

## I. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Budidaya Kedelai Edamame

Edamame berasal dari kata *Eda* yang berarti cabang dan *mame* yang berarti kacang, dapat diartikan sebagai buah yang tumbuh di bawah cabang (*Branched bean*) Edamame dapat didefinisikan sebagai kedelai berbiji sangat besar (>30g/100 biji) yang dipanen muda dalam bentuk polong segar, dan dipasarkan dalam bentuk segar (*fresh Edamame*) atau dalam keadaan beku (*frozen Edamame*) (BP3S, 2014). Edamame memiliki keunggulan dari kedelai lokal, yaitu bijinya lebih besar dari kedelai lokal serta rasanya yang lebih manis dan lebih lunak. Sifat agronomis kedelai Edamame yaitu memiliki tinggi  $\pm 48$  cm, umur berbunga  $\pm 26$  hari, berat 100 biji  $\pm 28$  gram, tipe pertumbuhannya determinate, bunga berwarna putih, daun hijau, bulu coklat, warna biji hijau kekuningan, bintil akar dominan berada di akar pokok dan nodul akar berdiameter 1-5 mm (Agung Astuti dkk., 2006).

Budidaya kedelai Edamame diawali dengan persiapan lahan dan penanaman. Tanah dicangkul atau dibuat plot sesuai dengan ukuran. Jarak tanam untuk kedelai Edamame membutuhkan 30 x 20 cm, 25 x 25 cm, atau 20 x 20 cm (BP3S, 2014). Sedangkan kedelai lokal ditanam dengan jarak tanam 12 x 20 cm atau 20 x 20 cm (BP3S, 2018). Teknik penanaman kedelai Edamame sama seperti kedelai lokal pada umumnya, yaitu dalam satu lubang ditanam dua sampai tiga benih. Pemeliharaan tanaman kedelai Edamame secara keseluruhan hampir sama seperti kedelai lokal. Hal yang membedakan yaitu dosis pupuk sintetis yang diberikan. Kedelai lokal memerlukan kebutuhan pupuk urea dengan dosis Urea 50 kg/ha, TSP 75 kg/ha dan KCl 100 kg/ha.. Sedangkan untuk Edamame membutuhkan pupuk Urea 200 kg/ha, 150 ZA/ha, SP-36 200 kg/ ha dan KCl 150 kg/ha (BP3S, 2014).

Edamame bisa dipanen dalam keadaan segar saat polong masih berwarna hijau pada saat berumur 63 - 68 HST sesuai varietasnya, jika terlalu tua kurang disukai konsumen. Panen tidak dilakukan secara serentak tetapi diseleksi dengan interval panen 2 hari sekali. Polong yang dipetik adalah yang bernas

namun warnanya masih belum kuning. Sedangkan panen kedelai lokal dilakukan apabila sebagian besar daun sudah menguning, buah mulai berubah warna dari hijau menjadi kuning kecoklatan dan retak-retak, atau polong sudah kelihatan tua, batang berwarna kuning agak coklat dan gundul (BP3S, 2014)

### **B. Bakteri *Rhizobium* sp.**

*Rhizobium* sp. merupakan bakteri yang mampu bersimbiosis dengan tanaman Leguminosa, yaitu bakteri akan menginfeksi akar tanaman dan membentuk nodul akar di dalamnya. *Rhizobium* sp. hanya dapat memfiksasi Nitrogen bila berada di dalam bintil akar dari mitra legumnya. Peranan *Rhizobium* sp. terhadap pertumbuhan tanaman khususnya berkaitan dengan ketersediaan Nitrogen bagi tanaman inangnya. Sebelum terjadi infeksi atau masuknya sel *Rhizobium* sp. ke dalam akar tanaman, terjadi hubungan molekular antara mikrosimbion (*Rhizobium* sp.) dan makrosimbion (tanaman kacang-kacangan) yang merupakan suatu keharusan untuk saling mengenali calon mitra simbiosis yang kompatibel (Suryantini, 2015).

Proses infeksi *Rhizobium* sp. pada tanaman Leguminosa umumnya terjadi dalam empat tahap pra infeksi, yaitu kolonisasi rhizobia di daerah rizosfer, penempelan di permukaan akar, penyabangan rambut akar dan pembengkokan rambut akar. Terdapat dua cara infeksi *Rhizobium* sp. untuk membentuk bintil pada akar kacang-kacangan yaitu infeksi melalui rambut akar (*root hair entry*) dan melalui celah (*crack entry*). Infeksi melalui rambut akar terjadi pada sebagian besar kacang-kacangan, termasuk kedelai, sedangkan infeksi melalui celah hanya terjadi pada beberapa kacang-kacangan termasuk kacang tanah. Bakteri *Rhizobium* sp. setelah masuk ke dalam akar menempati ruang di antara dinding rambut akar dan sambungan epidermal dengan sel-sel korteks (Suryantini, 2015). Sel-sel korteks yang terinfeksi mengalami pertumbuhan pesat dan membelah secara tak terkendali menyebabkan pembentukan meristem nodul dan perluasan nodul. Bakteri selanjutnya menjadi bakteroid dan berbentuk seperti balon sehingga terbentuklah nodul akar. Bakteroid memerlukan protein untuk pertumbuhannya. Jika tanaman legum tersebut tidak bisa memberikan kebutuhan protein maka bakteroid akan membentuk *leghaemoglobin* untuk mengambil O<sub>2</sub> untuk keperluan sintesis protein dengan bantuan enzim nitrogenase untuk

mereduksi  $N_2$  menjadi  $NH_4^+$ . Nodul akar yang efektif umumnya dapat memenuhi  $\pm 2/3$  dari kebutuhan nitrogen tanaman, bahkan pada tanaman kedelai dapat memenuhi hingga 74 hingga 90 persen kebutuhan nitrogen tanaman (Anton, 2018). Bakteroid nodul secara khas terlibat dalam penambatan  $N_2$  menjadi bentuk persenyawaan yang dapat digunakan oleh tanaman inang yaitu  $NO_3^-$  dan  $NH_3$  (Pelczar & Chan, 1988).

Bakteri *Rhizobium* sp. secara umum berwarna koloni putih susu (*pink* pada medium + *Congo red*), tidak transparan, bentuk koloni *circular*, *convex*, *semitranslucent*, diameter 2 - 4 mm dalam waktu 3 - 5 hari pada Yest-Manitol-garam mineral Agar (YMA). Secara mikroskopis sel bakteri *Rhizobium* sp. berbentuk batang, aerobik, Gram negatif dengan ukuran 0,5 - 0,9 x 1,2 - 3  $\mu m$ , bersifat motil pada media cair, umumnya memiliki satu flagella polar atau subpolar. Untuk pertumbuhan optimum dibutuhkan temperatur 25 - 30°C, pH 6 - 7 (kecuali galur-galur dari tanah masam). *Rhizobium* sp. biasanya memiliki tipe pertumbuhan *slow growing* atau membutuhkan waktu lebih dari 4 jam untuk berkembang. Ramdana dan Retno (2015) menjelaskan bahwa suhu optimal untuk *Rhizobium* sp. berkisar 18°C - 26°C, minimal 3°C dan maksimal 45°C. Sedangkan kisaran pH optimal untuk *Rhizobium* sp. adalah sedikit di bawah netral hingga agak alkali, kendati demikian pada pH 5,0 beberapa strain *Rhizobium* sp. masih dapat bertahan hidup. Bakteri *Rhizobium* sp. bersifat kemoorganotropik, yaitu dapat menggunakan berbagai karbohidrat (Glukosa, Sukrosa dan Amilum) dan garam-garam asam organik sebagai sumber karbonnya. Sedangkan apabila dilakukan uji Katalase maka akan menunjukkan hasil yang positif dengan adanya gelembung saat dilakukan pencampuran  $H_2O_2$  dengan suspensi *Rhizobium* sp. (Roychowdhury *et al.*, 2015)

### C. Isolasi dan Karakterisasi *Rhizobium* sp.

Isolasi merupakan suatu proses pemisahan mikroorganisme agar didapatkan kultur murni (isolat). Isolat-isolat tersebut kemudian ditumbuhkan pada medium terpisah agar dapat tumbuh dengan baik. Dalam melakukan isolasi perlu diketahui beberapa hal antara lain : sifat-sifat spesies mikrobial yang akan diisolasi, tempat hidup atau asal mikrobial tersebut, medium yang cocok untuk pertumbuhannya, cara menanam mikrobial tersebut, cara inkubasi mikrobial

tersebut, cara menguji mikrobia yang diisolasi telah berupa biakan murni dan sesuai dengan yang dimaksud dan cara memelihara agar mikroba yang diisolasi tetap merupakan biakan murni (Novarina dkk., 2016).

Terdapat macam-macam metode yang dapat digunakan untuk mengisolasi mikroba antara lain :

1. *Streak plate method* (metode goresan) : merupakan metode isolasi kualitatif dengan menggosokkan suspensi bahan yang mengandung mikroorganisme diatas permukaan medium padat dengan menggunakan jarum inokulasi. Setelah inkubasi, bekas goresan tersebut akan ditumbuhi koloni bakteri yang terpisah yang kemungkinan berasal dari satu sel mikrobia.
2. *Pour plate method* (metode taburan) : cara ini dilakukan dengan menginokulasikan medium agar yang sedang mencair pada temperatur 50°C dengan suspensi bahan yang mengandung mikroba lalu menuangkannya ke petridis. Setelah inkubasi, bekas goresan tersebut dapat dilihat koloni mikrobia yang tersebar di permukaan agar atau bawahnya yang kemungkinan berasal dari satu sel mikrobia.
3. *Surface plating method* : cara ini dilakukan dengan menuangkan suspensi mikrobia sebanyak 0,1 ml pada media padat petridis lalu diratakan menggunakan *drigalsky* dan diinkubasi. Setelah beberapa hari maka akan muncul koloni mikrobia pada permukaan medium. Mikrobia yang telah tumbuh sebagai koloni tunggal dapat disebut sebagai isolat. Agar dapat dideterminasi dan dapat diketahui secara jelas sifat karakternya maka isolat tersebut harus diperbanyak dan dimurnikan (Novarina dkk., 2016)

Karakterisasi dan Determinasi meliputi kegiatan identifikasi dan klasifikasi. Kriteria-kriteria yang biasanya digunakan untuk klasifikasi bakteri antara lain :

a. Karakteristik morfologi sel

Meliputi karakteristik bentuk sel vegetatif dan karakteristik reproduktif vegetatif (spora).

b. Karakteristik kultur

Meliputi pertumbuhan dalam medium cair (Aerobisitas) dan medium padat (bentuk koloni, elevasi, bentuk tepi dan struktur dalam).

c. Sifat gram

Terdiri dari gram positif dan gram negatif.

d. Karakterisasi fisiologi

Penggunaan senyawa karbon sebagai fermentatif, penghasilan asam dan pengujian biokimia lainnya, seperti : sifat Katalase, fiksasi N pada medium *N-free*, Nitrifikasi, Nitrifikasi, Amonifikasi dll.

#### **D. Uji Kompatibilitas *Rhizobium* sp. pada Benih Kedelai Edamame**

Inokulasi *Rhizobium* sp. merupakan usaha pemberian bakteri *Rhizobium* sp. pada lahan dengan tujuan memperbanyak populasi bakteri *Rhizobium* sp. akar agar pembintilan akar menjadi lebih baik sehingga pertumbuhan tanaman kedelai juga akan meningkat.

Berdasarkan bentuk inokulum maka cara inokulasi digolongkan menjadi 3 macam antara lain :

1. Inokulasi menggunakan tanah rhizosfer

Tanah yang pernah ditanamani leguminosa digunakan sebagai inokulum yang dapat dicampurkan langsung dengan biji yang ditanam atau sejumlah tanah dicampur dengan tanah yang akan ditanami secara merata. Tanah yang digunakan untuk inokulum kurang lebih beratnya sama dengan berat biji yang akan ditanam. Biji sebelumnya dibasahi terlebih dengan menggunakan air. Pada inokulum dengan cara memindahkan tanah diperlukan tanah sebanyak 0,3 – 4 ton/ha

2. Inokulasi secara alami

Cara ini dilakukan dengan menanam suatu jenis Leguminosa di suatu daerah sehingga populasi *Rhizobium* sp. berkembang membentuk nodul akar.

3. Inokulasi dengan kultur

Biakan murni sebagai inokulum dapat berupa kultur cair, agar miring dalam tabung reaksi/botol atau dalam bentuk biakan *Rhizobium* sp. (Legin) dalam

suatu bahan pembawa (*carrier*). Cara pemberian Legin yaitu dengan cara mencampurkan biji yang telah dibasahi dengan dosis 5g/kg benih atau dengan suspensi *Rhizobium* sp.  $10^8$  -  $10^9$  cfu/ml yang diinokulasikan pada bibit kedelai

Re-inokulasi *Rhizobium* sp. merupakan usaha pemberian kembali bakteri *Rhizobium* sp. pada lahan dengan tujuan untuk menguji kompatibilitas antara *Rhizobium* sp. dengan tanaman kedelai Edamame. Bukti keberhasilan re-inokulasi ini adalah munculnya bintil pada akar kedelai Edamame.

### **E. Hipotesis**

1. Diduga dari nodul kedelai Edamame diperoleh isolat murni dengan berbagai karakter.
2. Diduga isolat tersebut kompatibel dengan kedelai Edamame.