

PENAMBATAN NITROGEN SECARA BIOLOGIS PADA TANAMAN LEGUMINOSA

ARMIADI

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

(Makalah diterima 30 Desember 2008 – Revisi 25 Maret 2009)

ABSTRAK

Nitrogen merupakan suatu unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, yang berfungsi sebagai penyusun protein dan enzim. Tanaman memerlukan suplai nitrogen pada semua tingkat pertumbuhan, terutama pada awal pertumbuhan, sehingga adanya sumber N yang murah akan sangat membantu mengurangi biaya produksi. Meningkatnya pemakaian pupuk kimia justru akan mengganggu keseimbangan mikroorganisme tanah, menurunnya sifat fisik dan kimia tanah. Hal ini karena tidak semua pupuk N yang diberikan dapat diserap tanaman. Hanya sekitar 50% yang dapat digunakan oleh tanaman, selebihnya akan diubah oleh mikroorganisme dalam tanah menjadi bentuk N yang tidak tersedia bagi tanaman, atau hilang dalam bentuk gas. Tanaman leguminosa baik herba maupun perdu/pohon mempunyai kemampuan mengikat N_2 udara (bentuk N yang tidak tersedia bagi tanaman) dan mengubahnya menjadi bentuk N yang tersedia bila bersimbiose dengan bakteri *Rhizobium*. Jumlah N_2 yang ditambat bervariasi tergantung spesies leguminosa dan lingkungan tempat tumbuhnya.

Kata kunci: Penambatan nitrogen, leguminosa

ABSTRACT

BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION ON LEGUME

Nitrogen (N) is one of the major limiting factors for crop growth and is required in adequate amount, due to its function as protein and enzyme components. In general, plants need sufficient nitrogen supply at all levels of growth, especially at the beginning of growth phase. Therefore, the availability of less expensive N resources would reduce the production cost. The increasing use of chemical fertilizer would probably disturb soil microorganisms, reduce the physical and chemical characteristics of soil because not all of N based fertilizer applied can be absorbed by the plants. Approximately only 50% can be used by crops, while the rest will be altered by microorganism into unavailable N for crops or else disappear in the form of gas. Leguminous crops have the capacity to immobilize N_2 and convert into the available N if inoculated with *Rhizobium*. The amount of N_2 fixed varies depending on legume species and their environment.

Key words: Nitrogen fixation, legume

PENDAHULUAN

Nitrogen merupakan suatu unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, yang berfungsi sebagai penyusun protein dan penyusun enzim. Tanaman memerlukan suplai nitrogen pada semua tingkat pertumbuhan, terutama pada awal pertumbuhan, sehingga adanya sumber N yang murah akan sangat membantu mengurangi biaya produksi.

Jika unsur nitrogen terdapat dalam keadaan kurang, maka pertumbuhan dan produksi tanaman akan terganggu. Masalah ini dapat diatasi antara lain dengan pemupukan. Kebutuhan pupuk untuk komoditas pertanian sebagian besar dipenuhi oleh pupuk kimia (pupuk buatan).

Di Indonesia, permintaan pupuk N meningkat dari tahun ke tahun terutama urea yang bila dibandingkan antara tahun 1999 dengan 2002 meningkat sebesar

37,5% (SOEDJAI, 2003). Disamping itu, terdapat pula peningkatan permintaan terhadap pupuk amonium sulfat sebesar 12,4% dan TSP/SP36 sebesar 6,2%, serta penurunan permintaan pupuk KCl sebesar 19,1% (Tabel 1).

Meningkatnya pemakaian pupuk kimia justru akan mengganggu keseimbangan mikroorganisme tanah, menurunnya sifat fisik dan kimia tanah serta pencemaran lingkungan (ROGERS dan WHITMAN, 1991). HAUCK (1988) memperkirakan sekitar 60 juta ton pupuk nitrogen dewasa ini digunakan untuk peningkatan produksi lahan pertanian, terutama untuk memproduksi biji-bijian. Kebutuhan pupuk nitrogen mencapai 100 juta ton pada tahun 2000. VANCE (2001) mengemukakan bahwa untuk memenuhi kebutuhan pangan dalam tahun 2040 diperlukan sekitar 440 juta ton pupuk nitrogen untuk pertanian.

Tabel 1. Kebutuhan pupuk di Indonesia (ton)

Tahun	Urea	Amonium sulfat	TSP/SP36	KCl
1999	3.140.033	541.580	673.193	530.057
2000	3.959.650	507.005	687.653	359.453
2001	3.934.985	511.170	655.734	426.019
2002	4.318.407	608.605	714.872	428.620

Sumber: SOEDJAIS (2003)

Dalam jangka panjang, pemakaian pupuk buatan secara terus menerus dapat menyebabkan merosotnya produktivitas tanah. Di samping itu tidak semua pupuk yang diberikan dapat diserap oleh tanaman, sebagian besar akan hilang. Kehilangan N di dalam tanah selain terjadi melalui pencucian dan diangkut oleh tanaman, juga terjadi melalui penguapan. Bentuk teroksidasi nitrogen di atmosfer secara ekologi penting karena bila diubah menjadi NO_3^- akan menyumbang HNO_3^- bagi hujan asam. Penggunaan pupuk berimbang merupakan pengelolaan hara secara terpadu, yaitu dengan memadukan faktor-faktor hara tanah dengan penggunaan pupuk anorganik dan organik serta memanfaatkan pupuk hayati. Di Indonesia, penggunaan pupuk hayati belum memasyarakat di kalangan petani/peternak, meskipun penggunaan pupuk tersebut memberikan hasil yang positif untuk meningkatkan produktivitas. Baru sebagian kecil masyarakat petani yang telah memanfaatkan pupuk hayati. Situasi perekonomian yang terpuruk telah menimbulkan ketidakberdayaan petani dalam membeli pupuk kimia sehingga mengancam aktivitas pertanian.

Dengan hasil-hasil kajian percobaan dan aplikasi di lapangan yang positif, maka ketidakberdayaan petani dapat dibantu dengan pemakaian pupuk hasil fiksasi mikroba ini pada dasarnya bersifat ramah lingkungan. Proses fiksasi N oleh leguminosa tidak mempengaruhi kualitas air tanah. Hal ini karena ammonium (NH_4^+) yang dihasilkan oleh hasil fiksasi, secara langsung digunakan untuk pertumbuhan tanaman (KILLPACK dan BUCHHOLZ, 1993). Pada proses penambatan N, tanaman leguminosa menyediakan lingkungan dan karbohidrat untuk metabolisme bakteri, sedangkan bakteri mengubah N_2 udara menjadi N tersedia bagi tanaman. Tanaman leguminosa mampu tumbuh baik pada tanah yang miskin N karena adanya simbiosis dengan *rhizobium*, sehingga mampu meningkatkan kualitas dan kuantitas tanaman leguminosa, serta mampu meningkatkan dan menjaga kesuburan tanah (GARDNER *et al.*, 1991). Disamping itu, dapat mengurangi pemakaian pupuk kimia bahkan dalam beberapa kasus dapat mengeliminasi.

Tulisan ini bertujuan untuk melihat penambatan nitrogen secara biologis dalam menyumbang ketersediaan pupuk nitrogen.

PENAMBATAN NITROGEN SECARA BIOLOGIS

Penambatan nitrogen oleh adanya simbiose antara tanaman leguminosa dan bakteri tanah *Rhizobia*, telah berlangsung lama, dan sangat penting dalam fungsi ekosistem (SIMMS dan TAYLOR, 2002). Sejumlah besar kebutuhan nitrogen disumbang oleh simbiose ini yang mampu mereduksi dinitrogen menjadi bentuk organik (POSTGATE, 1998 dalam SIMMS dan TAYLOR, 2002).

Sejumlah besar nitrogen gas terdapat di atmosfer yaitu sekitar 78% (HAKIM *et al.* 1986; SALISBURY dan ROSS, 1995), tetapi secara aktif sulit bagi organisme hidup untuk mendapatkan atom nitrogen dari dinitrogen (N_2) dalam bentuk yang berguna (SALISBURY dan ROSS, 1995). Walaupun N_2 masuk ke dalam sel tumbuhan bersama-sama CO_2 lewat stomata, enzim yang ada hanya dapat mereduksi CO_2 sehingga N_2 keluar lagi secepat ia masuk.

Tanaman leguminosa baik herba maupun perdu/pohon mempunyai kemampuan mengikat N_2 udara (bentuk N yang tidak tersedia bagi tanaman) dan mengubahnya menjadi bentuk N yang tersedia bila bersimbiose dengan bakteri *Rhizobium*. Hubungan antara bakteri dengan tanaman leguminosa pada umumnya bersifat mutualistik, tetapi strain *rhizobia* mempunyai efektivitas yang berbeda (BURDON *et al.*, 1999 dalam SIMMS dan TAYLOR, 2002). Simbiose ini merupakan proses yang kompleks yang dipengaruhi oleh faktor biotik maupun faktor lingkungan. Usaha memanipulasi faktor-faktor yang terlibat secara optimal akan dihasilkan fiksasi N yang optimal pula. Interaksi tanaman inang dan bakteri *Rhizobium* bervariasi, dari yang moderat sampai yang spesifik, sehingga perlu diidentifikasi kombinasi antara spesies dan *rhizobia* yang superior mengikat N_2 .

Akibat dari penggunaan varietas unggul disertai dengan makin intensifnya pengelolaan tanaman dan perluasan areal tanaman, konsumsi pupuk meningkat dari tahun ke tahun. Sementara bakteri simbiotik seperti *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* yang berinteraksi spesifik dengan kelompok tanaman tertentu dengan membentuk nodul mampu memfiksasi nitrogen udara dan disumbangkan langsung kepada tanaman dalam simbiosis mutualistik. Begitu besar

potensi nitrogen di alam, walau tidak dapat diambil langsung oleh tanaman, namun banyak jenis mikroba yang dapat memfiksasinya bila bersimbiose dengan tanaman leguminosa yang cocok. HAUCK (1988) memperkirakan bahwa sekitar 90 juta ton nitrogen diperoleh sebagai hasil penambatan secara proses biologis, dimana sekitar 50 juta ton ditambat oleh leguminosa tanaman pakan ternak. Menurut ARSHAD dan FRANKENBERGER (1993) fiksasi N_2 secara biologis menyumbang sekitar 70% dari semua nitrogen yang difiksasi di bumi dan sekitar 90% kebutuhan nitrogen tanaman dapat dihasilkan oleh gabungan ini. SMILL (1999) mengemukakan bahwa sekitar 440 hingga 660 juta ton N_2 ditambat oleh tanaman leguminosa setiap tahun.

PENGARUH NITROGEN TERHADAP TANAMAN

Unsur hara N merupakan bahan penting penyusun asam amino, amida, nukleotida dan nukleoprotein, serta esensial untuk pembelahan sel, pembesaran sel dan karenanya untuk pertumbuhan (GARDNER *et al.* 1991), dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak di dalam bagian muda tanaman, terutama terakumulasi pada daun dan biji, yang berfungsi sebagai penyusun protein, termasuk enzim dan molekul khlorofil (HAKIM *et al.*, 1986). Nitrogen merupakan penyusun setiap sel hidup, karenanya terdapat pada seluruh bagian tanaman. Tanaman memerlukan suplai nitrogen pada semua tingkat pertumbuhan, terutama pada awal pertumbuhan, sehingga adanya sumber N yang murah akan sangat membantu mengurangi biaya produksi. Sebagai contoh untuk menghasilkan 1 kg biji kedelai, tanaman menyerap 70 – 80 g N dari dalam tanah (PASARIBU *et al.*, 1989). Defisiensi N mengganggu proses pertumbuhan, menyebabkan tanaman kerdil dan menguning. GRANT dan FLATEN (1998) dalam GRANT *et al.* (2002) mengemukakan bahwa unsur hara N diperlukan untuk menjamin kualitas tanaman yang optimum yang ditunjukkan oleh kandungan protein dari tanaman yang berhubungan langsung dengan suplai N. Nitrogen diberikan kepada tanah dalam bentuk-bentuk amida, amonium, maupun nitrat. Tidak semua pupuk yang diberikan dapat diserap oleh tanaman. Kehilangan N di dalam tanah selain terjadi melalui pencucian dan diangkut oleh tanaman, juga terjadi melalui penguapan seperti N_2 , nitrous oksida (N_2O) dan NH_3 . Gas ini terbentuk karena reaksi-reaksi dalam tanah dan kegiatan mikroba. Mekanisme kehilangan N dalam bentuk gas melalui denitrifikasi, reaksi kimia karena temperatur dalam suasana aerobik dan lainnya, serta penguapan gas NH_3 dari pemupukan pada tanah alkalis (MARYAM *et al.*, 1998). Unsur hara N biasanya defisien, yang mengakibatkan penurunan produksi pertanian di seluruh dunia. HAKIM *et al.* (1986)

mengemukakan bahwa nitrogen yang terdapat dalam tanah sedikit, sedangkan yang diangkut tanaman berupa panen setiap tahun cukup besar. Disamping itu, senyawa nitrogen anorganik mudah larut dan mudah hilang dalam air drainase/irigasi atau menguap ke atmosfer. Jika unsur N terdapat dalam keadaan kurang, maka pertumbuhan dan produksi tanaman akan terganggu. Masalah ini dapat diatasi antara lain dengan pemupukan.

Kebutuhan nitrogen untuk komoditas pertanian pada umumnya dipenuhi dengan dua cara yaitu (1) pupuk kimia/buatan, kotoran ternak dan/atau mineralisasi dari bahan organik, dan (2) melalui penambatan N atmosfer melalui proses simbiosis (VANCE, 2001). Tumbuhan kehilangan sedikit nitrogen ke dalam atmosfer dalam bentuk NH_3 , N_2O , NO_2 dan NO yang mudah menguap (SALYSBURY dan ROSS, 1995). Selanjutnya CAMPBELL *et al.* (1995) dalam GRANT *et al.* (2002) mengemukakan bahwa pencucian NO_3 akan menurunkan kualitas air tanah dan emisi N_2O berkontribusi terhadap efek rumah kaca dan menyebabkan terjadinya pemanasan global. Residu pupuk N yang cukup besar tertinggal dalam tanah sebagai akibat tidak efisiennya tanaman menggunakan pupuk N berimplikasi negatif terhadap lingkungan dan kesehatan (GALLOWAY *et al.*, 1995 dalam VANCE, 2001). Nitrifikasi oleh mikrobia dan denitrifikasi N tanah merupakan kontributor utama emisi NO_2 dan N_2O (SOCOLOW, 1999). Pupuk N yang tidak dimanfaatkan oleh tanaman secara cepat akan memasuki permukaan tanah dan air tanah melalui *run off* dan *leaching* (SMILL, 1999).

Sebagian besar nitrogen yang terdapat di dalam organisme hidup berasal dari penambatan (reduksi) oleh mikroorganisme prokariot, sebagian di antaranya terdapat di akar tumbuhan tertentu, atau dari pupuk kimia secara industri. Sebagian kecil nitrogen juga masuk ke tanah dari atmosfer dalam bentuk ion amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-) bersama hujan dan kemudian diserap akar (SALISBURY dan ROSS, 1995).

Penyerapan NO_3^- dan NH_4^+ oleh tumbuhan memungkinkan tumbuhan untuk membentuk berbagai senyawa nitrogen, terutama protein. Pupuk dan tumbuhan yang mati, mikroorganisme, serta hewan, merupakan sumber penting nitrogen yang dikembalikan ke tanah, tetapi sebagian besar nitrogen tersebut tidak larut dan tidak segera tersedia bagi tumbuhan. Hampir semua tanah mengandung sedikit asam amino, yang dihasilkan terutama dari perombakan bahan organik oleh mikroba, tapi juga pengeluaran dari akar. Walaupun asam amino tersebut dapat diserap dan dimetabolismekan oleh tumbuhan, senyawa ini dan senyawa nitrogen kompleks lainnya hanya menyumbang sedikit bagi hara nitrogen tumbuhan secara langsung. Namun demikian, mereka merupakan cadangan nitrogen yang sangat penting,

yang akan menghasilkan NH_4^+ dan NO_3^- . Nyatanya, 90% nitrogen total di tanah terdapat dalam bentuk bahan organik, walaupun dalam beberapa kasus sejumlah besar nitrogen terdapat dalam bentuk NH_4^+ yang terikat pada koloid liat (SALISBURY dan ROSS, 1995).

BAKTERI RHIZOBIUM

Rhizobium termasuk divisi Protophyta, kelas Schizomycetes, order Eubacteriales, famili Rhizobiaceae dan genus *Rhizobium*. JORDAN (1982) mengklasifikasikan genus *Rhizobium* menjadi dua grup yaitu *Rhizobium* dengan ciri tumbuh cepat dan bereaksi asam pada medium agar dan *Bradyrhizobium* dengan ciri tumbuh lambat dan bereaksi alkalin pada media agar. Morfologi koloni *Rhizobium* pada media agar berdiameter 2 – 4 μm (VINCENT, 1982; SETIADI, 1989), sedangkan *Bradyrhizobium* adalah genus bakteri dengan diameter 1 μm dan mempunyai kecepatan pertumbuhan lebih lambat pada agar mannitol ekstrak khamir dibandingkan dengan *Rhizobium* (SETIADI, 1989). *Rhizobium* mempunyai kecepatan tumbuh 3 – 5 hari, sedangkan *Bradyrhizobium* 5 – 7 hari.

Bakteri *Rhizobium* spp. merupakan salah satu jenis jasad mikro yang hidup bersimbiosis dengan tanaman leguminosa dan berfungsi menambat nitrogen secara hayati mulai diperkenalkan pada tahun 1888 oleh Hellriegel dan Wilfarth (HIRSCH *et al.*, 2001). Setiap jenis leguminosa menghendaki strain *Rhizobium* tertentu untuk keserasian simbiosisnya (HIRSCH *et al.*, 2001). Sebagai contoh *Sinorhizobium meliloti* efektif untuk spesies *Medicago*, *Melilotus* dan *Trigonella*; sedangkan *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* sesuai untuk tanaman *Pisum*, *Vicia*, *Lens* dan *Lathyrus* spp. Untuk itu inokulasi perlu dilaksanakan agar tercapai penambatan nitrogen yang efektif (YUTONO, 1985).

LIMPENS dan BISSELING (2003) mengemukakan bahwa penambatan nitrogen adalah merupakan bentuk simbiosis antara tanaman leguminosa (*Fabaceae*) dengan bakteri gram-negatif yang termasuk ke dalam genera *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* dan *Sinorhizobium* yang secara kolektif disebut *rhizobia*. Interaksi ini akan membentuk organ baru yang disebut dengan bintil akar, dimana *rhizobia* bersatu secara intraseluler ke dalam induk semang dan menambat nitrogen dari atmosfer untuk digunakan oleh tanaman inang.

SPESIFISITAS SIMBIOSE TANAMAN LEGUMINOSA DAN BAKTERI RHIZOBIUM

Tanaman leguminosa baik herba maupun perdu/pohon mempunyai kemampuan mengikat N udara (bentuk N yang tidak tersedia bagi tanaman) dan

mengubahnya menjadi bentuk N yang tersedia bila bersimbiose dengan bakteri *Rhizobium*. Usaha memanipulasi faktor-faktor yang terlibat secara optimal akan dihasilkan fiksasi N yang optimal pula. Terdapat spesifisitas tanaman leguminosa herba terhadap kebutuhan inokulan. SCHULTZE dan KONDOROSI (1998) mengemukakan bahwa interaksi antara *rhizobia* dengan tanaman sangat tergantung pada inang yang didasarkan pada pertukaran signal unsur kimia antara partner yang bersimbiosis. Interaksi tanaman inang dan bakteri *Rhizobium* bervariasi, dari yang moderat sampai yang spesifik, sehingga perlu diidentifikasi kombinasi antara spesies dan *rhizobia* yang superior mengikat N_2 . PURWANTARI (1995) melaporkan bahwa *Sesbania grandiflora* termasuk dalam kategori spesifik dalam kebutuhannya akan *Rhizobium*. Berbeda halnya dengan *Paraserianthes falcataria* kurang spesifik. Pada tanaman Siratro (*Macropitilium atropurpureum* (DC) Urb. cv Siratro), bintil akar yang efektif dapat terbentuk dari berbagai strain *rhizobium* atau *bradyrhizobium* (APPELBAUM, 1990 dalam KHAN *et al.*, 1999). Menurut BROUGHTON (2003) *Azorhizobium caulinodans* efektif membentuk bintil akar pada tanaman *Sesbania rostrata*, *Synorhizobium meliloti* pada tanaman *Medicago*, *Melilotus* dan *Trigonella*, sedangkan *Rhizobium* sp. NGR234 efektif membentuk bintil akar pada lebih dari 112 genera leguminosa, termasuk tanaman non-leguminosa yaitu *Parasponia andersonii*.

Pembentukan bintil akar terjadi antara 7 – 14 hari setelah perkecambahan dengan membentuk akar rambut pada akar primer dan sekunder (GARDNER *et al.*, 1991; SALISBURY dan ROSS, 1995). Akar mengeluarkan senyawa triptofan yang menyebabkan bakteri berkembang pada ujung akar rambut. Triptofan diubah oleh *rhizobium* menjadi IAA (*Indole Acetic Acid*) yang menyebabkan akar membengkok karena adanya interaksi antara akar dengan *rhizobium*. Kemudian bakteri merombak dinding sel akar tanaman sehingga terjadi kontak antara keduanya. Benang infeksi terbentuk, yang merupakan perkembangan dari membran plasma yang memanjang dari sel terinfeksi. Setelah itu *rhizobium* berkembang di dalam benang infeksi yang menjalar menembus sel-sel korteks sampai parenkim. Di dalam sel korteks, *rhizobium* dilepas di dalam sitoplasma untuk membentuk bakteroid dan menghasilkan stimulan yang merangsang sel korteks untuk membelah. Pembelahan tersebut menyebabkan proliferasi jaringan, membentuk struktur bintil akar yang menonjol sampai keluar akar tanaman, yang mengandung bakteri *rhizobium*.

Semua *rhizobia* adalah bakteri aerobik yang bertahan secara saprofit di dalam tanah sampai mereka menginfeksi bulu akar (SALISBURY dan ROSS, 1995). Pembentukan bintil akar yang efektif bersimbiose melibatkan signal antara tanaman (*macrosymbiont*) dan bakteri (*microsymbiont*). Flavonoids dan/atau

isoflavonoid dilepaskan dari akar tanaman leguminosa membuat transkrip dari gene rhizobia bintil akar yang sesuai, kemudian membentuk molekul *lipochitoooligosaccharide*, yang memberi tanda pada tanaman leguminosa untuk mulai membentuk bintil akar (LONG, 1996).

Bakteri *Rhizobium* yang masuk ke dalam sel akar melalui epidermis akar dan membentuk formasi bintil akar melalui pengaturan ulang perkembangan sel luar akar (LIMPENS dan BISSELING, 2003). Keberhasilan interaksi ini memerlukan koordinasi dari kedua proses tersebut. Secara umum, proses infeksi dimulai dengan pengeritingan rambut akar, yang diduga disebabkan oleh reorientasi gradual dan konstan ke arah pertumbuhan bulu akar (EMONS dan MULDER, 2000 dalam LIMPENS dan BISSELING, 2003). Bakteri tertangkap dalam gulungan bulu akar, kemudian dinding sel tanaman di tempat tertentu terdegradasi, sel membran membentuk liang dan material baru disimpan oleh tanaman dan bakteri.

Enzim dari bakteri merombak bagian dinding sel sehingga bakteri dapat masuk ke dalam sel bulu akar. Kemudian, bulu akar membentuk struktur lir-benang yang disebut benang infeksi, yang terdiri dari membran plasma lurus dan memanjang dari sel yang terserang, bersamaan dengan pembentukan selulosa baru di sebelah dalam membran ini. Tiap bakteri yang membesar dan tak bergerak disebut bakteroid. Sel bintil akar lazimnya mengandung beberapa ribu bakteroid. Gambar 1 menunjukkan proses perkembangan bintil akar tanaman kedelai, (a) dan (b) bakteri *Rhizobium* berhubungan dengan bulu akar yang peka, terbelah didekatnya dan infeksi bulu akar yang berhasil akan menyebabkannya mengeriting dan (c) benang infeksi

membawa bakteri yang terbelah, sebagai bakteroid. Bakteroid menyebabkan sel korteks dalam dan sel perisiklus membelah. Pembelahan dan pertumbuhan sel korteks dan perisiklus menjadi bintil akar dewasa (SALISBURY dan ROSS, 1995).

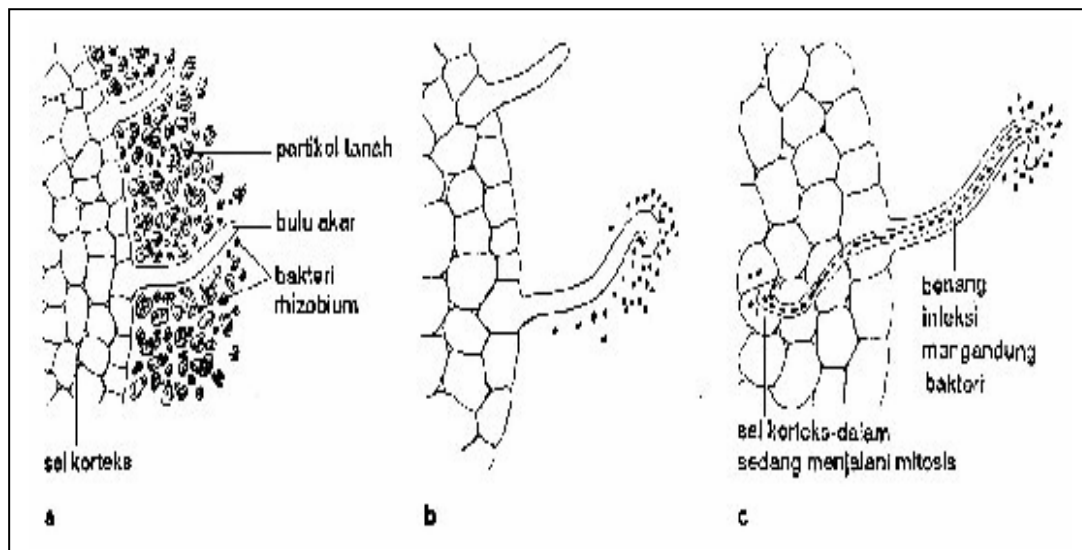
Bakteroid biasanya berada di sitoplasma dalam kelompok, masing-masing dikelilingi oleh membran yang disebut membran peribakteroid. Antara membran peribakteroid dan kelompok bakteroid terdapat daerah yang disebut ruang peribakteroid. Di luar ruang peribakteroid, di sitoplasma tumbuhan, terdapat protein yang dinamakan leghemoglobin (APPLEBY, 1984 dalam SALISBURY dan ROSS, 1995).

JUMLAH N_2 YANG DITAMBAT

Jumlah N_2 yang difiksasi oleh asosiasi leguminosa sangat bervariasi, tergantung pada jenis leguminosa, kultivar, spesies dan galur (strain) bakterinya (GARDNER *et al.* (1991).

Kemampuan penambatan N secara biologis untuk mengkonversi N_2 menjadi N organik adalah sangat substansial, sering mencapai $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ tahun}^{-1}$ yang lebih dari cukup untuk mempertahankan kebutuhan N dan mengganti N yang hilang (VITOUSEK *et al.*, 2002). Kemampuan tanaman leguminosa untuk menambat nitrogen sangat bervariasi. Pada kondisi lingkungan yang ideal dengan bintil akar yang baik tanaman kedelai dapat memperoleh sumbangan N hasil penambatan N_2 oleh bakteri *Rhizobium* setara dengan $65 - 115 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ tahun}^{-1}$ (ALEXANDER, 1977).

PEOPLES *et al.* (1995) mengemukakan bahwa kondisi percobaan jumlah nitrogen yang ditambat berkisar antara $1 - 380 \text{ kg N ha}^{-1}$ (Tabel 2).



Gambar 1. Perkembangan bintil akar tanaman kedelai

Sumber: SALISBURY dan ROSS (1995)

Tabel 2. Perkiraan jumlah N₂ yang ditambah oleh tanaman leguminosa

Spesies	Jumlah N ₂ yang ditambah (kg N ha ⁻¹)	Umur tanaman waktu pengukuran
<i>Arachis pintoii</i>	1 – 7	84 hari
<i>Calopogonium</i> spp.	64 – 182	setahun
<i>Centrosema</i> spp.	41 – 43	119 hari
<i>Centrosema</i> spp.	67 – 280	setahun
<i>Clitoria ternatea</i>	197 – 249	190 – 195 hari
<i>Desmodium</i> spp.	24 – 380	setahun
<i>Desmanthus virgatus</i>	193 – 228	190 – 195 hari
<i>Macroptilium atropurpureum</i> cv. Siratro	15 – 167	setahun
<i>Pueraria</i> spp.	9 – 115	72 – 199 hari
<i>Stylosanthes</i> spp.	2 – 75	63 – 77 hari
<i>Stylosanthes</i> spp.	20 – 263	setahun
<i>Zornia glabra</i>	61	119 hari

Sumber: PEOPLES *et al.* (1995)

INOKULASI TANAMAN LEGUMINOSA

Penelitian tentang inokulasi bakteri *rhizobia* pada tanaman leguminosa tidak selalu berhasil dengan baik, bahkan sering mengalami kegagalan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor antara lain rendahnya kemampuan bakteri inokulan untuk bersaing dengan bakteri yang alami dalam menginfeksi akar (TRIPLETT dan SADOSWKY, 1992); rendahnya konsentrasi dari bakteri inokulan (NAMBIAR *et al.*, 1987). Selanjutnya, KHAN *et al.* (1999) menyatakan bahwa nodulasi dan penambatan nitrogen pada tanaman dapat ditingkatkan bila tanaman tersebut diinokulasi dengan strain yang kompetitif dan efektif serta konsentrasi bakteri yang tinggi.

Faktor yang juga mempengaruhi perkembangan dan aktivitas *rhizobium* di dalam tanah antara lain kelembaban, aerasi, suhu, kandungan bahan organik, kemasaman tanah, suplai hara anorganik, jenis tanah dan persentase pasir serta liat (ALEXANDER, 1977). Tekstur tanah berpasir dengan bahan organik rendah mengurangi penambatan N di dalam tanah. Tekstur tanah liat berat dengan bahan organik rendah mengurangi aktivitas dan efektivitas bakteri *rhizobium* dalam membentuk bintil akar dan pada akhirnya mempengaruhi penambatan N (KENTJANASARI *et al.*, 1998).

HOWELL dan STIPANOVIC (1980) dalam LYNCH (1983) mengatakan bahwa efektivitas bakteri *rhizobium* hilang pada kondisi tanah yang anaerob.

SUBOWO *et al.* (1989) melaporkan bahwa penurunan populasi *rhizobium* pada tanah dengan perlakuan inokulasi legin lebih tajam dibandingkan dengan perlakuan tanpa legin. Keadaan ini

menunjukkan bahwa daya adaptasi *rhizobium* inokulan yang merupakan mikroorganisme masukan lebih rendah dibandingkan dengan *rhizobia* alami. Penelitian di daerah Pati, Magetan, Banyumas, Pasuruan, Cianjur dan Pandeglang menunjukkan bahwa penggunaan Rhizo-plus pada tanaman kedelai selain dapat menekan penggunaan Urea sampai 100% dan mengurangi penggunaan TSP/SP36 sampai 50% ternyata juga dapat menekan kebutuhan kapur pertanian sebesar 50% (HERMAN dan GOENADI, 1999). SARASWATI *et al.* (1998) melaporkan bahwa dengan menggunakan Rhizo-plus pada tanaman kedelai dapat menghemat biaya produksi sebesar Rp. 50.000 per hektar dan meningkatkan produksi antara 2,45 – 57,48%, serta keuntungan yang diperoleh petani naik rata-rata Rp. 292.000 per hektar. Selanjutnya SUHAYA *et al.* (1999) melaporkan bahwa di Desa Karya Mukti Kecamatan Rimbo Melintang Kabupaten Rokan Hilir sebagai salah satu sentra produksi kedelai di Provinsi Riau, penggunaan Rhizo-plus dapat meningkatkan efisiensi usahatani yaitu dapat menekan biaya produksi sebesar Rp. 172.000 per hektar dan peningkatan hasil sampai 11,86% pada varietas Argomulya dibandingkan dengan pupuk lengkap sesuai anjuran setempat. ARMIADI (2007) melaporkan bahwa pengaruh inokulan sangat nyata terhadap peningkatan produksi tanaman kedelai dan kembang telang. Nitrogen hasil penambatan relatif lebih banyak terjadi pada kedelai dibandingkan pada kembang telang (ARMIADI, 2007). Hal ini dikarenakan inokulan yang digunakan lebih cocok pada tanaman kedelai dibandingkan dengan tanaman kembang telang. ZHANG *et al.* (2002) mengemukakan bahwa strain *rhizobia* cenderung memfiksasi lebih baik pada tanaman leguminosa asal

rhizobia tersebut diisolasi. Efektivitas penambatan N_2 ditentukan pula oleh adanya keterpaduan genetik galur rhizobia, jenis dan tingkat varietas leguminosa yang bersimbiose. Tanaman leguminosa pada umumnya tumbuh baik pada tanah netral atau sedikit masam, terutama bila sumber utama N tanaman tersebut tergantung pada hasil fiksasi (ZAHARAN, 1999). Tanah masam mungkin kehilangan *rhizobium* yang membutuhkan pH tinggi (GARDNER *et al.*, 1991). Selanjutnya ZAHARAN (1999) mengemukakan bahwa tanah masam merupakan faktor pembatas dalam proses fiksasi N_2 secara simbiosis, membatasi ketahanan hidup *rhizobium* dan menurunkan jumlah bintil akar.

KESIMPULAN

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa sejumlah kebutuhan nitrogen dapat disumbang oleh penambatan melalui simbiosis antara bakteri yang memiliki nitrogenase dengan tanaman leguminosa yang mampu mereduksi dinitrogen menjadi bentuk organik. Besarnya sumbangan tanaman leguminosa pakan ternak terhadap ketersediaan N berkisar antara 2 sampai 380 kg N per hektar per tahun. Efektivitas penambatan N_2 ditentukan pula oleh adanya keterpaduan genetik galur rhizobia, jenis dan tingkat varietas leguminosa dan lingkungan yang mempengaruhinya.

DAFTAR PUSTAKA

- ALEXANDER, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd Edition. John Wiley and Sons; New York-Chichester-Brisbane-Toronto-Singapore. 472 pp.
- ARMIADI. 2007. Efektivitas Penambatan Nitrogen Udara oleh Bakteri *Rhizobium* dengan Penambahan Unsur Hara Molybdenum pada Tanaman Leguminosa Herba. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor. 144 hlm.
- ARSHAD, M. and W.T. FRANKENBERGER. 1993. Microbial production of plant growth regulator. In: Soil Microbial Ecology Application in Agricultural and Environmental Management. MELTING, B.F. (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 307 – 347.
- BROUGHTON, W.J. 2003. Roses by other names: Taxonomy of the Rhizobiaceae. J. Bacteriol. 185(10): 2975 – 2979.
- GARDNER, F.P., R.B. PEARCE and R.L. MITCHELL. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. Diterjemahkan oleh: SUSILO, H. dan SUBIYANTO. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta. 428 hlm.
- GRANT, C.A., G.A. PETERSON and C.A. CAMPBELL. 2002. Nutrient considerations for diversified cropping systems in the Northern Great Plains. Agronomy J. 94: 186 – 198.
- HAKIM, N., M.Y. NYAKPA, A.M. LUBIS, S.G. NUGROHO, M.R. SAUL, M.A. DIHA, G.B. HONG dan H.H. BAILEY. 1986. Dasar-dasar Ilmu Tanah. Universitas Lampung. hlm. 488.
- HAUCK, R.D. 1988. A human ecosphere perspective of agricultural nitrogen cycling. In: Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems. WILSON, J.R. (Ed.). CAB International. pp. 3 – 19.
- HERMAN dan D.H. GOENADI. 1999. Manfaat dan prospek pengembangan industri pupuk hayati di Indonesia. J. Litbang Pertanian 18(3): 91 – 97.
- HIRSCH, A.M., M.R. LUM and J.A. DOWNIE. 2001. What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? Plant Physiol. 127: 1484 – 1492.
- JORDAN, D.C. 1982. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen.nov., a genus of slow-growing root nodule bacteria from leguminous plants. Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 136 – 139.
- KAHN, M.K., B.N. PRASAD and S. AKAO. 1999. Competition between *Rhizobium* strain NGR234 and *Bradyrhizobium* Strain CP283 for nodulation in Siratro investigated with the GUS reporter gene. Soil Sci. Plant. Nutr. 45(4): 825 – 834.
- KENTJANASARI, A., T. PRIHATINI, J. PURWATI dan A. HAMZAH. 1998. Pemanfaatan *Rhizobium* dalam meningkatkan ketersediaan N-tanah di lahan sawah. Pros. Pertemuan Pembahasan dan Komunikasi Hasil Penelitian Tanah dan Agroklimat. Bidang Kimia dan Biologi Tanah. Puslit Tanah dan Agroklimat, Bogor. hlm. 91 – 100.
- KILLPACK, S.C. and D. BUCHHOLZ. 1993. Nitrogen in the environment: Nitrogen fixation. Water Quality Initiative, WQ261.
- LIMPENS, E. and T. BISSELING. 2003. Signaling in symbiosis. Current Opinion in Plant Biology 8: 343 – 350.
- LONG, S.R. 1996. Rhizobium symbiosis: Nod factors in perspective. Plant Cell 8: 1885 – 1898.
- LYNCH, J.M. 1983. Soil Biotechnology: Microbiological Factors in Crop Productivity. Blackwell Scientific Publication, Oxford, London. 191 p.
- MARYAM, L., R. WIDOWATI, S. WIDATI, J. PRAWIRASUMANTRI dan D. SANTOSO. 1998. Efisiensi pupuk nitrogen pada tanah ultisol, vertisol dan entisol. Pros. Pertemuan Pembahasan dan Komunikasi Hasil Penelitian Tanah dan Agroklimat. Bidang Kimia dan Biologi Tanah. Puslit Tanah dan Agroklimat. hlm. 133 – 146.
- NAMBIAR, P.T.C., V. ANJALIAH and B. SRINIVASA RAO. 1987. Factors affecting competition of three strains of *rhizobia* nodulating groundnut, *Arachis hypogaea* L. Ann. Appl. Biol. 110: 527 – 533.

- PASARIBU, D.A., N. SUMARLIN, SUMARNO, Y. SUPRIATI, R. SARASWATI, P.H. SUTJIPTO dan S. KARAMA. 1989. Penelitian inokulasi *Rhizobium* di Indonesia. Risalah Lokakarya Penelitian Penambatan Nitrogen secara Hayati pada Kacang-kacangan. Kerjasama Puslitbang Tanaman Pangan, Badan Litbang Pertanian dan Puslitbang Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor. hlm. 3 – 32.
- PEOPLES, M.B., D.F. HERRIDGE and J.K. LADHA. 1995. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agriculture production. *Plant and Soil* 174: 3 – 28.
- PURWANTARI, N.D. 1995. The Biology and Nitrogen Fixation of Some Shrub Legumes. PhD. Thesis, University of Queensland, Australia. 170 p.
- ROGERS, J.E. and W.B. WHITMAN. 1991. Microbial production and consumption of green house gases: Methane, nitrogen oxides and halomethanes. *Am. Soc. Microbial*. Washington D.C.
- SALISBURY, F.B. dan C.W. ROSS. 1995. Fisiologi Tumbuhan. *Terjemahan dari: Plant physiology. Penerjemah: LUKMAN, D.R. dan SUMARYONO. Penerbit ITB, Bandung.*
- SARASWATI, R., N. SUNARLIM, D.H. GOENADI, R.D.M. SIMANUNGKALIT, M. DJUMALI dan D.S. DAMARDJATI. 1998. Penggunaan Rhizo-plus untuk meningkatkan produktivitas kedelai. *Dalam: Inovasi Teknologi Pertanian, Seperempat Abad Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian, Jakarta.* hlm. 363 – 365.
- SCHULTZE, M. and A. KONDOROSI. 1998. Regulation of symbiotic root nodule development. *Annu. Rev. Genet.* 32: 33 – 57.
- SETIADI, Y. 1989. Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Kehutanan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- SIMMS, E.L. and D.L. TAYLOR. 2002. Partner choice in nitrogen-fixation mutualisms of legumes and rhizobia. *Integ. Comp. Biol.* 42: 369 – 380.
- SMILL, V. 1999. Nitrogen in crop production. *Global Biogeochem Cycles* 13: 647 – 662.
- SOCOLOW, R.H. 1999. Nitrogen management and the future of food: Lessons from the management of energy and carbon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 6001 – 6008.
- 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. 6 – 8 October 2008.
- SUBOWO, S. KOMARIAH dan T. PRIHATINI. 1989. Evaluasi sumbangan inokulan legin kedelai dalam meningkatkan produksi kedelai tanah latosol Cimelati, Bogor. *Pros. Pertemuan Teknis Penelitian Tanah. Bidang Kesuburan dan Produktivitas Tanah. Puslit Tanah dan Agroklimat, Bogor.* hlm. 65 – 70.
- SUHAYA, Y., A. RAHMAN, KARDIYONO, R. GEMALA, S. RAHMAN dan SUDARNA. 1999. Uji adaptasi penggunaan pupuk Rhizo-Plus sebagai alternatif pengganti pupuk N dan P terhadap produktifitas Kedelai. Laporan Akhir. Kerjasama Bagian Proyek Pembinaan Kelembagaan Penelitian dan Pengembangan Pertanian dan Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Padang Marpoyan, Pekanbaru, Riau.
- TRIPLETT, E.W. and M.J. SADOWSKY. 1992. Genetics of competition for nodulation of legumes. *Annu. Rev. Microbiol.* 46: 399 – 428.
- VANCE, C.P. 2001. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition: Plant nutrition in a world of declining renewable resources. *Plant Physiol.* 127: 390 – 397.
- VINCENT, J.M. 1982. *Nitrogen Fixation in Legumes.* Academic Press, New York. 288 p.
- VITOUSEK, P.M., K. CASSMAN, C. CLEVELAND, T. CREWS, C.B. FIELD, N.B. GRIMM, R.W. HOWARTH, R. MARINO, L. MARTINELLI, E.B. RASTETTER and J.I. SPRENT. 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry* 57/58: 1 – 45.
- YUTONO, 1985. Inokulasi *Rhizobium* pada kedelai. *Dalam: Kedelai. SUMAATMAJA, S., M. ISMUNADJI, SUMARNO, M. SYAM, S.O. MANURUNG dan YUSWADI (Eds.). Puslitbang Tanaman Pangan, Bogor.* hlm. 217 – 230.
- ZAHARAN, H.H. 1999. *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63(4): 968 – 989.
- ZANG, H., T.C. CHARLES, B.T. DRISCOLL, B. PRITHIVIRAJ and D.L. SMITH. 2002. Low temperature-tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strains allowing improved soybean yield in short-season areas. *Agron. J.* 94: 870 – 875.