis ragam. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf

signifikansi 5%. Semua variabel pertumbuhan dikorelasikan dengan konsentrasi DNA fungi menggunakan microsoft excel dengan cara keseluruhan hasil dari 4 varietas kedelai disetiap parameter yang diuji dikorelasikan dengan keseluruhan hasil dari konsentrasi fungi rhizosfer, kemudian dilihat apakah terdapat korelasi atau tidak.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

1. Varietas tanaman kedelai dengan viabilitas tertinggi terdapat pada varietas Devon-1 dan terendah pada varietas Anjasmoro. Varietas tanaman kedelai dengan indeks vigor tertinggi terdapat pada varietas Argomulyo dan terendah pada varietas Devon-1. Varietas tanaman kedelai dengan pertumbuhan tertinggi terdapat pada varietas Dena-1 dan terendah pada varietas Argomulyo.
2. Kemelimpahan fungi rizosfer tertinggi pada fase vegetatif tiap varietas terdapat pada varietas Devon-1 dan terendah pada varietas Anjasmoro. Selanjutnya Kemelimpahan fungi rizosfer pada fase generatif tiap varietas sudah tidak teridentifikasi.
3. Tidak terdapat korelasi antara variabel pengamatan tiap varietas dan fungi rizosfer, kecuali indeks vigor dan tinggi tanaman minggu ke-2 memiliki korelasi positif terhadap fungi rhizosfer.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan pada penelitian ini, penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lanjutan dengan metagenomik untuk mengetahui jenis dan peranan masing-masing bakteri dan fungi tersebut secara spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Lateif, K., Bogusz, D., and Hocher, V. 2012. The role of flavonoids in the establishment of plant roots endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia and Frankia bacteria. *Plant Signal. Behav.* 7, 636–641. doi: 10.4161/psb.20039
- Al Farisy M. I dan Nurul J. 2018. Pengaruh Pra-perlakuan Paraquat Terhadap Kandungan Asam Askorbat Pada Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) var. MKY yang Dicekam Kekeringan. *Jurnal Sains Dan Seni Its* Vol. 7, No. 1 (2018), 2337-3520.
- Ampnir, ML. 2011. *Inventerisasi Jenis Hama Utama dan Ketahanan Biologi Pada Beberapa Varietas Kedelai di percobaan Monokwari*. Fakultas Pertanian dan Teknologi. Universitas Negeri Papua
- Azeem, M., Khan, A. A., and Mujeeb, F. 2013. Fungi in rhizosphere of plants growing on salt affected soils. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 25(1), 63-68.
- Badan Meteorologi dan Geofisika. 1998. *Pemeriksaan Hujan di Indonesia*. Departemen perhubungan. Jakarta.
- Bais, H.P., T.L. Weir, L.G. Perry, S. Gilroy, and J.M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57(1): 233–266. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159. PMID:16669762.
- Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. 2012. *Kacang Hijau. Laporan Tahun 2012 Penelitian Aneka Kacang dan Umbi*, <http://halitkabi.litbang.deptan.go.id>.
- Balai Penelitian Kacang-Kacangan dan Umbi-umbian. 2015. *Panduan Umum Pengelolaan Tanaman Terpadu Kedelai. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan*. Badan Pertanian. Malang.
- Barbas, C.F., D.R. Button, J.K. Scott, and G.J. Silverman. 2001. Quantitation of DNA dan RNA. Adapted from "General Procedure" appendix 3. *Cold Spring Harbor, NY. USA*.

- Baharudin., Ilyas S., Suhartanto M. R., Purwantara P. 2010. Pengaruh Lama Penyimpanan Dan Perlakuan Benih Terhadap Peningkatan Vigor Benih Kakao Hibrida. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian* Vol.13 No. 1
- Beeck M. O. D., Lievens B., Busschaert P., Declerck S., Vangronsveld J., and Colpaert J. V. 2014. Comparison and Validation of Some ITS Primer Pairs Useful for Fungal Metabarcoding Studies. *Plos one*. Volume 9 | Issue 6 | e97629
- Boon, N.2002. Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group-specific 16S rRNA primer for analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 39(2) : 101-112.
- Borror, D.J., DeLong D.M. and Riplehorn C.A. 1976. *An Introduction to The Study of Insects*. Fourth Edition. Holt. Rinehart and Winston. New York.
- Bouffaud, M.L., Poirier M.A., Mulle D, and Moënne-Loccoz Y. 2014. Root microbiome relates to plant host evolution in maize and other Poaceae. *Environ Microbiol* 16:2804-2814.
- Bouwmeester, H.J., Roux C., Lopez-Raez J.A., and Becard G. 2007. Rhizosphere communication of plants, parasitic plants and AM Fungi. *Trend in Plant Science* 12: 224-230
- Buol S.W., F.D. Hole, and R.J. McCracken. 1980. *Soil Genesis and Classification*. The lows State University press.
- Chen M, Yang G, Sheng Y, Li P, Qiu H, Zhou X, Huang L and Chao Z. 2017. *Glomus mosseae* Inoculation Improves the Root System Architecture, Photosynthetic Efficiency and Flavonoids Accumulation of Liquorice under Nutrient Stress. *Front. Plant Sci.* 8:931. doi: 10.3389/fpls.2017.00931
- Chi MH, Park SY, and Lee YH. 2009. A quick and safe method for fungal DNA extraction. *Plant Pathol. J.* 25(1):108111.
- Cohen, L. 1992. Power Primer. *Psychological Bulletin*, 112(1) 155-159
- Darsono D.C. 2010. *Perubahan Morfologi Dan Sitologi Lima Varietas Kedelai (glycine max (L.) merrill) dengan Perlakuan Pemberian Pupuk Posphat*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Dewi, W. W. 2016. Respon dosis pupuk kandang kambing terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman mentimun (*Cucumis sativus* L.) varietas hibrida. *J. Viabel Pertanian*. 10 (2): 11-29.

- Direktorat Jendral Perkebunan. 2010. *Pedoman umum pelaksanaan kegiatan pengembangan pertanian terpadu tanaman kakao-ternak tahun 2010*. Direktorat Jenderal Perkebunan. Jakarta.
- Direktorat jenderal tanaman pangan. 2021. *Laporan Kinerja 2020*. Jakarta
- 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>
- Elizabet., Devi B., Santosa N., dan Herlina N. 2013. Pengaruh Pemberian Berbagai Komposisi Bahan Organik pada Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(3): 92-109
- Erlich, H.A. 1989. Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Immunology* 9: 437-447.
- Fauzi A.R., dan Dewi P.M. 2018. Budidaya Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) Varietas Burangrang pada Lahan Kering. *Jurnal Bioindustri*. 1 (1)
- Ginting, E., Antarlina S. S., dan Widowati S. 2009. Varietas unggul kedelai untuk bahan baku industri pangan. *Jurnal Litbang Pertanian* 28:79-87.
- Giyanto. 2003. Apa Yang Dapat Microsoft Excel Lakukan Untuk Menganalisis Data Kelautan. *Oseana*. 28 (4): 7-16.
- Gumilar S., Ginting J., dan Silitonga S. 2013. Respons Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* L.) Terhadap Pemberian Pupuk Guano. *Jurnal Online Agroekoteknologi* Vol.1, No.4
- Hadi B A., Handayani S., dan Maynazira. 2018. Respon Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) Akibat Konsentrasi Pupuk Hayati Dan Jenis Kompos. *Jurnal Agroristek*. Vol 1 no1.
- Handayani, 2017. Teknik Manipulasi, Rekombinasi dan Uji Kualitatif / Kuantitatif DNA. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Handoyo D. dan Rudiretna A. 2001. General Principles and Implementation of Polymerase Chain Reaction. *Unitas*, Vol. 9, No. 1. 17-29.
- Hapsoh, 2008. *Kompatibilitas MVA dan beberapa Genotipe Kedelai pada berbagai Tingkat Cekaman Kekeringan Tanah Ultisol: Tanggap Morfofisiologi dan hasil [Disertasi]*. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Hairiah, K., Widiyanto, Utami SR., Suprayogo D., Sunaryo, Sitompul SM., Lusiana B., Mulia R., Noordwijk MV., dan Cadisch G. 2000. Pengelolaan

Tanah Masam Secara Biologi; Refleksi Pengalaman dari Lampung U1
SMT Grafika Desa Putera, Jakarta. 187 hlm.

Hockenga, M.A., Maron L.G., and Pineros M.A. 2006. AtAMLT1 which encodes a malate transporter as one of aluminium tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiology* 132:936-948.

Hou Q., Wang W., Yang Y., Hu J., Bian C., Jin L., Li G., and Xiong X. 2020. Rhizosphere microbial diversity and community dynamics during potato cultivation. *European Journal of Soil Biology*, 1 (98): 3.
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103176>

Husen, E., Saraswati, R., dan Hastuti, R.D. 2006. Rizobakteri Pemacu Tumbuh Tanaman dalam Pupuk Organik dan Pupuk Hayati. Bogor (ID): Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian;

Igiehon NO., and Babalola OO. 2017. Biofertilizers and sustainable agriculture: Exploring arbuscularmycorrhizal fungi. *Appl Microbiol Biotechnol.* 101(12): 4871-4881

International Seed Testing Association (ISTA). 2010. *Seed Science and Technology*. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. 125

Irwan, W. A. 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merrill)*. Universitas Padjajaran: Jatinangor

Ismaun., Muzuni., dan Hikmah N. 2021. Deteksi Molekuler Bakteri Escherichiacoli Sebagai Penyebab Penyakit Diare Dengan Menggunakan Teknik PCR. *Jurnal Biologi Makassar*. volume 6 nomor 2: 1 – 9

Jamil, F., Mukhtar, H., Fouillaud, M., and Dufossé, L. 2022. Rhizosphere Signaling: Insights into Plant–Rhizomicrobiome Interactions for Sustainable Agronomy. *Microorganisms*, 10, 899. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050899>

Jannah, H. 2011. Respon tanaman kedelai terhadap asosiasi fungi mikoriza arbuskularr di lahan kering. *J. Ganeç*. Swara 5(2):28-31.

Jumin, H. B. 2005. *Dasar-Dasar Agronomi*. Edisi Revisi. P. T. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Kanchana. 2016. Glycine Max (L.) Merr. (Soybean). *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 5(1): 356- 371.

Kartiana H., Hadiyah I., dan Yulianto Y. 2023. Evaluasi kesesuaian lahan kering untuk tanaman kedelai (*Glycine max (L.)*) di Kecamatan Jamanis Kabupaten Tasikmalaya. *JA-Crops*. 1(1):10-18

- Krisnawati, A. dan Adie, M. M. 2009. Karakter Agronomik dan Kandungan Isoflavon Galur Kedelai F5. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 28 (1): 23-28
- Kurniawan, A., Mawaddah, A., & Harjono, S. 2019. Isolation and characterization of rhizosphere fungi from marginal land in Banyumas, Indonesia. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 300(1), 012006.
- Langga I. F., Restu M., dan Tutik K. 2012. Optimalisasi Suhu Dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi Dna Tanaman Bitti (*Vitex Cofassus Reinw*) Serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik Rpd-Pcr. *J. Sains & Teknologi*. Vol.12 No.3: 265 – 276
- Lee, P.Y., John, C., Chih, Y.H., and Yong, H.K. 2012. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*. . Exp. (62):e3923
- Lestari, D. dan L. Triyanto. 2019. Diseminasi dan adopsi teknologi pertanian lahan kering : tantangan pemenuhan gizi masyarakat di Indonesia bagian timur. *Jurnal Ilmu Sosial dan Pendidikan*. 3(1): 218 - 223.
- Li Yan., He., X., Yuan, H., Lv, G. 2022. Differed Growth Stage Dynamics of Root-Associated Bacterial and Fungal Community Structure Associated with Halophytic Plant *Lycium ruthenicum*. *Microorganisms*. 10, 1644. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081644>
- Machsun Idea Rahmania dan Zulaika Enny. 2017. Profil Protein Bakteri Ureolitik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS* Vol. 6, No. 2 (2017) 2337-3520
- Mahartha Komang Adi., Suprpta D N., dan Wirya G N A S. 2017. Potensi Rizobakteri Diisolasi dari Rizosfer Tanaman Leguminosae Untuk Mengendalikan Jamur *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai. *Jurnal Agric. Sci. and biotechnol*. Vol. 6, no. 1
- Makarim, A. K., Ikhwani, dan Mejaya M. J. 2017. Rasionalisasi pola rotasi tanaman pangan berbasis ketersediaan air. *Jurnal Iptek Tanaman Pangan*. 12(2): 83 - 90.
- Malay, M.D and Paulay G. 2009. Peripatric Speciation Derives Diversification and Distributional Pattern of Reef Hermit Crabs (Decapoda: Diogenidae: Calcinus). *Evolution*. 1-29.
- Mariani dan Andriani W. A. 2021. Pengaruh Perlakuan Matricconditioning Terhadap Viabilitas Dan Vigor Benih Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merrill). *Jurnal Agrotan*. 7 (1): 55-67

- Marliah A., Hidayat T., dan Husna N. 2012. Pengaruh Varietas Dan Jarak Tanam Terhadap Pertumbuhan Kedelai [*Glycine Max (L.) Merrill*]. *Jurnal Agrista* Vol. 16 No. 1
- Martodireso dan Suryanto. 2001. *Pemupukan Organik Hayati*. Kanisius. Yogyakarta.
- Menge JA, 1982. Utilization of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agriculture. *Can. J. Bot.* 61,1015-1024.
- Millah M., Habibah N. A., Surwani E. 2010. Analisis Keanekaragaman Genetik dan Diferensiasi Jati Jawa dan Madura berdasarkan Marka Mikrosatelit untuk Mendukung Fingerprinting Jati. *Biosaintifi ka* Vol. 2 No.2.
- Miranda, J.C.C. 2008. Cerrado, Micorriza Arbuscular Ocorrencia e Manejo. Embrapa planaltina 169 pp
- Moreira, M., Baretta D., dan Tsai M. 2007. Biodiversity and Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Araucaria angustifolia Forest. *Journal Agriculture*. 64 (4):393-399.
- Muyzer G, De Waal HR, and Uiterlinden AG. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ Microbiol* 59: 695 – 700.
- Ningrum, S. M., Tohari dan Respatie D. W. 2020. Pengaruh tingkat naungan dan takaran pupuk kambing etawa terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai (*Glycine max (L.) Merrill*) di lahan pasir pantai. *Jurnal Vegetalika*. 9(2): 373 - 387.
- Ningsih E. P., Prijambada I. D., Rachmawati D., dan Sancayaningsih R. P. 2012. Laju Fotosintesis dan Kandungan Klorofil Kedelai pada Media Tanam Masam dengan Pemberian Garam Aluminium. *AGROTROP*. 2(1): 17-24
- Ningsih T. Y., Wahyono D. J., dan Gumilas N. S. A. 2016. Deteksi Molekuler Gen Litik BRLF1 Epstein-Barr Virus Pada Penderita Karsinoma Nasofaring. *Biosfera*. ISSN:0853-1625
- Nugraha F., Roslim D. I., Ardilla Y. P., dan Herman. 2014. Analysis of Partial Gene Sequence Ferritin2 on Rice Plants (*Oryza sativa L.*) Indragiri Hilir, Riau. *Journal of Biology & Biology Education*
- Ofek, M., Voronov-Goldman M., Hadar Y., dan Minz D. 2014. Host signature effect on plant root-associated microbiomes revealed through analyses of resident vs. active communities. *Environ Microbiol* 16:2157–2167. doi:10.1111/1462-2920.12228.

- Ogunkanmi AL., Oboh B., Onifade B., Ogunjobi AA., Taiwo IA., and Ogundipe OT. 2008 An improved method of extracting genomic DNA from preserved tissues of *Capsicum annum* for PCR amplification. *EurAsia J BioSci* 2:115119.
- Permanasari I, Irfan M, dan Abizar. 2014. Pertumbuhan dan hasil kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan pemberian Rhizobium dan pupuk urea pada media gambut. *Jurnal Agroteknologi* 5 (1): 29-34.
- Prabowo R Y., Rahmadwati., dan Mudjirahardjo. 2018. Klasifikasi Kandungan Nitrogen Berdasarkan Warna Daun Melalui *Colour Clustering* Menggunakan Metode *Fuzzy C Means* dan *Hybrid Pso K-Means*. *Jurnal EECCIS*. Vol 12. No 1.
- Prasetyo B.H., dan Suriadikarta D.A. 2006. Karakteristik, Potensi, Dan Teknologi Pengelolaan Tanah Ultisol Untuk Pengembangan Pertanian Lahan Kering Di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*, 25(2).
- Prayudyaningsih R., Nursyamsi., dan Sari R. 2015. Mikroorganisme tanah bermanfaat pada rhizosfer tanaman umbi di bawah tegakan hutan rakyat Sulawesi Selatan. *Pros SemNas Masy Biodiv Indon*. Volume 1, Nomor 4. Halaman: 954-959
- Prihatiningtyas, W. 2006. Mikroba Endofit Sumber Penghasil Antibiotik yang Potensial. (Online). Diunduh dari <http://www.blogspot.com>, fungsi endofit.
- Porcel R., Barea JM., and Ruiz Lozano Jm. 2003. Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. *New Phytol.* 157(1): 135-43
- Rakhmat, J. 2004. *Metode Penelitian Komunikasi*. Bandung: Rosdakarya.
- Reddy, P. P. 2014. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection*. Springer. India
- R. E. Hoagland and Williams R. D. 1985. The Influence of Secondary Plant Compounds on The Associations of Soil Microorganisms and Plant Roots. In *The Chemistry of Allelopathy. Biochemical Interactions among Plants*. Washington D. C: *American Chemical Society* 301–325.
- Ridha R., Syahril M., dan Juanda B.R. 2017. Viabilitas dan Vigoritas Benih Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Akibat Perendaman dalam Ekstrak Telur Keong Mas. *Agrosamudra*. Vol.4 (1).
- Rohbiyah Siti. 2021. *Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman BAP (6-Benzil Amino Purine) terhadap Viabilitas Benih Jeruk JC (Japansche citroen)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

- Rousk J, Brookes PC and Ba°ath E (2010) Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil. *Soil Biol Biochem* 42: 926–934.
- S. A. Cheema, Khan M. I., Tang X., Zhang C., Shen C., Malik Z., Shen K., Chen X., and Chen Y. 2008. Enhancement of phenanthrene and pyrene degradation in rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 166 1226-1231.
- Sahroni M., Handayani T. T., Yulianti., dan Zulkifli. 2018. Pengaruh Perendaman Dan Letak Posisi Biji Dalam Buah Terhadap Perkecambah dan Pertumbuhan Kecambah Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F, and Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Press. University of Texas South Western Medical Centre, Texas. I.47 hlm.
- Sadjad, S. 1993. *Kuantifikasi Metabolisme Benih*. Gramedia. Jakarta.
- Sauer PM., Muller., and Kang J. 1998. Quantitation DNA. *Qiagen News* 2:23-26
Sudewo
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., and Levesque, C. A. (2012). *Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi*, 109(16), 6241–6246.
- Shari Parmitha., Nurmiaty Y., dan Nurmauli N. 2013. Pengujian Vigor Benih Kedelai Varietas Grobogan Hasil Pemupukan NPK Majemuk pada Umur Simpan Dua Bulan. *Agrotek Tropika*. ISSN 2337-4993. Vol. 1, No. 2: 183 – 188.
- Sharma, A., Sahgal M., dan Johri B.N. 2003 Microbial communication in the rhizosphere: Operation of quorum sensing. *Current Science* 85:1164-1172.
- Sharma P, Joshi N, and Sharma A. 2010. Isolation of genomic DNA from medicinal plants without liquid nitrogen. *Indian J. Exp. Biol.* 48:610614.
- Shearer T.L. and Coffroth M.A. 2008. Barcoding Corals: Limited by Interspecific Divergence, not Intraspecific Variation. *Molecular Ecology Resources*. 8:247-255.
- Siregar B. A., Kasim N.N., dan Farida N. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Biologi Bakteri Endofit, Filosfer dan Rizosfer dari Tanaman Sagu (*Metroxylon sagu*). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. ISBN: 978-602-70648-2-9

- Sofia, D. 2007. *Respon Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merril) pada Tanah Masam*. USU Repository c 2007.
- Sugandi, Y. Qirana B.A., dan Firmansyah M.R.A. 2010. Arti Penting Keanekaragaman Hayati Bagi Kelangsungan Kehidupan Di Bumi. Diunduh dari [http://kagilang.multiply.com/journal/item/6? &show_interstitial=1&u=%2Fjournal%2Fitem](http://kagilang.multiply.com/journal/item/6?&show_interstitial=1&u=%2Fjournal%2Fitem)
- Sugiyama A., Ueda Y., Zushi T., Takase H., and Yazaki K. 2014. Changes in the bacterial community of soybean rhizospheres during growth in the field. *PloSOne* 9(6): e100709. Doi: 10.1372/journal.pone.0100709
- Sugiyama Akifumi. 2019. The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond. *Journal of Advanced Research* 19 (2019) 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.005>
- Suharta. 2010. Characteristics and Problems of Marginal Soils from Acid Sedimentary Rocks in Kalimantan. *Jurnal Litbang Pertanian* 29(4): 139-146
- Sumarsih, S. 2003. Diktat Kuliah: *Mikrobiologi Dasar Pertanian*. UPN veteran. Yogyakarta.
- Suprpto dan Pujiharti Yulia. 2012. Keragaman Serangan Hama dan Penampilan Agronomik pada Varietas Kedelai Burangrang dan Anjasmoro. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* Vol. 12 (2): 81-88
- Sulistiyowati 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
- Susilowati, D., Lestari, P., and Rukmi, N. 2020. Isolation and identification of rhizosphere fungi with potential as biological control agents of plant-parasitic nematodes in marginal land. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 8(3), 2325-2333.
- Susilowati, D. N., Suwanto, A., Sudiana, I. M., dan Mubarik. 2015. *Analisis Komunitas dan Fungsi Bakteri Rhizosfer Tanaman Padi pada Gradien Salinitas Tanah Pesisir*, 151.
- Soil Survey Staff. 1993. *Soil Survey Manual*. Agric. Handbook no 18. SCS-USDA, Washington DC.
- Solihin M. A., dan Fitriatin B. N. 2017. Sebaran Mikroba Tanah pada Berbagai Jenis Penggunaan Lahan Di Kawasan Bandung Utara. *Soilrens*, Volume 15 No. 1.

- Sulistiyowati, 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
- Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P., and Zuberer, D. 2005. *Principles and Application of Soil Microbiology*. Pearson Education Ins. New Jersey.
- Syamsudin, Syafruddin, dan Hasanuddin. 2011. Pengujian model simulasi vigor kekuatan tumbuh benih kedelai *Glycine max* L. (Merril) pada kondisi lahan stres oksigen. *J Floratek* 6: 37-47.
- Tan Y., Cui Y., Li H., Kuang A., Li X., Wei Y., and Ji X. 2016. Rhizospheric soil and root endogenous fungal diversity and composition in response to continuous Panax notoginseng cropping practices. *J Elsevier*. 194 (2017) 10–19
- Thacker, C.E. 2003. Molecular Phylogeny of the Gobioid Fishes (Teleostei: Perciformes: Gobioidi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 26: 354-368.
- Tian, C.Y., Feng G., Li X.L., and Zhang F.S. 2004. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. *Appl. Soil Ecol*. 26:43-48.
- Ulwiyah. 2021. *Identifikasi Keanekaragaman Dan Manfaat Ekologis Fungi Tanah di Hutan Mangrove Pantai Alam Indahkota Tegal*. Universitas Islam Negeri Walisongo. Semarang.
- W. Meng, Jia-Kuan C., and Bo L. 2007. Characterization of bacterial community structure and diversity in rhizosphere soils of three plants in rapidly changing salt marshes using 16S rDNA. *Pedosphere*, Vol.17, No.5 545–556.
- Widiastuti E., dan Latifah E. 2016. Keragaan Pertumbuhan Dan Biomassa Varietas Kedelai (*Glycine max* L.) di Lahan Sawah Dengan Aplikasi Pupuk Organik Cair. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. Vol 21 (2);90-97.
- Widiastutik N., dan Alami N.H. 2014. Isolasi dan Identifikasi Yeast dari Rhizosfer *Rhizophora mucronata* Wonorejo. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* Vol. 3, No.1
- Widyati E. 2013. Memahami Interaksi Tanaman – Mikroba. *Tekno Hutan Tanaman*. 6(1): 13-20
- Widyaningrum I., Nugroho A., dan Heddy Y. B. S. 2018. Pengaruh jarak tanam dan varietas terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai (*Glycine max* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 6(8): 1796 - 1802.

- 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.
- Yamin. 2012. *Ekstraksi Asbuton Dengan Mikroba*. Penerbit Informatika. Bandung
- Yunus Fahrunnisa., Lambui O., dan Suwastika I.N. 2017. Kelimpahan Mikroorganisme Tanah Pada Sistem Perkebunan Kakao (*Theobroma cacao* L.) Semi Intensif Dan Non Intensif. *Journal of Science and Technology*. Vol 6 (3): 194 – 205
- Yusnawan, E., Nugrahaeni, N., and 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>
- Yuwono dan Tribuwono. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Zainuddin, M., Hadi, A., and Fitrizawati, F. 2016. Isolation and identification of fungi in the rhizosphere of crops grown in marginal lands of Aceh, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 17(2), 621-626.
- Zhao L., Shang S., Shi D., Xu H., and Wang J. 2022. Article Composition and Structural Characteristics of Rhizosphere Microorganisms of *Polygonum sibiricum* (Laxm.) Tzvelev in the Yellow River Delta. *Diversity*. 14, 965.
<https://doi.org/10.3390/d14110965>