

PERANAN UNSUR HARA MOLIBDENUM DALAM PENAMBATAN NITROGEN

ARMIADI

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

(Makalah diterima 30 Desember 2008 – Revisi 24 Juli 2009)

ABSTRAK

Ketersediaan unsur hara Molibdenum (Mo) pada tanah, khususnya tanah masam sangat terbatas, sementara keberadaannya sangat menentukan proses penambatan nitrogen secara biologis. Mo merupakan komponen *meta-protein nitrogenase* dan membantu proses penambatan nitrogen dan merupakan komponen yang sangat esensial diperlukan untuk metabolisme N bakteri. Untuk berfungsi dengan baik, enzim nitrogenase memerlukan unsur hara Mo. Defisiensi unsur hara Mo telah dilaporkan terjadi pada beberapa spesies tanaman. Gejala defisiensi Mo pada tanaman sangat bervariasi. Gejala yang sering timbul adalah klorosis atau daun berwarna kekuning-kuningan. Makalah ini akan membahas tentang peranan unsur hara Mo dalam penambatan nitrogen.

Kata kunci: Penambatan nitrogen, molibdenum, leguminosa, nitrogenase

ABSTRACT

THE ROLE OF MOLYBDENUM IN BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION

The availability of soil Molybdenum (Mo) especially for acid soil is scarcely found, while their existency determines the process of Nitrogen fixation. Mo is the component of meta-protein nitrogenase which helps the process of biological nitrogen fixation and acts as essential component which needed for N bacteria metabolism. The nitrogenase enzyme needs Mo element in the process of its metabolism, which acts as electron carrier between oxidized and reduction stages. The deficiency of Mo has been reported in several crops, with various appearance, such as chlorosis or yellowish leaves. The paper describes the role of Mo in biological nitrogen fixation.

Key words: Symbiotic fixation, molybdenum, legume, nitrogenase

PENDAHULUAN

Penambatan nitrogen dilakukan secara simbiosis antara bakteri tanah, rhizobium dengan tanaman leguminosa, sangat penting dalam fungsi ekosistem (SIMMS dan TAYLOR, 2002). Sejumlah besar kebutuhan nitrogen tanaman terutama leguminosa disumbang oleh penambatan melalui simbiosis antara bakteri yang memiliki enzim nitrogenase dengan tanaman leguminosa yang mampu mereduksi dinitrogen menjadi bentuk organik (POSTGATE, 1998 dalam SIMMS dan TAYLOR, 2002).

Hubungan antara bakteri dengan tanaman leguminosa pada umumnya bersifat mutualistik, tetapi strain rhizobia mempunyai efektivitas yang berbeda antara strain satu dengan yang lain (BURDON *et al.*, 1999 dalam SIMMS dan TAYLOR, 2002). Simbiosis ini merupakan proses yang kompleks yang dipengaruhi oleh faktor biotik maupun faktor lingkungan. Pada tanah masam mungkin populasi rhizobium sedikit atau tidak ada sama sekali mengingat kebanyakan rhizobia tumbuh dan berkembang dengan baik pada pH netral

(GARDNER *et al.* 1991). Tanah masam merupakan faktor pembatas dalam proses fiksasi N₂ secara simbiosis, membatasi ketahanan hidup rhizobium dan menurunkan jumlah bintil akar (ZAHARAN, 1999).

VITOUSEK *et al.* (2002) mengemukakan bahwa untuk berfungsi dengan baik enzim nitrogenase memerlukan unsur hara Mo. Namun demikian keberadaan unsur hara Mo pada tanah tertentu pada umumnya sangat kurang. Sifat unsur hara ini sangat mobil di dalam tanah.

Tulisan ini difokuskan pada peran salah satu unsur hara yaitu molibdenum yang merupakan komponen enzim nitrogenase dalam penambatan N₂ secara biologik oleh asosiasi tanaman leguminosa dan bakteri rhizobia.

PERAN DAN KETERSEDIAAN UNSUR HARA MOLIBDENUM

Molibdenum merupakan salah satu unsur hara mikro yang diperlukan untuk pertumbuhan dan

perkembangan tanaman. Mo merupakan elemen yang sangat jarang (FORTESCUE, 1992 dalam MENDEL dan HANSCH, 2002). Oksidasi Mo dalam tanah bervariasi dari valensi II hingga bervalensi IV, tetapi dalam bentuk terlarut, hanya Mo valensi IV yang tersedia bagi tanaman. Defisiensi unsur hara Mo telah dilaporkan terjadi pada beberapa spesies tanaman (GUPTA, 1997 dalam MENDEL dan HANSCH, 2002). Kemungkinan gejala defisiensi Mo pada tanaman sangat bervariasi dan gejala yang sering timbul adalah klorosis atau daun berwarna kekuning-kuningan (MENDEL dan HANSCH, 2002). Gejala yang timbul karena kekurangan Mo hampir menyerupai kekurangan N. Kekurangan Mo dapat menghambat pertumbuhan tanaman, daun menjadi pucat dan mati, pembentukan bunga terlambat, dan pembentukan benang sari berkurang (ROESMARKAM dan YUWONO, 2002). Gejala defisiensi Mo umumnya terdapat pada tanah masam. Pada tanah masam umumnya kadar Fe, Al, dan kadang-kadang Mn berlebihan (toksis). Oleh karena itu, gejala defisiensi Mo sering bergabung dengan adanya gejala keracunan Fe^{3+} dan Mn^{2+} .

ROESMARKAM dan YUWONO (2002) melaporkan bahwa ketersediaan Mo dalam tanah dipengaruhi oleh adanya pengapuran, perubahan suasana reduksi oksidasi, mikroorganisme, dan harkat Mo tersedia. Ketersediaan Mo meningkat dengan meningkatnya pH, sehingga pemberian kapur meningkatkan ketersediaan Mo (GADNER *et al.* 1991).

HAKIM *et al.* (1986) melaporkan bahwa pada pH rendah, hampir tidak ada molibdenum yang tersedia. Selanjutnya ROESMARKAM dan YUWONO (2002) mengemukakan bahwa Mo yang larut dalam air sangat sedikit ($< 0,1$ ppm) dan kelarutannya dipengaruhi oleh pH tanah. Makin rendah pH tanah, makin rendah pula tingkat kelarutannya dan sebaliknya. Hal ini diduga karena makin rendah pH, makin tinggi kelarutan Fe dan Al dan kemudian, Fe ini mengikat Mo. Ikatan Fe-Mo tergolong kuat sehingga tidak tersedia untuk tanaman. Ion MoO_4^- sebagai anion terikat sering menyelimuti lempung yang bermuatan negatif pada permukaan luarnya.

GADNER *et al.* (1991) mengemukakan bahwa molibdenum mungkin berasal dari pelapukan sejumlah mineral yang meliputi MoS_2 (tereduksi), kompleks oksida seperti $CaMoO_4$ dan bentuk terhidrasi. Molibdenum diserap oleh akar tanaman dalam bentuk anion divalen (MoO_4^{2-}).

Fungsi molibdenum dalam tumbuhan yang paling dikenal baik adalah menjadi bagian dari enzim nitrat reduktase yang mereduksi ion nitrat menjadi ion nitrit (SALISBURY dan ROSS, 1995; GADNER *et al.* 1991). Mo berperan sebagai katalis dan hanya ada dalam satu atau beberapa senyawa (enzim) saja. Fungsi Mo dalam tanaman adalah mengaktifkan enzim nitrogenase, nitrat

reduktase, dan xantine oksidase (ROESMARKAM dan YUWONO, 2002).

Molibdenum merupakan komponen yang sangat esensial yang diperlukan untuk metabolisme N bakteri (THIEL *et al.*, 2002). *Mo-nitrogenase* memerlukan suatu ko-faktor berupa *iron-molybdenum* (NEWTON, 1992 dalam THIEL *et al.*, 2002). MENDEL dan HANSCH (2002) mengemukakan bahwa elemen molibdenum esensial hampir pada semua organisme dan terdapat pada lebih dari 40 enzim katalisator berbagai reaksi *redox*. Empat jenis ditemukan pada tanaman yaitu (1) *Nitrate reductase* katalisator yang merupakan kunci awal pada asimilasi nitrogen anorganik; (2) *aldehyde oxidase* yang berperan sebagai katalisator dalam proses akhir biosintesis *fitohormon abscisic acid*; (3) *xanthine dehydrogenase* yang terlibat dalam katabolisme purin dan reaksi stress, dan (4) *sulphite oxidase* yang kemungkinan terlibat dalam detoksifikasi eksek sulfat.

Tanah masam yang disebabkan antara lain oleh meningkatnya hujan asam dan pemupukan N secara terus menerus, menghambat produksi tanaman leguminosa (GRAHAM dan VANCE, 2002). Konsentrasi ion H per se, keracunan Al dan Mn, dan defisiensi P, Mo atau Ca berkontribusi terhadap penurunan produksi leguminosa (GRAHAM, 1992). Nodulasi dan ketahanan hidup rhizobia dalam tanah terutama dipengaruhi oleh kondisi keasaman tanah (GRAHAM dan VANCE, 2003).

Sifat unsur hara ini sangat mobil di dalam tanah. Jumlah Mo dalam tanah sangat sedikit yaitu berkisar antara 0,2 hingga 10 ppm dan umumnya antara 0,5 hingga 3,5 ppm (HAKIM *et al.* 1986). Jumlah ini relatif lebih banyak pada tanah liat daripada tanah pasir dan tanah organik. Menurut ROESMARKAM dan YUWONO (2002) harkat Mo dalam tanah adalah sangat tinggi bila lebih besar dari 1,50 ppm; tinggi 1,10 – 1,50 ppm; sedang 0,51 – 1,00 ppm, rendah 0,11 – 0,50 ppm dan sangat rendah bila lebih rendah dari 0,10 ppm.

Tabel 1. Kisaran kadar Mo pada berbagai tanah

Jenis tanah	Kandungan Mo (ppm)	Kategori
Marsh	0,17 – 1,4	Rendah – tinggi
Podsolik abu coklat	0,1 – 0,5	Rendah
Gambut	0,1 – 0,5	Rendah
Podsolik coklat	0,09 – 0,36	Sangat – rendah

Sumber: ROESMARKAM dan YUWONO (2002)

Tanah-tanah yang sering mengalami kekurangan Mo adalah (a) tanah pasir, (b) tanah yang mengalami podsolisasi, dan (c) tanah yang banyak mengandung sulfat. Tabel 1 memperlihatkan bahwa selain tanah podsolik coklat yang sangat rendah mengandung kadar Mo. Hubungan antara serapan Mo dengan ketersediaan sulfat adalah keterbalikan. Pada keadaan dimana

menurunnya sulfat, maka ini berarti serapan Mo akan meningkat. Kadar Mo yang tinggi dalam tanaman akan mempengaruhi translokasi Fe dari akar ke bagian atas tanaman (HAKIM *et al.*, 1986).

SALISBURY dan ROSS (1995), mengemukakan bahwa molibdenum banyak terdapat di tanah sebagai garam molibdat (MoO_4) dan juga sebagai MoS_2 dan diserap dalam bentuk ion MoO_4^- .

ROESMARKAM dan YUWONO (2002) mengemukakan bahwa Mo dapat membentuk ikatan kompleks dengan bahan organik tanah. Ikatan ini dikenal dengan khelat yang bermanfaat melindungi Mo dari fiksasi oleh lempung. Senyawa organik yang mengikat Mo tersebut adalah gugus ortho hidroksil yang meliputi alkohol, fenol, asam hidroksi dan asam organik mono basis. Mo dalam tanah juga dapat bergabung dengan senyawa yang mengandung N, misalnya tirosin, tiramin, lisitin, dan protein.

Penambahan unsur hara Mo sebesar $0,45 \text{ kg ha}^{-1}$ dalam bentuk *sodium molybdate* secara nyata meningkatkan jumlah bintil akar dan produksi *pigeon pea* (KHURANA dan DUDEJA, 1981 dalam WANI *et al.*, 1995), sedangkan penambahan $1 \text{ kg cobalt chloride}$, $1 \text{ kg sodium molybdate}$ dan $25 \text{ kg ZnSO}_4 \text{ ha}^{-1}$ meningkatkan produksi *chickpea* berturut-turut sebesar 10, 7 dan 4% dibandingkan dengan kontrol (WANI *et al.* 1995). Penambahan unsur hara Mo dapat meningkatkan produksi sebesar 28% pada tanaman *Arachis hypogaea* dengan kandungan N daun lebih tinggi (QUAGGIO *et al.* 2004).

Molibdenum merupakan bagian dari enzim nitrogenase, yang esensial dalam proses penambatan nitrogen, sehingga defisiensi Molibdenum lebih sering ditemukan pada tanaman leguminosa (BAILEY dan LAIDLAW, 1999 dalam QUAGGIO *et al.*, 2004).

Pemberian unsur hara Mo pada tanaman kembang telang berpengaruh nyata terhadap jumlah bintil akar dan berat segar bintil akar. Rataan jumlah bintil akar tanaman kembang telang yang diberi unsur hara Mo lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan tanpa Mo. Demikian juga halnya dengan berat segar bintil akar (ARMIADI, 2007). Keadaan ini menunjukkan bahwa keberadaan Mo pada tanah bagi tanaman kembang telang sangat penting dalam membentuk bintil akar, meskipun disadari bahwa Mo bukan satu-satunya faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan bintil akar. Terdapat interaksi yang nyata antara taraf pemberian Mo dengan perlakuan inokulasi terhadap jumlah bintil akar tanaman kembang telang. Ketersediaan Mo berhubungan erat dengan perkembangan bintil akar (ANDERSON, 1956 dalam KAISER *et al.* 2005). Penambahan Mo melalui tanaman akan disalurkan ke membran sel bintil akar untuk membentuk enzim nitrogenase, namun hingga saat ini belum ada informasi mengenai mekanisme yang

mengontrol transportasi Mo ke bintil akar (KAISER *et al.*, 2005).

Menggunakan *Acetylin reduction assay* (ARA), peran Mo sangat penting pada tanaman berumur 30 hari, ditunjukkan dengan adanya kecenderungan pola meningkatnya aktivitas enzim nitrogenase jika secara bertahap Mo ditambahkan (ARMIADI, 2007).

Keberhasilan pemberian Mo melalui daun ditentukan pula oleh media tanam dan jenis tanaman (ARMIADI, 2007). Pada tanaman kedelai, taraf pemberian Mo melalui daun berpengaruh nyata terhadap berat kering daun, berat segar bintil akar, berat kering bintil akar pada media tanam pasir, namun tidak berpengaruh bila kedelai ditanam pada media tanah (ARMIADI, 2007).

ENZIM NITROGENASE

Enzim adalah katalisator reaksi-spesifik kimia pada sistem biologi. Sebagian besar reaksi sel-sel hidup akan berlangsung sangat lambat bila reaksi tersebut tidak dikatalisis oleh enzim. Untuk dapat berfungsi dengan baik, enzim nitrogenase membutuhkan unsur hara Mo (VITOUSEK *et al.*, 2002). SALISBURY dan ROSS (1995) mengemukakan bahwa nitrogenase terdiri dari dua protein yang berlainan, sering disebut protein Fe dan protein Fe-Mo. Protein Fe-Mo mempunyai 2 atom molibdenum dan 28 atom besi; protein Fe mengandung 4 atom besi di kelompok Fe_4S_4 . Baik molibdenum maupun besi menjadi tereduksi dan kemudian dioksidasi saat nitrogenase menerima elektron dari ferredoksin dan mengangkutnya ke N_2 untuk membentuk NH_3 . *Adenosine Triphosphate* (ATP) adalah bentuk energi yang diperlukan dalam proses penambatan N_2 . Protein Fe mengangkut elektron ke protein Fe-Mo, disertai dengan hidrolisis ATP menjadi *Adenosine Diphosphate* (ADP). Protein Fe-Mo kemudian meneruskan pengangkutan elektron menuju N_2 dan menuju proton untuk membuat dua NH_3 dan satu H_2 (Gambar 1).

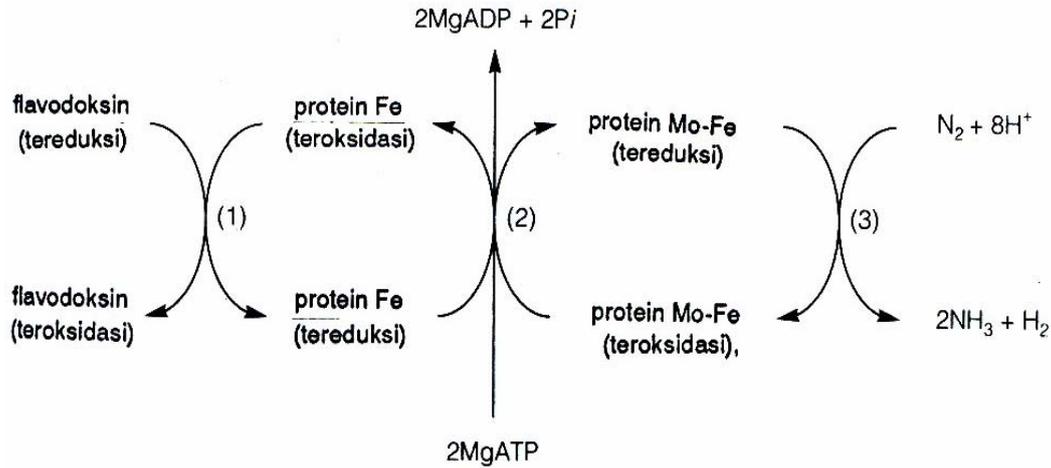
SHILOV (1992) mengemukakan bahwa nitrogenase yang diisolasi dari berbagai bakteri penambat nitrogen terdiri dari dua protein yaitu protein Fe dan protein MoFe. Protein Fe terdiri dari satu Fe_4S_4 klaster, sedangkan protein MoFe terdiri dari dua FeMo ko-faktor dan empat Fe_4S_4 klaster.

Enzim nitrogenase sangat sensitif terhadap oksigen (SALISBURY dan ROSS, 1995), karena protein Fe dan protein Fe-Mo dari nitrogenase didenaturasi secara oksidatif oleh oksigen. Leghemoglobin mengendalikan sebagian ketersediaan oksigen di dalam bakteroid, tetapi sifat anatomi yang rumit dari bakteroid itu sendiri (seperti korteks dan endodermis yang mengelilingi berkas pembuluh dan sel yang mengandung bakteroid) nampak jauh lebih penting

untuk mempertahankan tingkat oksigen yang rendah di sekitar nitrogenase dengan bertindak sebagai pembatas difusi ke udara di dalam tanah.

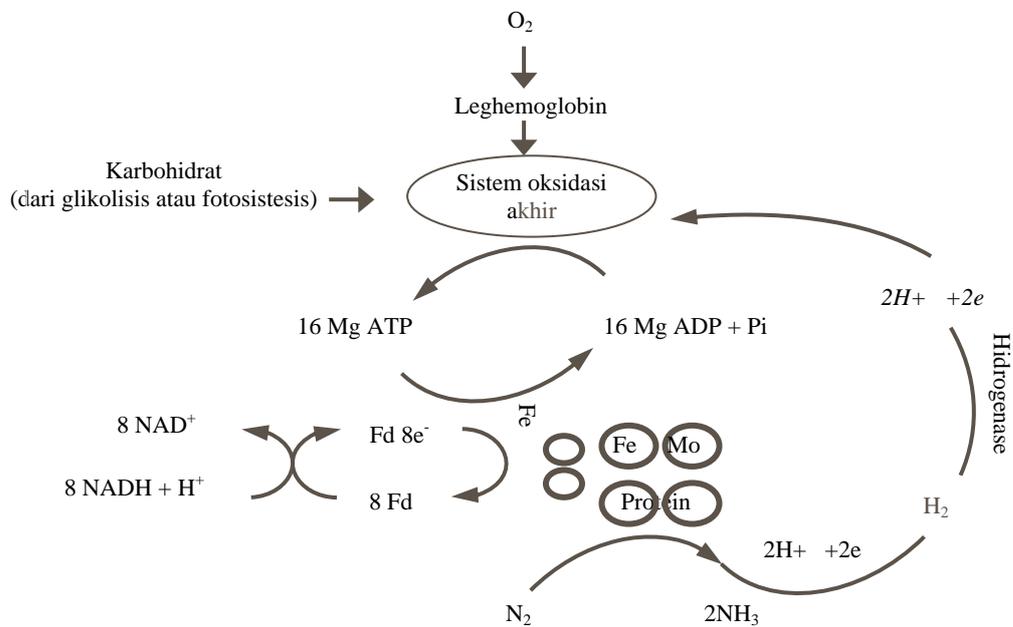
MOAT dan FOSTER (1988) mengemukakan bahwa nitrogenase terdiri dari dua protein yang sensitif terhadap oksigen, yaitu molibdenum iron protein

(*dinitrogenase*) dan iron-sulfur protein (*dinitrogen reductase*). Kedua protein ini bersama dengan ATP, Mg^{2+} dan elektron, adalah esensial dalam aktivitas penambatan nitrogen (Gambar 2). Secara umum proses penambatan nitrogen memerlukan energi sekitar 12 – 16 molekul ATP dan 6 – 8 elektron.



Gambar 1. Ikhtisar pengangkutan elektron dari flavodoksin tereduksi ke N_2 dan H^+ di tiga tahap utama

Sumber: SALISBURY dan ROSS (1995)



Gambar 2. Nitrogenase kompleks dan aktivitas yang berhubungan dengan penambatan nitrogen

Sumber: MOAT dan FOSTER (1988)

Jumlah leghemoglobin dan luasnya jaringan bakteroid pada bintil akar berhubungan dengan jumlah N_2 yang ditambah oleh tanaman leguminosa (MOAT dan FOSTER, 1988).

Reaksi katalisis oleh enzim nitrogenase membutuhkan energi dalam bentuk ATP dan reduktan. Kebutuhan ATP dan reduktan dipenuhi dari hasil fotosintesis yang ditranslokasikan dari daun ke bintil akar. Pasangan enzim nitrogenase menghidrolisis ATP menjadi ADP dengan memindahkan elektron dari reduktan untuk mereduksi N_2 menjadi NH_3 (YOUSAFZAI *et al.*, 1996). Persamaan keseluruhan dari proses penambatan N_2 dapat ditulis sebagai berikut (SALISBURY dan ROSS, 1995; MOAT dan FOSTER, 1988):



Proses tersebut memerlukan sumber elektron dan proton yang bersumber dari karbohidrat dan molekul ATP. Juga diperlukan kompleks enzim yang disebut nitrogenase, yang mengkatalisis reduksi beberapa substrat lain seperti asetilen (SALISBURY dan ROSS, 1995). Reduksi asetilen menjadi etilen sering diukur sebagai perkiraan laju penambatan nitrogen.

Nitrogenase yang dihasilkan oleh *Rhizobium* dalam bintil akar akan mengkatalisis N_2 menjadi NH_3 dan C_2H_2 menjadi C_2H_4 . Aktivitas nitrogenase biasanya diekspresikan dalam $\mu mol C_2H_4$ (SPRENT dan SPRENT, 1990). Efisiensi penambatan nitrogen dapat diukur dengan *Acetylene (C_2H_2) Reduction Assay* (ARA) dan nilai ARA dihitung dari banyaknya etilen (*ethylene*, C_2H_4) yang dihasilkan dari C_2H_2 (HARDY *et al.*, 1968). *Acetylene (C_2H_2) Reduction Assay* (ARA) terutama digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap penambatan nitrogen dan bukan untuk memperkirakan jumlah nitrogen yang ditambah (HERRIDGE dan DANSO, 1995).

KARDINAHL *et al.* (1999) mengemukakan bahwa molibdenum yang terdapat dalam enzim berperan sangat penting dalam sistem biologi dan berfungsi penting dalam berbagai proses metabolisme. *Nitrate reductase* katalisator merupakan langkah pertama dalam asimilasi nitrat dan merupakan kunci utama untuk nutrisi tanaman (MENDEL dan HANSCH, 2002). Regulasi dari asimilasi nitrat merupakan bagian dari suatu kerjasama yang sangat kompleks untuk merespon berbagai signal dari lingkungan ataupun internal tanaman seperti nitrat, cahaya, CO_2 , fitohormon, dan metabolisme karbon dan nitrogen dengan tujuan untuk menghubungkan asimilasi nitrat dengan proses metabolisme lainnya. Pada tanaman kedelai, aktivitas *nitrate reductase* pada bakteroid mencapai 90% dari total *nitrate reductase* bintil akar (LUCINSKI *et al.*,

2002), sehingga terdapat nitrit yang bersifat toksik sebagai produk dari *nitrate reductase*, yang diduga menyebabkan penurunan aktivitas nitrogenase.

Konsentrasi oksigen bebas dalam bintil akar merupakan faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim nitrogenase (LAYZELL dan HUNT, 1990 *dalam* LUCINSKI *et al.*, 2002). Ketersediaan oksigen di daerah bintil akar yang terinfeksi diatur oleh tanaman (MINCHIN, 1997 *dalam* LUCINSKI *et al.*, 2002), ketersediaan leghemoglobin dan dibatasi oleh resistensi difusi (APPELBY, 1984).

Nitrat membatasi aktivitas nitrogenase pada bintil akar (LUCINSKI *et al.*, 2002). Pengaruh nitrat terhadap simbiosis antara leguminosa dan rhizobia antara lain adalah peranan ketersediaan nitrat selama proses infeksi pada akar; hubungan antara ketersediaan nitrat dan aktivitas nitrogenase; dan pengaruh nitrat terhadap rasio antara massa basil akar dengan massa seluruh tanaman (STREETER, 1988 *dalam* LUCINSKI *et al.*, 2002).

KESIMPULAN

Molibdenum merupakan bagian dari enzim nitrogenase, yang esensial dalam proses penambatan nitrogen, sehingga defisiensi Molibdenum lebih sering ditemukan pada tanaman leguminosa. Ketersediaan Mo dalam tanah dipengaruhi oleh adanya kemasaman tanah, perubahan suasana reduksi oksidasi, mikroorganisme, dan harkat Mo tersedia.

DAFTAR PUSTAKA

- APPLEBY, C.A. 1984. Leghemoglobin and *Rhizobium* respiration. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35: 443 – 478.
- ARMIADI. 2007. Efektivitas Penambatan Nitrogen Udara oleh Bakteri *Rhizobium* dengan Penambahan Unsur Hara Molybdenum pada Tanaman Leguminosa Herba. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 144 hlm.
- GARDNER, F.P., R.B. PEARCE and R.L. MITCHELL. 1991. Fisiologi Tanaman Budidaya. *Diterjemahkan oleh*: SUSILO, H. *Terjemahan dari*: *Physiology of Crop Plants*. Universitas Indonesia Press, Jakarta. 425 hlm.
- GRAHAM, P.H. 1992. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Can. J. Microbiol.* 38: 475 – 484.
- GRAHAM, P.H. and C.P. VANCE. 2002. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extention needs. *Field Crops Res.* 65: 93 – 106.
- GRAHAM, P.H. and C.P. VANCE. 2003. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131: 872 – 877.

- 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. 488 hlm.
- HARDY, R.W.F., R.D. HOLSTEN, J.K. JAKSON and R.C. BURNS. 1968. The Acetylene-ethylene Assay for N₂ Fixation. Laboratory and Field work. *Plant Physiol.* 43: 1185 – 1207.
- HERRIDGE, D.F. and S.K.A. DANSO. 1995. Enhancing crop legume N² fixation through selection and breeding. *Plant. and Soil.* 174: 61 – 82.
- KAISER, B.N., K.L. GRIDLEY, J.N. BRADY, T. PHILLIPS and S.D. Tyerman. 2005. The role of molybdenum in agricultural plant production. *Annal. Botany* 96: 745 – 754.
- KARDINAH, S., C.L. SCHMIDT, T. HANSEN, S. ANEMULER, A. PETERSEN and G. SCHAFER. 1999. The strict molybdate-dependence of glucose-degradation by the thermoacidophile *Sulfolobus acidocaldarius* reveals the first crenarchaeotic molybdenum containing enzyme-an aldehyde oxidoreductase. *Eur. J. Biochem.* 260: 540 – 548.
- LUCINSKI, R., W. POLEYN and L. RATAJEZAK. 2002. Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association Rhizobium-legumes. *Acta Biochimica Polonica* 49(2): 537 – 546.
- MENDEL, R.R. and R. HANSCH. 2002. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. *J. Exp. Botany* 53: 1689 – 1698.
- MOAT, A.G. and J.W. FOSTER. 1988. *Microbial Physiology*. 2nd Edition. John Wiley and Sons, Inc. America. 597 hlm.
- QUAGGIO, J.A., P.B. GALLO and C. OWINO-GEROH. 2004. Peanut response to lime and molybdenum application in low pH soils. *R. Bras. Ct. Solo* 28: 659 – 664.
- ROESMARKAM, A. dan N.W. YUWONO. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Kanisius Yogyakarta. 224 hlm.
- SALISBURY, F.B. dan C.W. ROSS. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 2. *Diterjemahkan oleh: LUKMAN, D.R. dan SUMARYONO. Terjemahan dari: Plant Physiology*. Institut Teknologi Bandung, Bandung. 173 hlm.
- SHILOV, A.E. 1992. Intermediate complexes in chemical and biological nitrogen fixation. *Pure & Appl. Chem.* 54(10): 1409 – 1420.
- SIMMS, E.L. and D.L. TAYLOR. 2002. Partner choice in nitrogen-fixation mutualisms of legumes and rhizobia. *Integ. and Comp. Biol.* 42: 369 – 380.
- SPRENT, J.L. and P. SPRENT. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspect*. Chapman and Hall, London. 282 p.
- THIEL, T., B. PRATTE and M. ZAHALAK. 2002. Transport of molybdate in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413. *Arch. Microbiol.* 179: 50 – 56.
- 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. *Biogeochem.* 57/58: 1 – 45.
- WANI, S.P., O.P. RUPELA and K.K. LEE. 1995. Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grains legumes. *Plant and Soil* 174: 29 – 49.
- YOUSAFZAI, F.K., M. BUCK and B.E. SMITH. 1996. Isolation and characterization of nitrogenase MoFe protein from the mutant strain pHK17 of *Klebsiella pneumonia* in which the two bridging cysteine residues of the P-cluster and replaced by non-coordinating amino acid alanine. *Biochem. J.* 318: 111 – 118.
- 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.