

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Legum utama yang dikonsumsi di Indonesia menurut Badan Pangan Nasional (BPN, 2022) adalah kedelai, kacang tanah, kacang hijau, dan legum lainnya. Kebutuhan konsumsi rumah tangga kedelai pada tahun 2022 mencapai 2,6 juta kg per kapita per tahun, sedangkan kacang tanah sebesar 84.619 kg per kapita per tahun. Produksi dalam negeri belum mampu memenuhi kebutuhan legum, terutama kedelai yang masih bergantung pada impor.

Siagian *et al.* (2022) menjelaskan bahwa produktivitas tanaman dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti lahan, benih, pupuk, stimulan pertumbuhan, pestisida, herbisida, dan lain sebagainya. Nitrogen (N) merupakan komponen penting untuk pembentukan asam amino yang memengaruhi produktivitas tanaman melalui laju fotosintesis dan biosintesis klorofil (Garcia *et al.*, 2011). Menurut Food and Agriculture Organization (2019) dalam World Fertilizer Trends and Outlook to 2022, kebutuhan pupuk N di seluruh dunia pada tahun 2022 diperkirakan mencapai 111,6 juta ton. Penggunaan pupuk kimia yang berlebihan telah menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, seperti emisi gas rumah kaca (Chai *et al.*, 2019) dan pencemaran ekosistem tanah serta perairan (Bijay-Singh & Craswell, 2021). Selain itu, Bai *et al.* (2020) menyebutkan bahwa penggunaan pupuk kimia dalam jangka panjang dapat menurunkan kesuburan tanah. Oleh karena itu,

diperlukan alternatif yang lebih ramah lingkungan, seperti biofertilizer. Biofertilizer mengandung mikroba tanah, seperti bakteri, alga, dan jamur, yang berperan dalam meningkatkan ketersediaan hara bagi tanaman, memperbaiki kualitas tanah, serta menjaga keseimbangan ekosistem, sehingga dapat mengurangi dampak negatif dan ketergantungan pada pupuk kimia (Du *et al.*, 2022; Lewu *et al.*, 2020). Salah satu mikroba yang berpotensi sebagai biofertilizer adalah rhizobia. Bakteri ini mampu melakukan fiksasi nitrogen melalui simbiosis dengan tanaman legum. Remigi *et al.* (2016) menjelaskan bahwa rhizobia memicu pembentukan bintil akar (nodul), tempat terjadinya proses *Symbiotic Nitrogen Fixation* (SNF), di mana gas N₂ diubah menjadi amonia yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Penelitian Gitonga *et al.* (2021) menunjukkan bahwa rhizobia berperan dalam meningkatkan kesuburan tanah dan hasil panen, sehingga mendukung praktik pertanian berkelanjutan. Selain itu, studi oleh Wei *et al.* (2023) menunjukkan bahwa inokulasi rhizobia yang dikombinasikan dengan pupuk kimia menghasilkan peningkatan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian pupuk kimia secara tunggal. Cheng (2008) menekankan pentingnya mengisolasi strain rhizobia lokal dan menguji potensi simbiosisnya terhadap legum tertentu, karena setiap strain memiliki kemampuan nodulasi yang berbeda, dan tidak semua strain dapat bersimbiosis dengan semua jenis legum.

Legum siratro (*Macroptilium atropurpureum*) Sebagai tanaman legum *promiscuous*, sering digunakan dalam studi isolasi rhizobia karena kemampuannya membentuk bintil dengan berbagai strain rhizobia dengan spektrum luas (Vincent, 1970). Analisis keragaman genetik isolat rhizobia menggunakan metode BOX-PCR telah sering diterapkan dalam studi profil sidik jari DNA bakteri, sehingga dapat digunakan untuk membedakan isolat rhizobia (Efsthadiadou *et al.*, 2021; Dolatabad *et al.*, 2024).

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan diisolasi rhizobia dari nodul kedelai dan kacang tanah, dikarakterisasi isolat secara makroskopis dan mikroskopis, diuji kemampuan nodulasinya pada siratro, serta dianalisis isolat kandidat rhizobia dengan BOX-PCR. Selain itu, penelitian ini juga akan menyelidiki potensi isolat kandidat rhizobia sebagai *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR) *in vitro* melalui uji produksi *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), produksi *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid* (ACC) deaminase, dan kemampuan melarutkan fosfat. Isolat tersebut juga akan dikarakterisasi dengan analisis gen *16S rRNA* untuk mengkonfirmasi identitas rhizobia. Gen *nodA*, *nodC*, *nodD*, *nifH*, dan *rhcN* akan dideteksi untuk mengetahui mekanisme simbiosis rhizobium dengan tanaman serta kemampuannya dalam fiksasi nitrogen. Penelitian ini juga akan mengkaji apakah isolat dapat menodulasi akar, memiliki aktivitas nitrogenase baik dalam kondisi simbiotik maupun free-living, serta meningkatkan pertumbuhan pada beberapa varietas legum (kedelai

Grobogan, kedelai Chiang Mai 60, kacang tanah Gajah, dan kacang tanah Tiger Pattern) berdasarkan kandungan klorofil dan bobot kering tanaman.

1.2. Rumusan Masalah

1. Jenis isolat apa yang diperoleh dari nodul kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dan kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.), apa karakteristik makroskopis koloni dan mikroskopis isolat tersebut, serta isolat mana yang memiliki kemampuan menodulasi tanaman siratro (*Macroptilium atropurpureum*)?
2. Bagaimana kemampuan isolat kandidat rhizobia sebagai PGPR secara *in vitro* serta identitasnya berdasarkan gen *16S rRNA*?
3. Apakah gen *nifH*, *nodA*, *nodC*, *nodD*, dan *rhcN* terdeteksi pada isolat rhizobia?
4. Apakah isolat rhizobia menunjukkan aktivitas nitrogenase dalam kondisi *free-living* dan bagaimana pertumbuhan kedelai Grobogan, kedelai Chiang Mai 60, kacang tanah Gajah, dan kacang tanah Tiger Pattern yang diinokulasi isolat rhizobia pada 30 HSI?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi, mengkarakterisasi makroskopis dan mikroskopis isolat dari nodul tanaman kedelai (*Glycine max*) dan kacang tanah (*Arachis*

hypogaea), serta mengetahui isolat yang dapat menodulasi tanaman siratro (*Macroptilium atropurpureum*).

2. Menguji kemampuan isolat kandidat rhizobia sebagai PGPR secara *in vitro* serta mengetahui identitas isolat berdasarkan gen *16S rRNA*.
3. Mendeteksi gen *nifH*, *nodA*, *nodC*, *nodD*, dan *rhcN* pada isolat rhizobia.
4. Menguji aktivitas nitrogenase isolat rhizobia dalam kondisi *free-living* dan mengetahui pengaruh inokulasi isolat rhizobia terhadap pertumbuhan tanaman kedelai Grobogan, kedelai Chiang Mai 60, kacang tanah Gajah, dan kacang tanah Tiger Pattern pada 30 HSI.

1.4. Manfaat Penelitian

Mendapatkan isolat rhizobia yang mempunyai karakter PGPR, kemampuan menodulasi, serta kemampuan meningkatkan pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max*) dan kacang tanah (*Arachis hypogaea*). Mendapatkan informasi keberadaan gen *nifH*, *nodA*, *nodC*, *nodD* dan *rhcN* rhizobium, sehingga menambah data terkait untuk penelitian lanjutan maupun penelitian orang lain. Mendukung eksplorasi dan pemanfaatan sumber daya genetik lokal sebagai agen biofertilizer terutama untuk tanaman kedelai dan kacang tanah untuk sistem pertanian yang lebih ramah lingkungan dan berkelanjutan di Indonesia.