

PENAMBATAN NITROGEN SECARA BIOLOGIS: PERSPEKTIF DAN KETERBATASANNYA

N.D. PURWANTARI

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

(Makalah diterima 14 Januari 2008 – Revisi 15 Maret 2008)

ABSTRAK

Permintaan dunia akan pupuk kimia terutama N diperkirakan terus meningkat sampai tahun 2020. Di Indonesia peningkatan permintaan pupuk kimia khususnya pupuk N dari tahun 1999 – 2002 mencapai 37,5% untuk pupuk urea dan 12,4% untuk pupuk amonium sulfat. Pada saat yang bersamaan harga pupuk termasuk pupuk N juga terus meningkat, sehingga tidak terjangkau oleh petani. Masalah lain adalah penggunaan pupuk kimia yang terus menerus akan menyebabkan kerusakan tanah maupun lingkungan. Salah satu alternatif untuk meminimalkan masalah di atas adalah mengoptimalkan pemanfaatan Penambatan Nitrogen secara Biologis (PNB). PNB adalah penambatan N_2 atmosfer oleh asosiasi bakteri tanah rhizobia dan tanaman kacang-kacangan (leguminosa). PNB merupakan penyediaan hara nitrogen yang berkelanjutan (*sustainable*) dan ramah lingkungan sehingga mengurangi kebutuhan pupuk kimia nitrogen yang dibutuhkan tanaman secara ekonomis. Jumlah N_2 yang diikat misalnya oleh *Gliricidia sepium* 170 kg N/ha/12 bulan setara dengan 377 kg urea, *Sesbania sesban* 179 kg N/ha/10 bulan setara dengan 397 kg urea, kedelai berkisar 26 – 57 kg N/2 bulan setara dengan 57 – 126 kg urea. Jumlah yang diikat bervariasi tergantung dari jenis, faktor lingkungan maupun faktor biologis. Beberapa kendala dalam penerapan teknologi ini antara lain berpengaruh sangat lambat pada periode awal tetapi dalam jangka panjang akan menguntungkan terutama dari segi produksi dan menjaga kondisi fisik tanah dan kimia, serta mikroba tanah termasuk kesuburan tanah.

Kata kunci: Leguminosa, rhizobia, pengikatan, N_2 atmosfer, pupuk

ABSTRACT

BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION: PERSPECTIVE AND LIMITATION

The demand of chemical fertilizer, N in particular will be increasing until 2020. In Indonesia, the demand of fertilizer from 1999 – 2002 increased 37.5 and 12.4% for urea and ammonium sulphate, respectively. At the same time, the price of this fertilizer is also increasing and it can not be afforded by the farmer. Other problem in using chemical fertilizer is damaging to the soil and environment. One of the problem solvings for this condition is to maximize biological nitrogen fixation (BNF). BNF is the fixation of N atmosphere by association between soil bacteria rhizobia and leguminous plant. BNF is sustainable and environmentally friendly in providing nitrogen fertilizer. Therefore, it would reduce the requirement of chemical nitrogen fertilizer for the plant. *Gliricidia sepium* fixes 170 kg N/ha/12 months, equivalent with 377 kg urea, *Sesbania sesban* 179 kg N/ha/10 months, equivalent 397 kg with urea, soybean 26 – 57 kg/2 months equivalent with 57 – 126 kg urea. The amount of N_2 -fixed varies, affected by species, environmental and biological factors. There are some limitations in applying this technology. The effect of N contribution is very slow at the beginning but in the long term, it would be beneficial for plant production and at the same time, maintain condition of physical and chemical of soil, soil microbes and therefore soil fertility.

Key words: Legume, rhizobia, fixation, N_2 atmosphere, fertilizer

PENDAHULUAN

Perubahan fundamental telah terjadi di dalam sistem pertanian atau produksi pangan dunia dan penelitiannya. Pada masa yang lalu, prinsip penelitian dan produksi pertanian adalah meningkatkan produksi potensial tanaman pangan dan memaksimalkan produktivitasnya. Namun masa sekarang, peningkatan produksi harus diiringi dengan keberlanjutan sumber daya alam yang mendukungnya. Dalam suatu sistem pertanian akan tetap produktif dan berkelanjutan dalam jangka panjang diperlukan penggantian unsur hara

yang telah digunakan oleh tanaman, atau hilang dari tanah. Dalam kaitannya dengan unsur hara N (nitrogen), maka dapat berasal dari pupuk kimia atau penambatan N_2 atmosfer (Penambatan Nitrogen secara Biologis, PNB). PNB sebagai sumber hara N telah lama digunakan di dalam sistem pertanian di seluruh dunia termasuk Indonesia. Tetapi aplikasi sebagai sumber N telah berkurang seiring dengan meningkatnya pemakaian pupuk kimia N dalam produksi tanaman pangan dan tanaman hasil bumi lainnya seperti kacang-kacangan, palawija dan lain-lain. Pada aplikasinya, pupuk hayati N dari penambatan

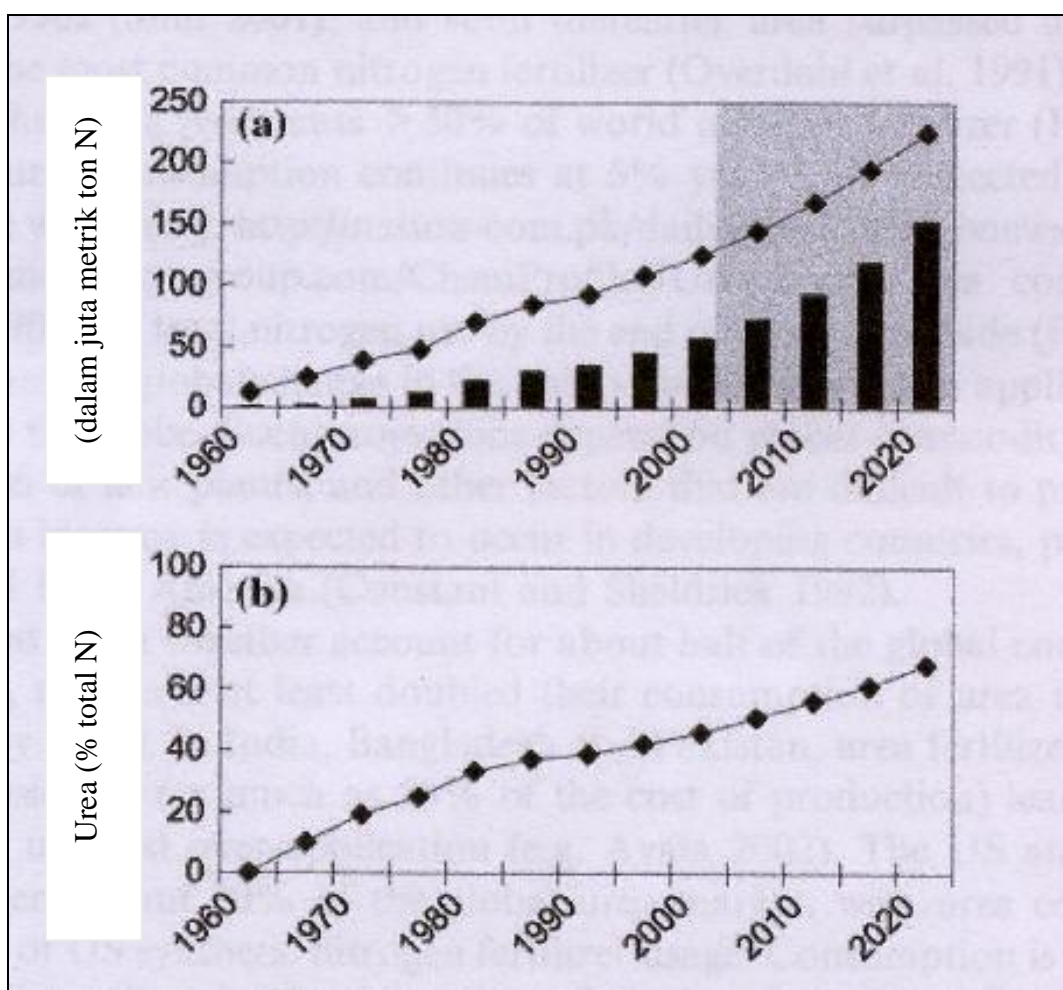
secara biologis lebih sebagai suplemen dari pupuk kimia N, artinya mengurangi dosis pupuk kimia N. Dalam suatu pertanian yang intensif dengan produksi yang maksimal dan biaya produksi yang lebih murah, maka diperlukan kombinasi penggunaan kedua pupuk tersebut. Adanya kecenderungan/tren pertanian organik akhir-akhir ini, maka PNB dapat menjadi salah satu alternatif untuk diterapkan terutama pada tanaman kacang-kacangan. Dalam artikel ini, PNB difokuskan pada yang bersifat simbiotik.

Makalah ini mengulas lebih luas mengenai perspektif dan keterbatasan dalam penerapan teknologi

penambatan nitrogen secara biologis dalam bidang pertanian.

PENGGUNAAN PUPUK N DALAM PERTANIAN

Pemakaian pupuk N menunjukkan kecenderungan meningkat selama kurun waktu 30 tahun terakhir. Di Indonesia permintaan akan pupuk kimia terus meningkat, khususnya pupuk N. Peningkatan permintaan pupuk urea dari tahun 1999 – 2002 mencapai 37,5% untuk pupuk urea dan 12,4% untuk pupuk amonium sulfat (SOEDJAIS, 2003).



Gambar 1. (a) Kebutuhan dunia pupuk nitrogen anorganik (garis) dan konsumsi urea (bar grafik) sejak 1960; (b) Persentase kebutuhan pupuk urea dunia dari total pupuk nitrogen

Sumber: GILBERT *et al.* (2006)

Tanaman leguminosa baik pangan maupun pakan mempunyai kemampuan yang tidak dimiliki oleh tanaman lain, yaitu menambat N_2 atmosfer bila berasosiasi (simbiosis) dengan bakteri tanah, rhizobia. Sehingga tanaman leguminosa dapat menyediakan pupuk N sendiri bahkan dapat memberi kontribusi pada tanaman di sekitarnya atau tanaman kompanionnya. Mikroba lain yang bermanfaat adalah bakteri *Pseudomonas* spp. (non-pathogen), *Bacillus* spp. (MIKANOVA dan KUBAT dalam MIKANOVA dan NOVAKOVA, 2002). Bakteri-bakteri ini lebih berfungsi sebagai pelarut fosfat di tanah, yang biasanya terikat di dalam koloidal tanah sehingga tidak tersedia untuk tanaman.

Dalam budidayanya leguminosa tanaman pakan ternak dapat ditanam secara tunggal maupun terintegrasi dengan tanaman pangan, kehutanan, perkebunan. Integrasi tersebut memberikan keuntungan pada tanaman pokok dan pada waktu bersamaan sebagai sumber hijauan bagi ternaknya.

PENAMBATAN NITROGEN SECARA BIOLOGIS (PNB) DAN PERTANIAN YANG BERKELANJUTAN

Saat sekarang, tantangan dalam penelitian untuk meningkatkan produksi pangan secara global (terutama di daerah tropik dan subtropik) adalah mengembangkan sistem dengan *input* rendah, berkelanjutan dan secara ekonomis dapat menguntungkan. Pertanian campuran dengan leguminosa merupakan salah satu alternatif yang dapat ditawarkan.

Nitrogen adalah unsur hara yang esensial untuk nutrisi tanaman. Nitrogen adalah komponen protein, asam nukleat, klorofil. Oleh karena itu, unsur nitrogen ini sangat penting dalam pertumbuhan tanaman. Namun, unsur hara N ini umumnya defisiensi di dalam tanah, kondisi ini memberi andil menurunnya produksi pertanian di dunia. Kekurangan unsur nitrogen ini dapat disuplai melalui pupuk kimia maupun dari proses penambatan nitrogen secara biologi, yaitu suatu proses penambatan N_2 atmosfer (yang merupakan bentuk tidak tersedia) oleh adanya asosiasi tanaman leguminosa dan bakteri tanah yang dikenal dengan rhizobia. Proses ini makin penting untuk dipertimbangkan karena tidak hanya mengurangi biaya penyediaan energi yang diperlukan dalam pembuatan pupuk kimia tetapi juga merupakan suatu sistem produksi pertanian yang berkelanjutan. Oleh karena itu, mikroba penambat N_2 merupakan komponen yang penting dalam sistem pertanian yang berkelanjutan (*sustainable agricultural systems*). Walaupun pada kenyataannya, terutama di Indonesia implementasinya banyak menghadapi kendala, yang dapat berupa faktor fisik/teknis, sosial kultural pengguna terutama petani.

ALASAN Mencari ALTERNATIF PENGANTI PUPUK KIMIA N DENGAN NITROGEN HASIL PENAMBATAN

Secara lingkungan

Pupuk kimia N mempengaruhi keseimbangan siklus N global, dan kemungkinan mencemari air tanah, meningkatkan N_2O (Nitrit monooksida) yang merupakan salah satu gas rumah kaca (*green house gas*). Seperti diketahui hanya sekitar 40 – 60% pupuk kimia N yang diberikan pada tanaman dapat diserap oleh tanaman tersebut dan sisanya akan berada di alam, dan berpotensi menjadi polutan (MYTTON, 1990). Pencucian (*leaching*) dari nitrat yang tidak terserap akan mencemari sungai maupun air tanah dan emisi gas N_2O yang dihasilkan proses denitrifikasi menyumbang gas rumah kaca tersebut (ROGERS dan WHITMAN, 1991).

Energi

Sumber energi utama dalam suatu industri pupuk adalah gas alam, petroleum dan batu bara. Sumber energi yang dipergunakan tersebut merupakan sumber energi yang tidak dapat “diperbaharui” (*unrenewable source*), sehingga sangat menguras energi yang saat ini sangat mahal. Di lain pihak, energi yang dibutuhkan dalam PNB adalah dari sumber energi yang dapat “diperbaharui” (*renewable sources*), seperti karbohidrat yang disintesis oleh tanaman (inangnya), jadi bukan dari bahan bakar minyak.

Keberkelanjutan (Sustainability)

Keberlanjutan jangka panjang suatu sistem pertanian seharusnya tergantung pada penggunaan dan pengelolaan sumber daya internal. Proses PNB menawarkan pengurangan *input* nitrogen dari sumber eksternal yang ekonomis dan ramah lingkungan serta memperbaiki kualitas dan kuantitas sumber daya internal. Di Indonesia, sampai saat ini pertanian sangat tergantung pada *input* eksternal antara lain pupuk kimia.

Nutrisi

Diperkirakan bahwa 20% sumber protein dunia berasal dari kacang-kacangan (*legumes*). Sebanyak 3000 spesies leguminosa dan hanya 3000 spesies yang diuji ternyata lebih dari 90% membentuk bintil akar, artinya terjadi asosiasi dengan bakteri penambat N_2 (MONTANEZ, 2000). Namun baru sedikit dari leguminosa tersebut dieksploitasi untuk pangan, sehingga masih ada prospek yang sangat besar untuk

dikembangkan. Untuk mengantisipasi ledakan penduduk dan kebutuhan pangan di masa yang akan datang memerlukan eksploitasi PNB pada tanaman leguminosa sebagai sumber utama produksi protein nabati.

BAKTERI PENAMBAT N₂

Mikroba penambatan N₂ ada yang bersifat simbiotik dan non-simbiotik. Mikroba yang menambat N₂ secara simbiotik antara lain adalah bakteri rhizobia, *actinomyces* (Frankia), sedang yang non-simbiotik antara lain *Azotobacter*, *Azospirillum*.

Bakteri tanah yang berperan dalam penambatan nitrogen secara simbiotik adalah bakteri rhizobia. Morfologi bakteri adalah berbentuk batang, aerob, gram negatif, ukuran berkisar 2 – 4 µm (VINCENT, 1970). Berdasarkan kecepatan tumbuh dibagi dalam dua grup (JORDAN, 1984), yaitu *Bradyrhizobium* (tumbuh lambat) dan *Rhizobium* (tumbuh cepat). Setelah Jordan, kemudian rhizobia dikelompokkan dalam genus *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* (LIMPENS dan BISSELING, 2003).

Bakteri penambat nitrogen, rhizobia adalah pupuk hayati pertama di dunia, telah lebih dari satu abad digunakan untuk menginokulasi kacang-kacangan. Dua warga Jerman yaitu Hermann Riegel dan Hermann Wilfarth pertama kali memperlihatkan adanya proses penambatan nitrogen secara simbiosis pada tanaman kacang-kacangan pada tahun 1888 (SCHILLING, 1988 *disitasi* SIMANUNGKALIT, 2001). Bakteri dapat hidup sendiri di dalam tanah, keberadaannya bersifat *arbitrary*. Pengujian keberadaan bakteri rhizobia alam pada tanah-tanah dari lokasi yang merupakan tempat budidaya atau memungkinkan untuk budidaya tanaman pakan ternak (Cikole-Jawa Barat, Gambung-Jawa Barat, Ciawi-Bogor-Jawa Barat, Kaum Pandak-Bogor-Jawa Barat, Subang-Jawa Barat) menunjukkan bahwa tanah Cikole (BPT-HMT) mengandung rhizobia yang dapat membentuk bintil akar dengan berbagai jenis tanaman pakan ternak (TPT), tanah Ciawi, Bogor yang mempunyai pH sekitar 5 mengandung variasi rhizobia lebih sempit dan tanah Kaum Pandak sangat sempit (PURWANTARI *et al.*, 2001). Implikasi dari kondisi ini adalah pada beberapa lokasi/tanah perlu dilakukan inokulasi bakteri rhizobia yang tepat untuk memperoleh asosiasi yang efektif menambat N₂ yang akhirnya akan meningkatkan produksi tanaman. Keberadaan rhizobia alam yang ada di tanah belum tentu merupakan rhizobia yang efektif dalam menambat N₂ atmosfer namun dapat merupakan rhizobia yang berhasil berkompetisi dengan inokulan dalam menginfeksi akar (ERKER dan BRICK, 2006), bila hal ini yang terjadi maka inokulasi dengan inokulan yang efektif belum tentu memberikan respon positif

pada tanaman. Kondisi ini dapat diatasi dengan pemberian inokulan yang efektif tersebut pada dosis/konsentrasi yang tinggi.

Persistensi inokulan rhizobia di dalam tanah sangat penting dalam mempertahankan keunggulannya dalam menambat N₂. Kondisi ini akan mengurangi pengulangan penggunaan pupuk kimia (SANGINGA *et al.*, 1994 *disitasi* oleh OJO dan FAGADE, 2002). PURWANTARI (1994; 2000) melaporkan tiap strain menunjukkan pola pergerakan di dalam rhizosfer yang berbeda. Dengan menggunakan antibiotik mutan strain dapat diketahui pergerakan dan status inokulan di dalam tanah. Studi ekologi bakteri rhizobia perlu dipertimbangkan untuk dilakukan karena akan dapat diketahui apakah inokulasi hanya diperlukan sekali saat tanam atau perlu re-inokulasi pada waktu yang tepat terutama untuk leguminosa pohon. OJO dan FAGADE (2002) melaporkan bahwa adanya persistensi strain *Rhizobium* mutan IRC1045 dan IRC1050 untuk *L. leucocephala* yang dinokulasi dengan strain tersebut 10 tahun sebelumnya.

ASOSIASI TANAMAN LEGUMINOSA-BAKTERI PENAMBAT N₂

Penggunaan mikroba bakteri penambat N₂ dalam budidaya tanaman adalah untuk meningkatkan produksi dengan memanipulasi kemampuan tanaman leguminosa menambat N₂ gas bila berasosiasi dengan bakteri tanah rhizobia yang tepat. N₂ ketersediaannya sangat melimpah di atmosfer, yaitu sekitar 79% dari gas yang menyusun atmosfer (MEISNER dan GROSS, 1980), namun N₂ merupakan bentuk yang tidak tersedia untuk tanaman, untuk itu perlu diubah dalam bentuk lain yang tersedia bagi tanaman (nitrat atau amonium) yang nantinya akan diubah menjadi asam amino yang merupakan penyusun protein dalam proses yang disebut penambatan nitrogen secara biologis oleh asosiasi tanaman dan bakteri tanah rhizobia tersebut. Asosiasi rhizobia dan tanaman leguminosa ini merupakan proses yang sangat kompleks, dipengaruhi oleh faktor lingkungan (LIE, 1974; 1981) maupun faktor biotik (PENA-CABRIALES dan ALEXANDER, 1983; BUSHBY, 1981). Ada beberapa tingkatan hubungan tanaman dan rhizobium adalah *promiscuous* (tanaman yang membentuk bintil akar efektif dengan variasi strain yang sangat luas), atau moderat, atau spesifik, misalnya pada *Calliandra calothyrsus* (LESUEUR *et al.*, 1996; PURWANTARI *et al.*, 1996a); dan sangat spesifik (membentuk bintil akar efektif dengan strain yang berasal dari tanaman sejenis). Sehingga untuk terjaminnya asosiasi yang menambat N₂ yang efektif, tanaman perlu diinokulasi dengan strain rhizobia yang tepat.

NURHAYATI *et al.* (1989) melaporkan beberapa tanaman pakan ternak, *Vigna unguiculata*,

Macroptilium atropurpureum dan *Desmodium heterocarpon* dapat membentuk simbiosis yang efektif dengan rhizobia alam pada tanah masam, maupun netral liat yang digunakan, sedangkan *Centrosema pubescens* lebih spesifik dalam kebutuhannya akan rhizobia. *Arachis glabrata* cv. Florigrade, *Arachis* sp. IRFL 3053 dan *Arachis* sp. IRFL 2773 yang diinokulasi dengan *Rhizobium* CB756 dan dikombinasi dengan penambahan pupuk P dan K telah meningkatkan produksi hijauan dan menghemat pupuk kimia urea sebanyak 150 kg/ha (SURATMINI *et al.*, 1994). PURWANTARI (1995) melaporkan bahwa *Sesbania sesban* sangat spesifik atas kebutuhannya akan *Rhizobium* untuk membentuk interaksi yang efektif dalam menambat nitrogen N₂ atmosfer. Sehingga untuk jenis ini perlu dilakukan inokulasi dengan strain yang diisolasi dari spesies yang sama untuk menjamin terbentuknya bintil akar yang efektif menambat N₂ atmosfer.

STRATEGI MENINGKATKAN PNB DALAM SISTEM PERTANIAN

Beberapa cara yang dapat dilakukan:

- Seleksi strain yang efektif menambat lebih banyak nitrogen (N₂)
- Metode inokulasi
- Manajemen tanaman inang (*breeding* leguminosa)
- Penggunaan metode agronomi yang berbeda untuk memperbaiki kondisi tanah dan mikroba

Hasil lebih baik akan diperoleh dengan kombinasi keempat cara tersebut di atas, keterlibatan berbagai disiplin ilmu dalam suatu program penelitian terpadu perlu didorong.

Seleksi strain yang menambat lebih banyak nitrogen

Seleksi strain dapat dilakukan pada strain alam atau strain yang sudah direkomendasikan maupun strain komersial untuk suatu spesies tanaman. Banyaknya faktor yang mempengaruhi keberhasilan asosiasi tanaman dan bakteri, maka efektivitas asosiasi tersebut sangat bervariasi. Seleksi strain yang efektivitasnya pada variasi tanaman dan lingkungan yang luas merupakan hal yang perlu dilakukan, sehingga lebih mudah dalam aplikasinya.

Beberapa penelitian PNB telah mengarah ke runutan DNA dari bakteri rhizobia (AGUS *et al.*, 2001; SOEDARJO dan BORTHAKUR, 1998), yang tujuannya untuk mendapatkan gambaran tentang susunan DNA bakteri yang nantinya dapat dimanipulasi untuk mendapatkan strain yang efisien menambat N₂. Sehingga diharapkan akan diperoleh penambatan N₂ yang lebih efektif.

Metode inokulasi

Metode pemberian inokulan juga sangat mempengaruhi keberhasilan penambatan nitrogen atmosfer. Beberapa metode yang biasa digunakan antara lain, inokulasi langsung pada biji sebelum ditanam, inokulasi pada tanah saat tanaman telah berumur tertentu. Bentuk inokulan sebagai bahan inokulasi juga sangat mempengaruhi keberhasilan inokulasi. Penelitian dengan *Calliandra calothyrsus*, inokulan dalam bentuk cair yang diinokulasikan di sekitar akar segera setelah biji germinasi lebih berhasil dibandingkan dengan inokulasi pada biji maupun menggunakan inokulan *alginate* (ODEE *et al.*, 2002). Pada spesies lain memberikan hasil yang berbeda, *Acacia* spesies memberikan respon nodulasi fiksasi N₂ yang baik bila biji diinokulasi dengan inokulan *filtermud* (SUTHERLAND *et al.*, 2000) dan *Leucaena leucocephala* membentuk bintil akar lebih baik bila diinokulasi dengan inokulan *alginate* (FORESTIER *et al.*, 2001). Kebanyakan laporan mengenai inokulasi pada leguminosa pohon menggunakan inokulan cair *Yeast Manitol Broth* (LAL dan KHANNA, 1996) yang dalam aplikasi di lapangan tidak praktis. Sehingga diperlukan suatu cara inokulasi yang praktis dan dengan efektivitas optimum. Kombinasi bentuk inokulan dan konsentrasi inokulan mungkin dapat dilakukan untuk tujuan tersebut. ODEE *et al.* (2002) melaporkan bahwa konsentrasi bakteri rhizobia 1 x 10² cell/ml per bibit tanaman cukup baik untuk pertumbuhan dan nodulasi *C. calothyrsus* tetapi respon akan lebih baik bila konsentrasi mencapai 1 x 10⁹ cell/ml media *broth*.

Manajemen tanaman inang

Manajemen dapat dilakukan antara lain dengan seleksi tanaman atau hibridisasi. Jumlah nitrogen yang ditambat oleh leguminosa bervariasi tergantung genotipe tanaman inang, strain *Rhizobium*, kondisi tanah dan iklim. Dari laporan PURWANTARI (2005), *Leucaena KX2* hibrid (*L. leucocephala* x *L. pallida*) mempunyai produksi hijauan 4 – 5 dari *L. leucocephala*. Sehingga potensi penambatan N₂ atmosfer diharapkan lebih tinggi juga bila diinokulasi dengan bakteri yang tepat.

Penggunaan metode agronomi yang berbeda yang memperbaiki kondisi tanah dan mikroba

Faktor-faktor yang mempengaruhi PNB salah satunya faktor lingkungan, termasuk temperatur, kelembaban, keasaman, nutrisi. Oleh karena itu, untuk mendapatkan keuntungan yang maksimal dari PNB, faktor lingkungan perlu dikelola sehingga penambatan N₂ dapat optimal atau maksimal. Penggunaan pupuk

organik akan meningkatkan aktivitas biologi tanah, sistem tanam rotasi dengan berbagai tanaman dengan sistem perakaran yang berbeda maka akan mengurangi pengurusan unsur hara, dan ini akan mendorong keberadaan organisme tanah yang bervariasi, sehingga dapat memperbaiki siklus unsur hara. Perubahan lingkungan global yang sedang terjadi, misalnya peningkatan konsentrasi CO₂ atmosfer yang merupakan salah satu gas rumah kaca ternyata menstimulasi pertumbuhan dan penambatan N₂ oleh leguminosa (TEYSSONNEYRE *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003; HUNGATE *et al.*, 1999). Namun respons penambatan N terhadap bertambahnya konsentrasi CO₂ tergantung dari spesies leguminosa dan suplai N tanah (WEST *et al.*, 2005). Dari hasil tersebut ada kemungkinan bahwa keberadaan leguminosa dapat mengurangi gas rumah kaca, yang berarti berkontribusi dalam menurunkan pemanasan global.

PENGGUNAAN PNB SEBAGAI SUMBER NITROGEN DAPAT MENINGKATKAN KEUNTUNGAN DALAM USAHA PERTANIAN, MUNGKINKAH?

Penambatan nitrogen secara biologis dalam suatu sistem pertanian akan menguntungkan secara finansial maupun lingkungan bila dikelola dengan tepat. Keuntungan finansial antara lain *input* produksinya akan lebih kecil (murah), mengingat kebutuhan pupuk kimia akan berkurang. Di Chile peran penambatan nitrogen secara simbiotik dapat menghemat 33,5% total konsumsi nitrogen dalam bidang pertanian yang setara dengan 178.000.000 US dolar setiap tahunnya (URZUA, 2005). Di Indonesia, data nasional mengenai sumbangan N dari penambatan N₂ secara simbiotik masih sangat kurang, sehingga belum dapat diperkirakan seberapa besar substitusi pupuk anorganik oleh simbiosis ini. Namun dapat diperkirakan dengan menghitung produksi tanaman kacang-kacangan baik pangan maupun pakan dan berapa kapasitas penambatan N₂ atmosfernya. Penggunaan tanaman leguminosa yang diinokulasi dengan strain rhizobia yang tepat akan meningkatkan hara N di dalam tanah. Misalnya penanaman tanaman leguminosa *Macroptilium bracteatum* yang diinokulasi strain CB 1717 sebelum penanaman jagung telah meningkatkan kandungan nitrat di dalam tanah (ESNAWAN, 2006 komunikasi pribadi), yang akan memberikan kontribusi hara N tambahan untuk jagung. Dalam kasus ini diharapkan kebutuhan pupuk kimia N akan lebih sedikit (menurun), yang berarti biaya produksi akan lebih murah dengan asumsi bahwa harga inokulan lebih murah dibandingkan dengan pupuk kimia N dan kemungkinan produksi jagung akan meningkat.

Keuntungan secara ekonomi dari PNB sebagai sumber nitrogen akan tampak lebih jelas bila dapat diperhitungkan antara pemakaian pupuk kimia dan jumlah N₂ yang dapat ditambat, sehingga dapat diperkirakan jumlah pupuk N kimia yang dapat di substitusi oleh proses penambatan N₂ ini. PURWANINGSIH (1998), melaporkan bahwa pemberian inokulan Rhizobium, mikoriza dan gabungannya meningkatkan produksi polong kacang tanah.

Inokulasi *Calliandra calothyrsus* dengan strain yang tepat telah meningkatkan produksi hijauannya, dimana peningkatan hijauan mencapai 65 – 71% bila diinokulasi dengan CB3171rif50 dan 30 – 34% bila diinokulasi dengan CB3090 (PURWANTARI dan SUTEDI, 2005).

METODE KUANTIFIKASI PENAMBATAN N₂ ATMOSFER

Jumlah nitrogen yang ditambat oleh tanaman dapat diperkirakan dengan berbagai metode (PEOPLES *et al.*, 1991; DANSO *et al.*, 1992). Cara yang paling sederhana adalah berdasarkan akumulasi N pada produksi berat kering (bahan kering) tanaman; atau dengan mengukur selisih kandungan N antara tanaman yang diinokulasi dan tanaman kontrol (tidak diinokulasi); *acetylene reduction assay*; menggunakan isotop ¹⁵N; metode ¹⁵N *natural abundance*. Dua metode yang terakhir tersebut dapat mengukur secara akurat dan langsung jumlah N₂ yang ditambat (DANSO *et al.*, 1992). Isotop N, dapat berupa isotop radio aktif nitrogen dan isotop stabil. Penggunaan isotop radioaktif N mempunyai kendala dalam pemakaiannya karena waktu paruh paling panjang hanya 10,05 menit, padahal penelitian biologi/pertanian memerlukan waktu paling sedikit 2 – 3 minggu (SISWORO *et al.*, 2006). Pengukuran penambatan N₂ leguminosa pohon (perdu) lebih kompleks dibandingkan dengan tanaman semusim (*annual*), mengingat tanaman ini adalah berukuran besar dan merupakan tanaman menahun (*perennial*). Dalam praktek kesulitan dengan tanaman pohon antara lain adalah saat panen yang bila tanaman secara keseluruhan diperlukan dan juga memilih tanaman kontrol yang merupakan tanaman yang tidak mempunyai kemampuan menambat N₂ (*non-fixing tree*) yang tepat (DANSO *et al.*, 1992). Salah satu metode pengukuran penambatan N pada leguminosa pohon adalah metode *xylem-ureide* (HERRIDGE dan PEOPLES, 1990). Dalam menggunakan metode ini perlu dilakukan dengan tepat, misalnya ekstraksi cairan *xylem (vacuum extraction)* harus cepat setelah cabang tanaman dipotong, pengambilan sampel harus dilakukan saat tengah hari untuk menghindari efek diurnal, variasi relatif ureid N antar cabang dalam pohon yang sama kecil (HERRIDGE *et al.*, 1996).

Tabel 1. Jumlah N₂ atmosfer yang ditambah oleh beberapa tanaman leguminosa

Spesies tanaman	N ₂ yang ditambah (kg/ha)	Periode pengukuran	Setara dengan pupuk urea (kg)	Pustaka
<i>Gliricidia sepium</i>	170	Umur 12 bulan	377	PEOPLES <i>et al.</i> (1995)
<i>Sesbania sesban</i>	179	Umur 10 bulan	397	PURWANTARI <i>et al.</i> (1998)
<i>Calliandra calothyrsus</i>	2,3 – 75,6	Umur 14 – 44 minggu	5 – 168	PURWANTARI <i>et al.</i> (1996b)
Kedelai	26 – 57	Umur 2 bulan	57 – 126	PEOPLES <i>et al.</i> (1991)
	26 – 33	Satu musim		SISWORO <i>et al.</i> (1990)

BERAPA N₂ ATMOSFER YANG DITAMBAT?

Jumlah nitrogen udara yang dapat ditambah dengan adanya asosiasi leguminosa-rhizobia sangat bervariasi tergantung dari faktor biotik (kompatibilitas bakteri dan tanaman inang, adanya mikroba lain yang ada di dalam tanah) dan lingkungan yang mendukungnya.

Sumbangan nitrogen yang diberikan oleh leguminosa pohon ke lingkungan lebih berkelanjutan (*sustainable*) dibandingkan dengan tanaman pangan karena pada saat panen leguminosa tanaman pangan sebagian besar produksi akan diangkut keluar lingkungan dan leguminosa pohon sebagian masih ada, bahkan sampai beberapa tahun kedepan.

KENDALA PENGGUNAAN PNB DALAM PERTANIAN

Kendala yang dihadapi dalam penggunaan teknologi PNB dapat dikelompokkan dalam dua golongan yaitu kendala teknis dan non-teknis. Aplikasi penggunaan sumber N dari PNB tidak begitu diminati oleh petani, ini mungkin disebabkan oleh kurangnya pemahaman yang kurang tentang PNB oleh petani, apalagi untuk komoditas Tanaman Pakan Ternak yang belum dianggap mempunyai nilai ekonomi ataupun komersial. Di Indonesia untuk tanaman pangan saja, yang merupakan komoditas dengan nilai ekonomi tinggi, petani masih enggan untuk menggunakan inokulan dalam budidaya tanaman. Budidaya kedelai dengan inokulan legin telah diperkenalkan sejak tahun 80-an (JUTONO, 1982), tetapi tidak ada keberlanjutannya dari teknologi yang telah diperkenalkan ke petani. Padahal saat itu inokulan disubsidi oleh pemerintah. Kendala secara teknis, antara lain kondisi tanah yang kadang-kadang menghambat keberhasilan tujuan dari inokulasi itu sendiri. Tanah masam memerlukan bakteri yang toleran terhadap asam, atau tanah dengan salinitas tinggi maka memerlukan bakteri (rhizobia) yang beradaptasi dengan kondisi tersebut. Idealnya suatu strain rhizobium mempunyai spektrum luas sehingga dapat efektif pada kondisi dengan variasi tanah yang luas.

KESIMPULAN

Pengikatan nitrogen secara biologis (PNB) merupakan salah satu aspek yang penting dalam peningkatan produksi pertanian yang *low input*, berkelanjutan dan ramah lingkungan. Di Indonesia, dimana penggunaan pupuk kimia yang berlebihan, telah banyak menyebabkan tanah yang terdegradasi. Di masa yang akan datang teknologi PNB perlu lebih diintensifkan dalam sistem pertanian. Oleh karena itu, disarankan dalam budidaya terutama tanaman leguminosa baik pangan maupun pakan perlu dilakukan inokulasi dengan bakteri rhizobium, untuk menjamin terbentuknya asosiasi yang efektif mengikat N₂ udara.

DAFTAR PUSTAKA

- AGUS, J., S. ARIMURTI, D.N. SUSILOWATI, R. SARASWATI dan D.A. SANTOSA. 2001. Inokulasi plasmid pRtr5a: Tn5 dari *Rhizobium trifolii* LPR 5035 ke dalam *Sinorhizobium fredii*. J. Biotek. Pertanian. 6: 41 – 50.
- BUSHBY, H.V.A. 1981. Changes in the numbers of antibiotics-resistant rhizobia in the soil and rhizosphere of field grown *Vigna mungo* cv. Regur. Soil.
- DANSO, S.K.A., G.D. BOWEN and N. SANGINGA. 1992. Biological nitrogen fixation in trees in agro-ecosystems. Plant and Soil. 141: 177 – 196.
- ERKER, B. and M.A. BRICK. 2006. Legume Seed Inoculants. Colorado State University. Cooperative Extension 5/96. No. 0.305. www.ext.colostate.edu. 3 p.
- FORESTIER, S., G. ALVARADO, S.B. BADJEL and D. LESUEUR. 2001. Effect of *Rhizobium* inoculation methodologies on nodulation and growth of *Leucaena leucocephala*. World J. Biotechnol. Microbiol. 17: 359 – 362.
- GLIBERT, P.M., J. HARRISON, C. HEIL and S. SEITZINGER. 2006. Escalating worldwide use of urea – a global change contributing to coastaleutrophication. Biogeochemistry. 77: 441 – 463.
- HERRIDGE, D.F. and M.B. PEOPLES. 1990. The ureide assay for measuring nitrogen fixation by nodulated soybean calibrated by ¹⁵N methods. Plant Physiol. 93: 495 – 503.

- HERRIDGE, D.F., B. PALMER, D.P. NURHAYATI and M.B. PEOPLES. 1996. Evaluation of the xylem ureide method for measuring N₂ fixation in six tree legume species. *Soil Biol. Biochem.* 28: 281 – 289.
- HUNGATE, B.A., P. DIJKSTRA, D.W. JOHNSON, C.R. HINKLE and B.G. DRAKE. 1999. Elevated CO₂ increases nitrogen fixation and decreases soil nitrogen mineralization in Florida scrub oak. *Global Change Biol.* 5: 781 – 789.
- JORDAN, D.C. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. KREIG, N.R. WILLIAMS and WILKINS (Eds.). Baltimore. 1: 234 – 245.
- JUTONO. 1982. The application of *Rhizobium* inoculant on soybean in Indonesia. *Ilmu Pert. (Agric. Sci.)* 3: 215 – 222.
- LAL, B. and S. KHANNA. 1996. Long term field study shown increased biomass production in tree legumes inoculated with *Rhizobium*. *Plant and Soil*. 184: 111 – 116.
- LEE, T.D., P.B. REICH and M.G. TJOELKER. 2003. Legume presence increases photosynthesis and N concentrations of co-occurring non-fixer but does not modulate their responsiveness to carbon dioxide enrichment. *Oecologia*. 137: 22 – 31.
- LESUEUR, D., J. TASSIN, M.P. ENILORAC, J.M. SARRAILH and R. PELTIER. 1996. Study of the *Calliandra calothyrsus* – *Rhizobium* nitrogen fixation symbiosis. Proc. International Workshop on the Genus *Calliandra*. Winrock International Inst. for Agricultural Development. pp. 62 – 76.
- LIE, T.A. 1974. Environmental effects on nodulation and symbiotic nitrogen fixation. *In: The Biology of Nitrogen Fixation*. QUISPEL, A. (Ed.). North Holland Publishing Company. pp. 557 – 561
- LIE, T.A. 1981. Environmental physiology of the legume-*Rhizobium* symbiosis. *In: Nitrogen Fixation*. Vol. 1 Ecology. BROUGHTON, W.J. (Ed.). Clarendon Press. Oxford. pp. 104 – 134.
- LIMPENS, E. and T. BISSELING. 2003. Signaling in symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 343 – 350.
- MANURUNG, T. 1996. Penggunaan hijauan leguminosa pohon sebagai sumber protein ransum sapi potong. *JITV* 1: 143 – 148.
- MEISNER, C.A. and H.D. GROSS. 1980. Some Guidelines for The Evaluation of The Need for and Response to Inoculation of Tropical Legumes. *Tech. Bull. No. 265*. Nort Carolina Agricultural Research Service 59p.
- MIKANOVA, O. and J. NOVAKOVA. 2002. Evaluation of the P-solubilizing activity of soil microorganisms and its sensitivity to soluble phosphate. *Rostlinna Vyroba*. 48(9): 397 – 400.
- MONTANEZ, A. 2000. Overview and Case Studies on Biological Nitrogen Fixation: Perspectives and Limitation. Prepared for FAO.
- MYTTON, L.R. 1990. Biological nitrogen fixation. *Inst. Grassland Environ. Res.* pp. 42 – 47.
- NURHAYATI, D.P., D.A. IVORY and W.W. STUR. 1989. The effectiveness and competitiveness of some Indonesian *Rhizobium* strains on tropical legumes grown in four soil types of Java. *Plant and Soil*. 117: 146 – 150.
- ODEE, D.W., S.A. INDIEKA and D. LESUEUR. 2002. Evaluation of inoculation procedures for *Calliandra calothyrsus* Meisn. Grown in tree nurseries. *Biol. Fertil. Soils*. 36: 124 – 128.
- OJO, O.A. and O.E. FAGADE. 2002. Persistence of *Rhizobium* inoculants originating from *Leucaena leucocephala* fallowed plots in Southwest Nigeria, African. *J. Biotech.* 1: 23 – 27.
- PENA-CABRIALES, J.J. and M. ALEXANDER. 1983. Growth of *Rhizobium* in soil amended with organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 241.
- PEOPLES, M.B., F.J. BERGERSEN, G.L., TURNER, C. SAMPET, RERKASEM, A. BHROMSIRI, D.P. NURHAYATI, A.W. FAIZAH, M.N. SUDIN, M. NORHATATI and D.F. HERRIDGE. 1991. Use of the natural enrichment of ¹⁵N in plant available soil N for the measurement of symbiotic N₂-fixation. *In: Stable Isotopes in Plant Nutrition, Soil Fertility and Environmental Studies*. IAEA, Vienna. pp. 117 – 129.
- PURWANINGSING, S. 1998. Pengaruh inokulasi biakan *Rhizobium* dan jamur mikoriza vesikular-arbuskular terhadap pertumbuhan dan hasil panen kacang tanah di Wonogiri, Jawa Tengah. *J. Biol. Indon.* 2: 111 – 117.
- PURWANTARI, N.D. 1994. The Biology and Nitrogen Fixation of Some Shrub Legumes. PhD Thesis, University of Queensland. 170 p.
- PURWANTARI, N.D. 1995. Interaksi antara strain rhizobia dan legum semak pakan dalam nodulasi dan fiksasi nitrogen. *Forum Ilmu Peternakan* 1: 9 – 20.
- PURWANTARI, N.D. 2000. Preliminary ecological study of *Rhizobium*: Selection of antibiotic resistant mutants of *Rhizobium* PMA295 nodulating *Sesbania sesban*. *IJAS* 1: 16 – 20.
- PURWANTARI, N.D. 2005. Forage Production of some lesser-known *Leucaena* species grown on acid soil. *IJAS* 6: 46 – 51.
- PURWANTARI, N.D. dan E. SUTEDI. 2005. Respon inokulasi strain mutan rhizobia pada *Calliandra calothyrsus*. *JITV* 10: 182 – 189.
- PURWANTARI, N.D., B.R. PRAWIRADIPUTRA, S. YUHAENI, E. SUTEDI dan SAJIMIN. 2001. Uji Resistensi Native *Rhizobia* dari Beberapa Tanah terhadap Antibiotik. Laporan Penelitian T.A. 2001. Balai Penelitian Ternak, Bogor.
- PURWANTARI, N.D., P.J. DART and R.A. DATE. 1996a. Nodulation and nitrogen fixation by *Calliandra calothyrsus*. Proc. International Workshop on the Genus *Calliandra*. Winrock International Inst. for Agricultural Development. pp. 77 – 82.

- PURWANTARI, N.D., M.B. PEOPLES, P.J. DART and R.A. DATE. 1996b. Nitrogen fixation by *Calliandra calothyrsus* in the field. Proc. International Workshop on the Genus Calliandra. Winrock International Inst. for Agricultural Development. pp. 83 – 88.
- PURWANTARI, N.D., P.J. DART, R.A. DATE and M.B. PEOPLES. 1998. Response of *Sesbania sesban* to the inoculation of rifampicin mutant rhizobial strain of PMA295 grown in the field. Indon. J. Crop. Sci. 13: 1 – 6.
- ROGERS, J.E. and W.B. WHITMAN. 1991. Microbial Production and Consumption of Greenhouse Gases: Methane, Nitrogen Oxides and Halomethanes. Am. Soc. Microbiol. Washington, D.C. 298 p.
- SIMANUNGKALIT, R.D.M. 2001. Aplikasi pupuk hayati dan pupuk kimia: Suatu pendekatan terpadu. Bull. Agro Bio. 4: 56 – 61.
- SISWORO, E.L., K. IDRIS, A. CITRAESMINI dan I. SUGORO. 2006. Teknik Nuklir untuk Penelitian Hubungan Tanah – Tanaman: Perhitungan dan Interpretasi Data. BATAN, Badan Tenaga Atom Nasional. 130 hlm.
- SISWORO, W.H., M.M. MITROSUHARJO, H. RASYID and R.J.K. MYERS. 1990. The relative roles of N fixation, fertilizer, crop residues and soil in supplying N in multiple cropping systems in humid, tropical upland cropping system. Plant and Soil. 121: 73 – 82.
- SOEDARJO, M. and D. BORTHAKUR. 1998. Isolation of mid genes from *Rhizobium sp* strain TAL 1145 responsible for the degradation of mimosine. J. Biotek. Pertanian 3: 33 – 39.
- SOEDJAIS, Z. 2003. Indonesia's fertilizer industry and the strategies for its development. Paper presented at the IFA Regional Conference for Asia and the Pacific, Cheju Island, Republic Korea.
- SURATMINI, P., S. YUHAENI dan N.D. PURWANTARI. 1994. Pengaruh inokulasi rhizobium pada Arachis. Pros. Pertemuan Nasional Pengolahan dan Komunikasi Hasil-hasil Penelitian. Sub-Balai Penelitian Klepu, Puslitbang Peternakan. hlm. 667 – 671.
- SUTHERLAND, J.M., D.W. ODEE, G.M. MULUVI, S.G. MCINROY and A. PATEL. 2000. Single and multi-strain rhizobial inoculation of African acacias in nursery conditions. Soil Biol. Biochem. 32: 323 – 333.
- TEYSSONNEYRE, F., C. PICON-COCHARD, R. FALCIMAGNE and J.F. SOUSSANA. 2002. Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on plant community structure in a temperate grassland. Global Change Biol. 8: 1034 – 1046.
- URZUA, H. 2005. Benefits of Symbiotic Nitrogen Fixation in Chile. Ciencia E Investigacion Agraria (in English). 32: 109 – 124.
- VINCENT, J.M. 1970. A Manual for The Practical Study of The Root – Nodule Bacteria. International Biological Programme Handbook No. 15. Blackweel Scientific Publication, Oxford, England 164 p.
- WEST, J.B., JANNEKE HILLERISLAMBERS, T.D. LEE, S.E. HOBBIIE and P.B. REICH. 2005. Legume species identity and soil N supply determine symbiotic nitrogen-fixation responses to elevated atmospheric (CO₂). New Phytologist 167: 523 – 530.