

DISERTASI

KERAGAAN BIOFERTILISASI NITROGEN PADA TANAMAN KEDELAI (*Glycine max* L.) DI LAHAN KERING DENGAN VARIASI KETINGGIAN TEMPAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL

KK.
Dis M 12/02
sya
le



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

SYAMSULBAHRI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1997**

**KERAGAAN BIOFERTILISASI NITROGEN PADA
TANAMAN KEDELAI (*Glycine max* L.) DI LAHAN KERING
DENGAN VARIASI KETINGGIAN TEMPAT**

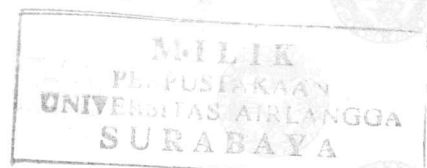
PENELITIAN EKSPERIMENTAL

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga

Prof. H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr

telah dipertahankan di hadapan
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga
pada hari Rabu
tanggal 12 Agustus 1997
pukul 10.00 BBWI



Oleh :

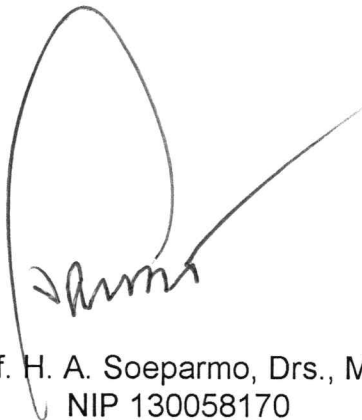
SYAMSULBAHRI
NIM. 099311497-D

Lembar Pengesahan

Disertasi ini Telah Disetujui
tanggal 25 September 1997

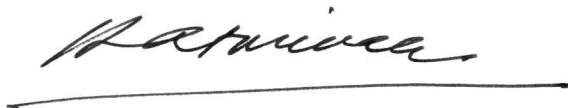
Oleh :

Promotor

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized loop followed by several smaller, connected strokes.

Prof. H. A. Soeparmo, Drs., Msc.
NIP 130058170

Ko-Promotor

A handwritten signature in black ink, featuring a series of connected, flowing strokes that form the name of the co-promotor.

Prof. Dr. Ir. Hj. Siti Rasminah Chailani Sy.
NIP 130345922

Telah diuji pada ujian tertutup
Tanggal 3 April 1997

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua : Prof. Soemadi, Drs.

Anggota : Prof. H. A. Soeparmo, Drs. M.Sc.
Prof. Radyastuti Winarno, Ir.
Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, drh, M.S.
Prof. Dr. Hj. Siti Rasminah Chailani, Sy., Ir.
Dr. H. M. Zainuddin, Apt.
Dr. Syekhfani, Ir., M.S.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
Nomor : 2627/J03/PP/1997
Tanggal 11 April 1997

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang atas segala rakhmat dan karunia Nya sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada pemerintah Republik Indonesia cq. Menteri Pendidikan dan Kebudayaan melalui Team Management Program Doktor yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan disertasi ini. Perkenankanlah pula saya mengucapkan terima kasih yang tulus kepada yang telah berperan-serta dalam mewujudkan disertasi ini secara langsung maupun tidak langsung, moral maupun material, pribadi maupun intitusi, terutama kepada:

Rektor Universitas Airlangga, Profesor dr.H. Bambang Rahino Setokoesomo atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program doktor.

Mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Profesor Dr. Sutaryadi Apt yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor dan memberikan bantuan dana TMPD selama pendidikan. Direktur Pascasarjana Univeristas Airlangga Profesor Dr. dr. Soediyono atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa program doktor pada program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Profesor Drs. H.A. Soeparmo, MSc. yang mendorong sekaligus menjadi promotor dalam menyelesaikan program doktor ini. Profesor Dr.Ir.Hj. Siti Rasminah Chailani Sy. yang mendorong dan sekaligus sebagai ko-promotor pada program doktor ini.

Profesor Drs H.A. Soeparmo MSc., Profesor Sumadi, Drs., Dr. H.M. Zainuddin, Apt., Profesor H. Abdul Gani, SH., MS., Profesor H. Muhammad Basyir, Drs., Dr. Susanti Linuwih, Dr. Sarmanu, drh., MS., Dr. Amy, Dr.rer.nat. Gunawan Indrayanto, Apt., Profesor Dr. Hj. Rasminah Chailani Sy. Ir., Dr. Ir. Syekhfani, MS. yang telah memberikan bekal teori ilmu matematika dan sains.

Profesor Drs. Soemadi, Profesor Drs. H. A. Soeparmo, M.Sc., Profesor Ir. Radyastuti Winarno, Profesor Dr. drh. H. Rohiman, S., M.S., Profesor Dr. Ir. Hj. Siti Rasminah, Chailani, Sy., Dr. M. Zainuddin, Apt., dan Dr. Ir. Syekhfani, M.S. sebagai dewan penguji tahap pertama yang telah membantu mengantarkan saya untuk melangsungkan ujian tahap dua.

Rektor Universitas Brawijaya Profesor Drs. HM. Hasyim Baisoeni yang amat mendorong penulis untuk segera menyelesaikan disertasi ini. Mantan Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, sekarang Pembantu Rektor IV Universitas Brawijaya Profesor Dr. Ir. Bambang Guritno atas ijin yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program doktor ini. Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Dr. Ir. Jogi Soegito yang telah banyak mendorong penulis untuk segera menyelesaikan disertasi ini. Mantan Ketua

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Dr.Ir. Nur Basuki yang banyak mendorong saya untuk mengikuti program doktor ini.

Ketua Yayasan Supersemar, H. Moch. Soeharto dan Ketua Yayasan Aji Dharma, H. Moch. Noor yang telah memberikan bantuan dana untuk menyelesaikan penelitian disertasi ini. H.M. Syamsidi (Purn) TNI-AU yang telah banyak mengingatkan penulis untuk cepat menyelesaikan disertasi.

Dr. Ir. Soemarno, MS, Dr. Ir. S.M. Sitompul, Ir. Ririen Prihantini, MS, Ir. Solimun, MS dan Ir. Sumeru Ashari, Magr.Sc., Ir. Maftuchah, MS, Ir. Lely dan Ir. Bambang Purwana yang telah banyak membantu penulis dalam penyelesaian disertasi ini.

Ayahanda H. Abdul Muis dan Ibunda Hj. Tjik Ibah yang saya cintai dan selalu memberikan do'a restu dan memberikan dorongan moril serta nasehat dalam menyelesaikan disertasi ini. Almarhum ayah dan ibu mertua Asmad Soengkono yang telah memberikan dorongan kuat bagi saya dalam menempuh bahtera kehidupan. Wanda H.Zainal Tarang sekeluarga yang telah banyak membantu baik moril maupun materiel, sehingga saya dapat menempuh jenjang pendidikan yang lebih tinggi. Kakak-kakak ipar dan adik-adik ipar saya: Ir. Sugeng Hermanto, Dipl.HE.; Ir.H. Sugeng Dwiyono, Dipl.HE. Ahmad Madjid,SH; Hasyim; Sugeng Wiyanjono beserta isteri yang memberikan dukungan penuh serta dorongan dalam program doktor. Adik-adik saya: Ir. Guntur, Drs.A. Sofwani, Hasan Basri, Kardi beserta isteri, dan Syafri, Rasmini, Armawanah yang telah memberikan dorongan do'a sehingga dapat kami selesaikan disertasi

ini. Adik H. Moch. Asri, SE dan Isteri yang telah banyak memberikan bantuan dan dorongan sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Akhirnya kepada isteri tercinta Dra. Wilujeng Tri Undari dan ke empat anak saya Soeyandra (Yandra), Wirahman Dwibahri (Wira), Yunedy Emmaliasari (Nedy), dan Yunita Febrianingtyas (Nita) atas dorongan serta do'a, pengertian dan pengorbanan yang membahagiakan dalam mengantar saya pada program doktor ini, semoga Allah selalu melimpahkan berkah dan karuniaNya.

RINGKASAN

Kedelai merupakan salah satu komoditas pangan yang penting bagi Indonesia. Hasil kedelai nasional masih rendah, karena hasil rata-rata yang dicapai 0,89 ton per Ha. Rendahnya hasil kedelai, karena penanaman kedelai dilakukan di lahan kering yang ditanam pada dataran rendah dan penanaman pada akhir musim hujan. Lahan kering umumnya miskin unsur hara, terutama nitrogen yang mudah tercuci, mudah menguap, dan diperlukan dalam jumlah yang banyak bagi tanaman. Kebutuhan nitrogen bagi tanaman kedelai dipenuhi melalui pemupukan nitrogen, baik pupuk anorganik, organik, maupun biologi (biofertilisasi N). Biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai terjadi melalui simbiosis *Rhizobium japonicum* L. dengan tanaman kedelai. Dengan demikian perlu serangkaian penelitian yang menyertakan *Rhizobium japonicum* L. pada tanaman kedelai yang ditanam pada ketinggian tempat yang berbeda

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai di lahan kering. Oleh sebab itu hipotesis yang perlu mendapatkan pembuktian adalah: (1) terdapat biodiversitas *Rhizobium* indigen lahan kering, (2) terdapat strain *Rhizobium* dominan pada ekosistem lahan kering yang berbeda ketinggiannya, (3) terdapat perbedaan keragaman strain *Rhizobium* dominan pada tanaman kedelai, (4) strain *Rhizobium* dapat dipakai sebagai inokulan pada tanaman kedelai di lahan kering, (5) terdapat kompatibilitas di antara strain *Rhizobium* pada tanaman kedelai, dan

(6) media pembawa gambut dapat digunakan untuk media inokulum strain *Rhizobium*.

Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap observasi dan eksperimental. Tahap observasi merupakan pengamatan langsung di lapangan, terutama faktor-faktor fisik pertanaman kedelai pada lahan-lahan kering yang berbeda ketinggian tempatnya. Lokasi penelitian observasi ditentukan dengan *teknik sampling* dengan metode *Purposive sampling*. Sehingga berdasarkan jenis tanah dan iklim serta ketinggian tempat, maka dipilih daerah Batu yang mewakili daerah dataran tinggi (871 mdpl.), daerah Bedali, Malang mewakili dataran menengah (495 mdpl.), dan daerah Wonorejo, Pasuruan mewakili daerah dataran rendah (70 mdpl.). Selanjutnya untuk mengetahui biodiversitas *Rhizobium* indigen lahan kering pada pertanaman kedelai dilakukan penanaman kedelai pada lokasi yang telah ditentukan, terutama pada lahan-lahan yang pernah ditanami kedelai dan belum pernah dilakukan inokulasi. Setelah umur tanaman kedelai 28 hari, dilakukan pengambilan nodul untuk digunakan sebagai bahan isolasi *Rhizobium*. Variabel yang diamati meliputi jumlah koloni/strain, bentuk koloni, warna dan tekstur koloni, laju pertumbuhan koloni, dan ukuran koloni. Di samping itu, untuk mengetahui strain dominan digunakan *Indek Simpson*.

Penelitian eksperimental meliputi pengujian strain *Rhizobium* dominan terhadap kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai, keragaan strain *Rhizobium* dalam bersimbiosis dengan tanaman kedelai, pengaruh strain

Rhizobium spesifik terhadap pertumbuhan dan hasil tiga varietas kedelai di lahan kering yang berbeda ketinggiannya, dan pengaruh media pembawa terhadap kemampuan hidup strain Rhizobium.

Pengujian kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai dengan menggunakan rancangan acak lengkap di ulang 3 kali. Variabel pengamatan kapasitas biofertilisasi meliputi jumlah nodul, bobot kering nodul, kandungan N total tanaman, dan bobot kering total tanaman pada umur 6 minggu. Penelitian dilakukan di Rumah kaca Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Pengujian keragaan strain Rhizobium dengan menggunakan rancangan acak lengkap secara faktorial diulang tiga kali. Faktor pertama strain Rhizobium dominan dan faktor kedua varietas kedelai. Variabel pengamatan keragaan strain meliputi jumlah nodul, bobot kering nodul, kandungan N total tanaman, bobot kering total tanaman, dan bobot biji per tanaman pada umur 6 minggu. Penelitian ini dilakukan di Rumah kaca dengan menggunakan pot plastik. Pengujian strain Rhizobium terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai pada ketinggian tempat yang berbeda dilakukan di Pujon, Kotatiff Batu (dataran tinggi), Bedali Kabupaten Malang (dataran menengah), dan Wonorejo Kabupaten Pasuruan (dataran rendah), dengan rancangan acak kelompok faktorial yang di ulang 3 kali. Faktor pertama strain Rhizobium dominan dan faktor kedua varietas kedelai. Variabel pengamatan meliputi jumlah nodul, bobot kering nodul, kandungan N total tanaman, tinggi tanaman, jumlah daun, bobot kering total tanaman, hasil biji per tanaman, dan hasil biji per satuan luas. Untuk

semua penelitian eksperimental di rumah kaca dan di lapang dianalisis dengan analisis varian yang dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur. Selain itu, juga dilakukan perhitungan aktivitas spesifikasi nitrogen dan nilai relatif fiksasi nitrogen pada penelitian kapasitas biofertilisasi nitrogen. Pengujian media pembawa (*carrier*) menggunakan rancangan acak lengkap faktorial diulang 3 kali. Faktor pertama strain terpilih dan faktor kedua media pembawa. Kemampuan hidup bakteri dianalisis dengan analisis regresi.

Keseluruhan penelitian dilakukan selama 24 bulan, yaitu mulai bulan September 1994 hingga Agustus 1996.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat biodiversitas strain *Rhizobium* indigen asal lahan kering pertanaman kedelai dengan ketinggian tempat yang berbeda, dengan indeks diversitas *Rhizobium* dataran tinggi, menengah, dan rendah berturut-turut 0,106; 0,110 dan 0,123. Terdapat 26 strain *Rhizobium* hasil isolasi dan ada 6 strain dominan dilihat dari jumlah bakteri setiap cc bahan. Masing-masing ketinggian tempat terdapat dua strain yang dominan, yaitu strain dataran rendah varietas Wilis (4.267.500) dan varietas Ringgit (4.442.500), strain dataran menengah varietas Wilis (4.732.500) dan varietas ringgit (4.915.000) dan strain dataran tinggi varietas Wilis (4.852.500) dan varietas Ringgit (3.925.000). Ternyata keenam strain dominan tersebut dapat meningkatkan kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai, ditinjau dari variabel fiksasi nitogen yang meliputi nilai aktivitas fiksasi nitrogen dan nilai relatif fiksasi nitrogen. Keragaan strain

Rhizobium yang diinokulasikan pada tanaman kedelai, ternyata keenam strain uji menunjukkan hasil pengamatan yang berbeda ditinjau dari parameter bobot biji per tanaman, N total, bobot dan jumlah nodul, dan bobot kering tanaman. Inokulasi strain uji pada tanaman kedelai menunjukkan hasil pengamatan lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa inokulasi Rhizobium maupun dengan inokulasi Rhisogin. Nilai relatif aktivitas fiksasi nitrogen strain G₄ memberikan nilai 198% lebih tinggi dari pada inokulasi dengan Rhisogin 602% dibandingkan dengan tanpa inokulasi. Kompatibilitas strain Rhizobium tidak spesifik terhadap ketiga varietas (Wilis, Ringgit, dan Kerinci), baik yang ditanam pada dataran tinggi, dataran sedang, maupun dataran rendah. Selanjutnya, strain G₄ merupakan strain Rhizobium yang kompatibel dengan tanaman kedelai varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci pada ketinggian tempat yang berbeda. Strain G₄ memberikan hasil pengamatan tertinggi ditinjau dari hasil biji per tanaman (5,0967 g), biji per hektar (1,7001 kg/Ha), bobot kering tanaman, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah dan bobot nodul serta kandungan N total tanaman. Demikian pula untuk media pembawa strain Rhizobium dapat digunakan gambut dan kompos, dengan kemampuan hidup pada umur lebih dari 64 hari.

ABSTRACT

Keywords : Biofertilization

Biodiversity

Symbiosis

Soybean

The objective of the research was to improve nitrogen biofertilization of soybean that could reduce cost of production and sustainability of the environment can be maintained.

The research was conducted in two phases, i.e., exploration and experimentation. Exploration on Rhizobium biodiversity was done in dry soils of three different altitudes lowland, medium, highland. Experimentation research consists of four topics, there were: 1) the effect of Rhizobium strains on nitrogen biofertilization of soybean, 2) the variability of strains which symbiosis with soybean, 3) the effect of Rhizobium strains on soybean growth and yield crop of three kinds of soybean that grew under dry-soil condition, 4) and the effect of different media's as Rhizobium carrier on survival of the Rhizobium strains.

These experiments were done within 24 months from September 1995 till August 1996.

The sampling used in the research was purposive sampling, where the samples were intentionally decided. The experiment was to know the effect of

the independent variables (soybean and Rhizobium strains) on dependent variables (growth and yield of soybean), and the design was randomized factorial design. The parameters observed was growth and yield of soybean. The data collected were analyzed by using diversity index and analysis of variance. The difference between treatments were tested by HSD (*Honestly Significane Defference*) 5%.

The result of experiment showed variation in Rhizobium diversity according to its altitudes. Six out of twenty six strains were able to increase nitrogen biofertilization on soybean, but the interaction between strains and cultivars were not significantly different when planted in lowland, medium, or highland. Further investigation showed that strain G₄ was more compatible for the soybean tested (cv. Willis, Ringgit, and Kerinci). Peat and compost we suitable for (can be used) Rhizobium carrier. The survival of the strains can be prolonged untill more than 64 days.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Definisi	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Biofertilisasi Nitrogen	8
2.2 Biodiversitas Rhizobium Lahan Kering	9
2.3 Lahan kering	11
2.4 Simbiosis <i>Rhizobium japonicum</i> - Kedelai	13
2.5 Faktor Penentu Aktifitas Biofertilisasi Nitrogen	16
2.6 Peranan Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kedelai .	21
2.7 Keragaan Ekologi	23
2.8 Inokulasi Rhizobium pada Tanaman Kedelai	27
2.9 Cara Pengembangan Inokulum	29

III.	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	33
	3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	33
	3.2 Hipotesis Penelitian	37
IV.	METODA PENELITIAN	38
	4.1 Biodiversitas Rhizobium Indigen Lahan Kering	41
	4.2 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen pada Tanaman Kedelai	47
	4.3 Keragaan Strain Rhizobium Dalam Bersimbiosis dengan Tanaman Kedelai	51
	4.4 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tiga Varietas Kedelai pada Dataran Rendah, Dataran Menengah, dan Dataran Tinggi	54
	4.5 Pengaruh Media Pembawa terhadap Kemampuan Hidup Strain Rhizobium	59
V.	HASIL PENELITIAN	66
	5.1 Biodiversitas Rhizobium Indigen Lahan Kering	66
	5.2 Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen	72
	5.3 Keragaan Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai	74
	5.4 Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai	76
	5.5 Media Pembawa Strain Rhizobium	83
VI.	PEMBAHASAN	87
	6.1 Biodiversitas Rhizobium Indigen Lahan Kering	87
	6.2 Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen	91

6.3	Keragaan Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai	93
6.4	Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai	95
6.5	Media Pembawa Strain Rhizobium	99
VII.	SIMPULAN DAN SARAN	101
7.1	Simpulan	101
7.2	Saran	102
	DAFTAR PUSTAKA	104
	LAMPIRAN	113

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Fiksasi Nitrogen oleh Tanaman Legum	14
2.2 Respon Kedelai terhadap Pemupukan N dan Inokulasi	22
2.3 Hasil Berat Kering dan Jumlah Bakteri Akar akibat inokulasi	28
2.4 Hasil Inokulasi pada Tanaman Kedelai di Rwanda	29
5.1 Pola Penyebaran Nodul pada Tiga Varietas Kedelai di Tiga Tempat .	66
5.2 Karakteristik Pertumbuhan Strain Rhizobium	67
5.3 Jumlah Bakteri Berdasarkan Jumlah Koloni	69
5.4 Indeks Diversitas Strain Rhizobium	70
5.5 Nilai Rerata Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen pada Tanaman Kedelai	73
5.6 Nilai Aktivitas Spesifik Fiksasi N dan Nilai Relatif Aktivitas Fiksasi N Strain Uji	74
5.7 Nilai Rerata Keragaan Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai . . .	76
5.8 Nilai Rata-rata Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Rendah	78
5.9 Nilai Rata-rata Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Menengah	79
5.10 Nilai Rata-rata Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Tinggi	81
5.11 Umur Tahan Hidup Strain Rhizobium pada Masing-masing Media Pembawa	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Pola Sebaran Nodul Akar	20
2.2 Pertumbuhan Jasad Mikro Setelah Pemanasan Tanah selama 30 Menit	25
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	35
4.1 Kerangka Operasional Penelitian	40
4.2 Pengemasan Strain Rhizobium pada Berbagai Media Pembawa .	62
4.3a Koloni Rhizobium asal media pembawa Gambut yang ditumbuhkan pada Medium Agar	63
4.3b Koloni Rhizobium asal media pembawa kompos yang ditumbuhkan pada Medium Agar	64
4.3c Koloni Rhizobium asal media pembawa Arang yang ditumbuhkan pada Medium Agar	64
5.1 Morfologi Rhizobium	68
5.2 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Kandungan N Total pada Berbagai Ketinggian Tempat	82
5.3 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Hasil Biji per tanaman pada Berbagai Ketinggian Tempat	83
5.4 Pola Penurunan populasi Strain G ₁ pada ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)	84
5.5 Pola Penurunan populasi Strain G ₂ pada ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)	84
5.6 Pola Penurunan populasi Strain G ₃ pada ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)	85
5.7 Pola Penurunan populasi Strain G ₄ pada ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Diskripsi Varieras Wilis	114
2	Diskripsi Varietas Ringgit	115
3	Diskripsi Varietas Kerinci	116
4	Lekapan Basah (<i>Simple Water Mount</i>)	117
5	Penetapan N total Metode Kyeldahl	118
6	Komposisi Larutan Hara	120
7	Metode Penetapan Jumlah Rhizobium Hidup (<i>Plate count</i>)	121
8	Pembuatan Media Pembawa (<i>carrier</i>)	122
9	Analisis Tanah (Laboratorium Tanah) dan Data Iklim (Laboratorium Klimatologi) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang	124
10	Sidik Ragam Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen	125
11	Sidik Ragam Keragaan Tanaman Kedelai	126
12	Sidik Ragam Kompatibilitas Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Rendah	127
13	Sidik Ragam Kompatibilitas Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Menengah	129
14	Sidik Ragam Kompatibilitas Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Tinggi	131
15	Sidik Ragam Regresi Kemampuan Hidup Bakteri Rhizobium (transformasi logaritma)	133
16	Data Jumlah Bakteri per Volume	135

BAB 1

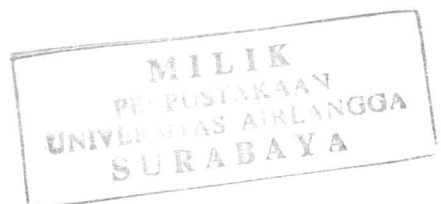
Bab 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Kedelai merupakan salah satu komoditas pangan yang penting bagi Indonesia. Kebutuhan kedelai nasional terus meningkat, yaitu pada tahun 1990 kebutuhan akan kedelai 1.922.992 ton, dan Bank Dunia memproyeksikan kebutuhan kedelai nasional pada tahun 2010 adalah 4,9 juta ton (Adisarwanto dan Sumarno, 1993). Pada hal produksi kedelai nasional pada tahun 1990 baru mencapai 1.385.163 ton, sehingga masih diperlukan impor kedelai 537.829 ton. Untuk itu telah dilakukan berbagai upaya untuk meningkatkan produksi kedelai nasional, baik melalui intensifikasi maupun ekstensifikasi. Diantaranya, penanaman kedelai di lahan kering; karena dari 12,8 juta hektar lahan kering baru sekitar 4 % yang ditanami kedelai.

Peranan biofertilisasi nitrogen dalam upaya peningkatan produktivitas kedelai menjadi penting mengingat bahwa penggunaan pupuk sintesis dapat menimbulkan kerusakan lingkungan. Salah satu tipe biofertilisasi nitrogen adalah fiksasi nitrogen dari atmosfer oleh bakteri *Rhizobium japonicum* L. yang bersimbiosis dengan tanaman kedelai (*Glycine max* L.). Tanaman kedelai pada umumnya ditanam pada akhir musim penghujan baik di sawah maupun di lahan kering, sehingga akar tanaman yang mengandung nodul akar berada di lingkungan tanah yang kekurangan air, akibatnya biofertilisasi nitrogen dapat terganggu.



Penggunaan inoculan untuk memperbaiki aktivitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai telah banyak dilakukan. Sumarlim (1986) menyatakan inoculasi *Rhizobium* tidak mempengaruhi hasil kedelai, sedang menurut Anas (1989) pada lahan yang belum pernah ditanami tanaman kedelai, inoculasi dengan *Rhizobium japonicum* mutlak diperlukan. Selanjutnya juga dikemukakan bahwa pada masing-masing jenis *Rhizobium* dikenal strain-strain yang mempunyai karakteristik tertentu. Perbedaan sifat yang penting antara strain-strain itu, terutama disebabkan oleh kemampuannya memfiksasi N_2 pada nodul akar sebagai interaksi strain *Rhizobium japonicum* L. dengan akar tanaman varietas kedelai.

Sebaliknya Sutarto (1989) menyatakan bahwa pemberian inoculum legin, nitragin, dan NC-92 dapat meningkatkan hasil polong kering kacang tanah. Nurhayati, Diatloff, dan Hoult (1988) juga mengemukakan bahwa pada *Macroptilium atropurpureum* dan *Vigna unguiculata* akumulasi nitrogen tertinggi diperoleh bila digunakan inoculan strain indigen. Hal ini dapat dipahami, karena pada umumnya inoculan yang digunakan di Indonesia adalah impor; sehingga ada dugaan strain *Rhizobium* yang terkandung dalam inoculan yang ada saat ini tidak toleran terhadap kondisi lahan yang mengalami cekaman air, kurang efektif memfiksasi nitrogen, dan pengepakan inoculum kurang sempurna; akibatnya kompatibilitas antara *Rhizobium* penambat nitrogen dengan tanaman kedelai menjadi berkurang.

Pada sisi lain ada dugaan terjadi kompetisi antara *Rhizobium* yang diinokulasikan dengan *Rhizobium* indigen. Untuk mengatasi permasalahan itu perlu dilakukan penelitian aspek biodiversitas *Rhizobium* yang hidup di lahan kering yang kondisi ekologinya berbeda. Penelitian semacam itu perlu dilakukan di lahan yang sering ditanami tanaman legum tanpa inokulasi.

Efisiensi penggunaan pupuk nitrogen perlu ditingkatkan, sehubungan dengan kebijaksanaan penghapusan subsidi pupuk. Peningkatan efisiensi itu dapat ditempuh antara lain dengan pemanfaatan kemampuan biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai. Penggunaan biofertilisasi tidak mengakibatkan kerusakan lingkungan agroekosistem seperti yang ditimbulkan oleh pengaruh penggunaan pupuk buatan yang berlebihan. Kebutuhan nitrogen tanaman dapat diatasi dengan cara biologis, akan tetapi kemampuan biofertilisasi nitrogen pada simbiosis *Rhizobium japonicum* L. dengan kedelai di Indonesia masih rendah (8 kuintal/Ha), dan penelitian mengenai upaya perbaikan inokulum yang efektif masih terbatas. Rendahnya kemampuan biofertilisasi nitrogen diduga karena adanya kompetisi *Rhizobium* yang diinokulasikan dengan *Rhizobium* indigen, bakteri atau jamur lainnya yang bersifat antagonis; serta pengaruh jenis tanah dan iklim.

Dengan isolasi dan seleksi *Rhizobium* yang berasal dari lahan kering akan diketahui strain *Rhizobium* yang dominan, kemudian diikuti dengan percobaan di rumah kaca dan di lapangan untuk uji efektivitas pembentukan nodul akar oleh *Rhizobium* pada tanaman kedelai, serta uji kemampuan

adaptasi dan kompatibilitas *Rhizobium* dengan tanaman kedelai. Selanjutnya bila telah diperoleh strain *Rhizobium* unggul, maka diperlukan pengembangan untuk penyebaran strain *Rhizobium* dengan menggunakan media pembawa. Tersedianya inokulum dengan strain *Rhizobium* efektif dan kompatibel dengan varietas kedelai lahan kering yang berbeda kondisi ekologi, merupakan langkah untuk meningkatkan keragaan (*performance*) tanaman kedelai pada berbagai tipe ekologi lahan kering. Untuk itu perlu dilakukan penelitian yang mendalam tentang biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai di lahan yang berbeda ekosistemnya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Adakah biodiversitas *Rhizobium* indigen di lahan kering?
2. Adakah strain dominan untuk ekosistem tertentu?
3. Adakah strain *Rhizobium* dominan itu dapat dipakai sebagai inokulan?
4. Adakah perbedaan keragaan *Rhizobium* dominan terhadap tanaman kedelai?
5. Seberapakah kompatibilitas strain *Rhizobium* spesifik terhadap varietas kedelai?
6. Media pembawa apakah yang dapat digunakan untuk inokulan spesifik tersebut?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk meningkatkan biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai di lahan kering.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mencari biodiversitas strain Rhizobium.
2. Menentukan strain Rhizobium dominan.
3. Menentukan spesivitas Rhizobium pada tanaman kedelai.
4. Mengidentifikasi keragaan strain spesifik pada tanaman kedelai.
5. Mencari kompatibilitas Rhizobium terhadap varietas kedelai.
6. Mencari media yang sesuai untuk inokulan Rhizobium yang spesifik.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan diketahuinya keragaan biofertilisasi nitrogen tanaman kedelai dengan perbedaan kondisi ekologi lahan kering akan dapat memberikan manfaat sebagai berikut.

1. Mengurangi penggunaan pupuk N sintesis, apabila dapat diciptakan pupuk biologi.
2. Meningkatkan produksi kedelai, bila unsur hara N dapat tersedia bagi tanaman melalui biofertilisasi nitrogen.
3. Mengetahui potensi wilayah bagi tanaman kedelai lahan kering.

4. Mengetahui besarnya sumbangan N bagi tanaman kedelai melalui biofertilisasi nitrogen.
5. Mengembangkan model pengemasan inokulan biofertilisasi dengan strain *Rhizobium* spesifik.
6. Memberi peluang penelitian selanjutnya.

1.5 Definisi

Agar tidak menimbulkan tafsiran yang berbeda-beda, maka perlu diberikan definisi sebagai berikut:

- Lahan kering : Lahan yang pengairannya tergantung pada air hujan dan tidak pernah tergenang air.
- Biofertilisasi N : Pemupukan biologi, pemupukan dengan menggunakan bakteri yang dapat mengikat unsur hara N dari udara.
- Strain indigen : Strain bakteri *Rhizobium* yang berasal dari lahan pertanaman kedelai yang belum pernah dilakukan inokulasi.
- Strain eksogen : Strain bakteri *Rhizobium* yang berasal dari hasil import.
- Kompatibilitas : Kesesuaian strain *Rhizobium* dengan tanaman kedelai.
- Biodiversitas : Keanekaragaman hayati.
- Keragaan : Penampilan.

Gambut : Akumulasi bahan organik sebagai hasil perombakan tidak sempurna sisa jaringan tanaman yang mati pada suatu kondisi air yang berlimpah.

Kompos : Hasil perombakan sisa jaringan tanaman yang mati.

BAB 2

Bab 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biofertilisasi Nitrogen

Biofertilisasi nitrogen, yaitu penambatan nitrogen atmosfer oleh simbiosis legum-Rhizobium yang merupakan proses penting bagi tanaman dalam menyediakan nitrogen telah lama diketahui (Fred, Baldwin, dan McCoy, 1932). Secara umum petani telah memanfaatkan biofertilisasi nitrogen melalui praktek sistem rotasi yang menyertakan tanaman legum. Sistem ini menciptakan sistem pertanian yang berkelanjutan (*sustainable cropping system*) yang dapat diterapkan dalam jangka panjang, baik ditinjau dari segi ekonomi maupun ekologi (van der Heide, *dkk.*,1992; van Noordwijk, *dkk.*,1992).

Pengikut-sertaan tanaman legum yang disertai pengembalian sisa tanaman ke dalam tanah pada sistem pertanaman tanaman setahun dengan tanaman ubi kayu atau jagung sebagai tanaman pokok dan pada sistem pertanaman pagar (*hedgerow intercropping systems*), ternyata merupakan sistem pertanian berkelanjutan yang dapat diwujudkan dengan masukan rendah (Sitompul, *dkk.*,1992; Sitompul, Syekhfani, dan van der Heide, 1992; Utomo, Sitompul, dan van der Noordwijk, 1992; Sitompul dan Listyorini, 1992). Perhatian terhadap fiksasi nitrogen biologis menurun dengan tersedianya pupuk buatan nitrogen yang dibuat melalui proses Haber-Bosch (Sanchez, 1976).

Masa krisis energi sekitar tahun 1975 yang mengakibatkan biaya produksi pembuatan pupuk nitrogen meningkat dengan kosekuensi peningkatan harga pupuk, telah mendorong timbulnya perhatian kembali terhadap biofertilisasi nitrogen (Hardy dan Havelka, 1975). Perhatian terhadap biofertilisasi nitrogen semakin besar, setelah timbul keperihatinan akan kerusakan ekosistem perairan akibat penggunaan pupuk kimia yang berlebihan. Di Indonesia di samping alasan tersebut di atas; pemanfaatan biofertilisasi nitrogen sebagai sumber nitrogen menjadi penting setelah kebijakan pemerintah menghapuskan subsidi pupuk (Baharsyah, 1990). Dengan demikian pemanfaatan biofertilisasi nitrogen sangat penting dari segi (1) kesejahteraan petani, yang umumnya golongan berpendapatan rendah, (2) devisa negara, dan (3) kelestarian lingkungan.

2.2 Biodiversitas Rhizobium Lahan Kering

Setiap strain Rhizobium mempunyai sifat dan ciri tertentu, terutama kemampuannya memfiksasi nitrogen yang merupakan hasil interaksi antara *Rhizobium japonicum* L. dengan kedelai.

Populasi Rhizobium dalam tanah selain dipengaruhi oleh faktor fisik, kimia, dan biologi tanah; juga ditentukan oleh sifat genetiknya. Karena setiap strain Rhizobium dalam memfiksasi nitrogen berbeda untuk setiap varietas kedelai (Anas, 1989).

Kelembaban tanah pada tingkat koefisien layu akan menghambat pembentukan nodul akar (Jutono, 1985). Hal ini menunjukkan bahwa populasi *Rhizobium* juga akan berkurang. Selanjutnya Mahmud (1979) mengemukakan bahwa bobot nodul akar dan aktivitas nitrogenase pada tanah lembab 5 sampai 10 kali lebih tinggi dari pada tanah kering. Jumlah nodul akar akan berkurang apabila kelembaban tanah rendah. Karena dengan meningkatnya kelembaban tanah akan memudahkan bakteri *Rhizobium* bergerak ke daerah perakaran tanaman (Jutono, 1985). Sebaliknya, kelembaban tanah yang berlebihan akan mengurangi fiksasi nitrogen (Gardner, *et al.*, 1991). Skerman (1977) menyatakan bahwa kadar air tanah yang terbaik untuk pembentukan dan pertumbuhan nodul akar serta fiksasi nitrogen adalah 75 - 85 % kapasitas lapang.

Umumnya, strain *Rhizobium* tidak dapat berkembang apabila pH tanah kurang dari 5,4 karena proses infeksi pada akar tanaman kedelai juga akan terhambat (Vest, *et al.*, 1973). Tanah yang terlalu asam dapat menimbulkan kurangnya unsur Ca, Mg, K, P dan N yang amat dibutuhkan oleh tanaman kedelai maupun bakteri *Rhizobium*; di samping itu juga dapat menyebabkan keracunan Al dan Mn bagi tanaman kedelai.

Suhu pertumbuhan optimal bagi *Agrobacterium rhizogenes* berkisar antara 25 - 28 °C (Hadiutomo, 1991). Selanjutnya Diebert (1979 dalam Utomo dan Islami, 1994) pertumbuhan tanaman leguminose ditentukan oleh efektivitas simbiosis legum dengan *Rhizobium*. Simbiosis tersebut dipengaruhi oleh faktor

lingkungan, seperti keasaman tanah, suhu, oksigen, dan status unsur hara tanah.

2.3 Lahan Kering

Lahan kering, adalah lahan yang pengairannya bergantung pada air hujan. Lahan kering lebih sering diartikan sepadan dengan *dry land*, yaitu lahan tanpa pengairan dengan laju evapotranspirasi potensial lebih besar dari jumlah air hujan (Unger, 1975). Mulyadi (1977) membuat batasan lahan kering sebagai lahan yang hampir sepanjang tahun tidak tergenang air secara permanen. Akan tetapi lahan kering di Indonesia lebih tepat diartikan sejajar dengan *semi arid tropics*, yaitu daerah rata-rata curah hujan bulanan melebihi rata-rata evapotranspirasi potensial selama 2 - 7 bulan per tahun (El-Swaify *et al.*, 1985).

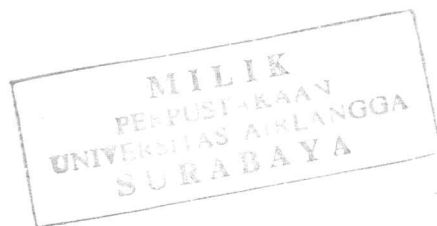
Salah satu masalah utama yang dihadapi adalah keadaan fisik lahan kering yang sudah rusak atau mempunyai potensi sangat besar untuk menjadi rusak. Dalam kondisi seperti ini mutlak diperlukan pemanfaatan sumberdaya lahan kering yang sekaligus memperhatikan aspek konservasi (Satari, 1988). Pada hakekatnya keberhasilan suatu sistem usaha tani di lahan kering, apabila dapat dipenuhi persyaratan-persyaratan agroekosistem, terutama kesesuaian tanah dan tanaman serta ketersediaan air. Persesuaian syarat agroekologis menjadi landasan pokok dalam pengembangan komoditi pertanian lahan kering. Penyimpangan dari persyaratan bukan hanya akan menimbulkan

kerugian ekonomis saja, tetapi juga akan mengakibatkan kemerosotan kualitas sumberdaya lahan (Soemarno, 1988).

Faktor iklim, terutama bila suhu yang relatif tetap pada lahan kering tidak merupakan faktor pembatas, apabila ketersediaan air bagi tanaman dalam keadaan cukup. Namun umumnya, lahan kering jumlah curah hujan yang cukup untuk memenuhi kebutuhan tanaman secara optimal hanya terbatas pada bulan-bulan tertentu (Sitompul, 1991). Oleh sebab itu pengusahaan lahan kering dilakukan pada akhir musim hujan.

Sifat tanah lahan kering, terutama reaksi tanah yang masam, kandungan unsur kimia tanah, dan sifat fisik tanah sering sebagai faktor pembatas utama bagi pertumbuhan tanaman lahan kering (Satari *et al.*, 1977). Selanjutnya N total pada jaringan tanaman kedelai menunjukkan bahwa proses pengikatan N dari udara melalui nodul akar, ternyata lebih peka terhadap kekeringan dibandingkan dengan proses serapan NO_3 dari tanah (Masyhudi, 1991).

Intensifikasi usaha tani lahan kering dapat dilakukan dengan jalan pemilihan kultivar, pengaturan pola tanam, dan pemeliharaan usaha tani ternak (Anwarhan, Supriyadi dan Sugandi, 1981). Pengembangan lahan kering hendaknya ditujukan untuk mengendalikan erosi sekaligus meningkatkan dan melestarikan produktivitasnya.



2.4 Simbiosis *Rhizobium japonicum* L. - Kedelai

Tanaman kedelai, seperti halnya dengan tanaman legum lainnya, mampu mengikat nitrogen atmosfer melalui simbiosis dengan bakteri *Rhizobium japonicum* L. Namun jumlah nitrogen yang diikat belum dapat sepenuhnya memenuhi kebutuhan tanaman. Keadaan demikian tidak hanya terbatas pada tanaman kedelai, tetapi juga pada kebanyakan tanaman legum lain.

Aktivitas *Rhizobium* dalam memfiksasi nitrogen juga ditentukan oleh perbandingan C dan N. Kismono (1979) menyatakan bahwa karbohidrat sangat diperlukan oleh bakteri *Rhizobium*, karena itu perbandingan C dan N akan menentukan populasi bakteri *Rhizobium*. Saraswati, Gunarto, dan Hastuti (1993) mengemukakan bahwa dengan pemberian bahan organik berupa pupuk kandang yang disertai dengan inokulasi *Rhizobium* dapat meningkatkan bobot kering tanaman kedelai.

Giller dan Wilson (1991) menduga fiksasi nitrogen tanaman legum biji-bijian di daerah tropik seperti yang tercantum pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Fiksasi Nitrogen Oleh Tanaman Legum

Macam Legum	Fiksasi N		Waktu Pengamatan (hari)	Negara
	(kg/Ha)	(%)		
<i>Arachis hypogea</i>	68-116	58-78	110	Brazil
	101	-	-	Ghana
	100-152	86-92	89	India
	139-206	55-64	120	Australia
<i>Cajanus cajan</i>	68-88	88	-	India
<i>Cicer arietinum</i>	60-84	60-80	160	Australia
<i>Glycine max</i>	26-57	78-87	64-73	Thailand
	114-188	84-87	66	Nigeria
	85-154	70-80	110	Brazil
<i>Phaseolus vulgaris</i>	25-65	37-68	60-90	Brazil
	74-91	43-52	74	Kenya
	18-36	32-47	56	Kolombia
<i>V. radiata</i>	64-66	89-90	57-64	Thailand
<i>V. mungo</i>	119-140	95-98	66	Thailand
<i>V. unguiculata</i>	47-105	61-76	66	Nigeria
	9-51	32-74	110	Brazil

Giller dan Wilson, 1991

Fiksasi nitrogen pada tanaman kedelai yang ditanam di akhir musim penghujan sebagaimana umumnya dilakukan di Indonesia akan semakin rendah, karena pada kondisi kekurangan air laju fotosintesis akan menurun. Walaupun reaksi reduksi N_2 yang dikatalisis oleh nitrogenase cukup toleran terhadap kondisi kekurangan air, namun potensial air daun tidak lebih dari -0.7 MPa (Sitompul, Silisbury, dan Aspinal, 1988).

Selanjutnya dengan keterbatasan penyediaan karbohidrat ke nodul akar, akan menekan laju fiksasi nitrogen. Hal ini dikemukakan oleh Sitompul (1989)

faktor utama yang mengontrol biofertilisasi nitrogen dalam keadaan kekurangan air adalah penyediaan fotosintat dari tajuk tanaman.

Kebutuhan tanaman akan nitrogen dapat dipenuhi melalui biofertilisasi nitrogen, apabila pembentukan nodul akar yang aktif dan efisien mengikat nitrogen (Hardy dan Havelka, 1975). Pembentukan nodul akar yang efektif dan efisien, apabila dalam tanah terdapat cukup bakteri *Rhizobium* dari strain yang sesuai. Sementara di dalam tanah pada umumnya terdapat berbagai strain *Rhizobium* yang efisien dan tidak efisien. Salah satu faktor utama yang menentukan infeksi akar tanaman oleh bakteri adalah tingkat populasi bakteri. Karena itu, untuk menjamin tanaman diinfeksi oleh bakteri strain yang efektif dan efisien, tanah perlu diinokulasi dengan inokulum yang diinginkan yaitu yang mengandung strain *Rhizobium* dengan sifat-sifat tersebut.

Penggunaan inokulum seperti legin dan rhisogin telah mulai diterapkan untuk meningkatkan produksi kedelai di Indonesia. Namun kemampuan inokulum tersebut dalam penyediaan nitrogen di lapangan belum diketahui dengan jelas. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman kedelai tidak tanggap terhadap inokulasi dengan menggunakan inokulum yang tersedia sekarang (Pasaribu, *dkk.*, 1989; Suryantini, Harsono, dan Adisarwanto, 1990). Menurut Saraswati, Gunarto, dan Hastuti (1993) hal itu terjadi karena adanya kompetisi antara *Rhizobium* yang diinokulasikan dengan *Rhizobium* indigen, bakteri atau jamur lainnya yang bersifat antagonis; keadaan tanah dan iklim.

Hasil penelitian di berbagai negara lain menunjukkan bahwa kedelai merupakan tanaman yang memberikan tanggapan positif dan konsisten terhadap inokulasi (Davis, Halliday, dan Cady, 1984; Graham, 1985). Graham, *dkk.* (1988) menyimpulkan bahwa kualitas inokulum merupakan salah satu masalah di daerah tropis yang kemungkinan disebabkan tempat penyimpanan yang tidak tepat pada jaringan distribusi sampai pada petani. Saraswati, Gunarto, dan Hastuti (1993) mengemukakan bahwa untuk meningkatkan kemampuan pembentukan nodul akar dan penambatan nitrogen melalui inokulasi *Rhizobium* yang efektif, *Rhizobium* tersebut harus mampu mempertahankan hidupnya dalam rhizosfer sampai ke perakaran.

2.5 Faktor Penentu Aktivitas Biofertilisasi Nitrogen

Biosintesis nitrogen merupakan hasil interaksi antara mikro simbion (bakteri) dengan makro simbion (tanaman) pada tingkat molekuler (Dilworth dan Glenn, 1984). Kemampuan simbiosis legum-*Rhizobium* yang rendah dalam memfiksasi nitrogen dan tanggapan tanaman yang rendah terhadap inokulasi berhubungan dengan sifat kedua simbion (Jutono, 1985). Ada tiga hal yang menyebabkan rendahnya biofertilisasi nitrogen, yaitu (1) strain yang terkandung pada inokulum kurang efektif memfiksasi nitrogen, (2) strain inokulum kurang kompatibel dengan varietas kedelai yang digunakan, dan (3) strain inokulum tidak toleran terhadap kondisi lahan kering.

Sifat makro simbiosis yang dapat menjadi penyebab rendahnya efektivitas biofertilisasi nitrogen adalah penyediaan karbohidrat oleh tanaman pada nodul akar. Karbohidrat digunakan sebagai sumber energi ATP (adenosine triphosphat), elektron oleh reduktan, dan kerangka asam amino. Apabila karbohidrat dalam keadaan kurang, maka jumlah nitrogen yang dapat direduksi akan sedikit. Dilworth dan Glenn (1984) menyimpulkan dari beberapa hasil penelitian bahwa sel tanaman dapat mengatur tipe dan jumlah senyawa karbohidrat yang dialokasikan ke bakteroid dalam *Rhizobium*. Oleh karena itu, tanaman yang mempunyai laju fotosintesis tinggi dan yang lebih toleran terhadap kondisi cekaman air, akan lebih mampu memfiksasi nitrogen daripada tanaman dengan sifat yang sebaliknya.

Dalam proses reduksi N_2 menjadi NH_3 yang dikatalisis nitrogenase, proton juga direduksi menjadi H_2 . Reduksi satu molekul N_2 akan diikuti dengan reduksi satu molekul H^+ . Reaksi reduksi dalam pembentukan satu molekul NH_3 membutuhkan sekitar 12 molekul ATP, di mana 4 molekul ATP digunakan untuk mereduksi proton. Hal ini menunjukkan terjadi pemborosan energi, karena hidrogen tidak bermanfaat dalam proses reduksi nitrogen. Hasil penelitian Schubert dan Evans (1976) menunjukkan bahwa 40 - 60 % elektron mengalir ke nitrogenase yang digunakan untuk mereduksi N_2 . Selanjutnya dikemukakan bahwa evolusi hidrogen banyak mengurangi reduksi nitrogen terutama pada sistem penyediaan fotosintat terbatas. Salah satu implikasi dari sifat ini untuk kondisi di Indonesia, di mana tanaman legum diusahakan umumnya pada akhir

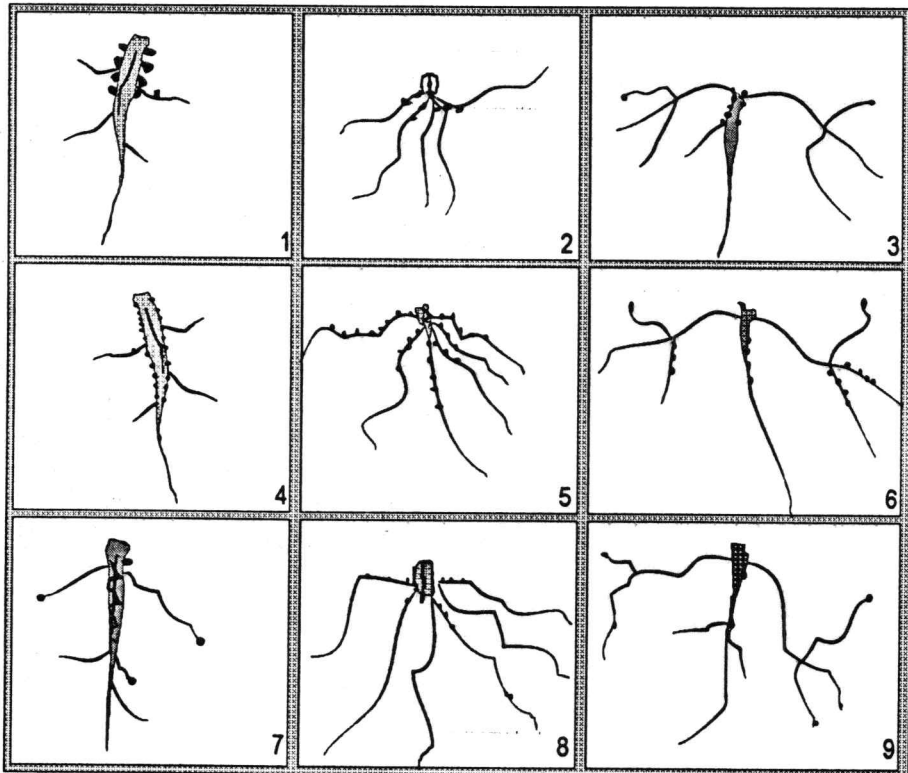
musim hujan; akan mengakibatkan aktivitas fotosintesis sering terhambat karena kekurangan air. Peristiwa evolusi hidrogen dapat menjadi faktor pembatas penyediaan nitrogen melalui biofertilisasi nitrogen. Ada beberapa jenis makrosimbion yang dapat mengatasi masalah ini, seperti tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L.) dan kacang hijau (*Phaseolus aureus* L.). Simbiosis ini mampu membentuk enzim hidrogenase yang dapat mendaur ulang H_2 yang dapat digunakan kembali sebagai sumber elektron. Sehingga efisiensi penggunaan fotosintat pada makrosimbion ini sangat tinggi.

Simbiosis pada tanaman kedelai dengan inokulum yang tersedia sekarang umumnya tidak mengandung strain *Rhizobium* yang mampu membentuk enzim hydrogenase, sehingga tidak memiliki kemampuan untuk mendaur ulang hidrogen. Perbaikan kemampuan mendaur ulang hidrogen pada tanaman akan dapat memperbaiki aktivitas biofertilisasi nitrogen. Hal ini dapat ditempuh melalui seleksi simbion yang dapat menggunakan energi yang disediakan fotosintesis secara efisien. Pendekatan ini dimulai oleh Schubert dan Evans (1976) dengan hasil yang positif. Pendekatan lain yang mungkin dapat dilakukan dengan bioteknologi melalui introduksi segmen gen yang mengontrol sintesis enzim dari suatu jenis simbion ke yang lain.

Kompatibilitas kedua simbion sangat menentukan keberhasilan proses biofertilisasi nitrogen yang merupakan resultante sifat dari ke dua simbion (Dowdle dan Bohlool, 1985). Hasil penelitian Lawn dan Bushby (1982) menunjukkan bahwa genotipe tanaman dan strain berpengaruh terhadap

aktivitas biofertilisasi nitrogen. Pengaruh genotipe tajuk dan akar pada percobaan "Reciprocal root shoot grafts" dari *Vignase unguaris*, *Vigna mango*, dan *Vigna umbrella* terhadap aktivitas nodul akar total berkaitan lebih erat dengan berat segar nodul akar dari bagian aktivitas nodul akar spesifik. Pengaruh genotipe tajuk tersebut yang juga telah diamati sebelumnya pada tanaman kedelai adalah akibat perbedaan dalam fotosintesis (Lawn, Fisher, dan Brun, 1974).

Sementara itu pengaruh strain *Rhizobium* dan genotipe akar terhadap aktivitas biofertilisasi nitrogen total berhubungan dengan aktivitas nodul akar spesifik. Pabendon *et al.* (1991) mengemukakan bahwa pola sebaran nodul akar kedelai akan menentukan aktivitas fiksasi nitrogen. Nodul besar yang menyebar pada akar utama mampu memfiksasi nitrogen yang lebih tinggi dibandingkan dengan pola penyebaran nodul lainnya. Oleh karena itu, menurut Somasegaran *et al.* (1982) ada 9 pola penyebaran nodul pada akar tanaman kedelai (Gambar 2.1). Hasil penelitian Balatti dan Puepke (1990) mendukung peranan genotipe akar, tetapi belum dapat mengidentifikasi senyawa yang terlibat langsung mengontrol kompatibilitas simbiosis tersebut.



Sumber : Somasegaran *et. al.* (1982)

Gambar 2.1 Pola Sebaran Nodul Akar Kedelai

Faktor lain yang sering mengakibatkan kegagalan inokulasi adalah strain inokulum sensitip terhadap kandungan nitrogen tanah. Salah satu masalah biofertilisasi nitrogen pada umumnya bahwa proses ini sangat sensitip terhadap nitrogen. Jumlah nitrogen yang ada dalam tanah mempunyai hubungan yang berbanding terbalik dengan aktivitas fiksasi nitrogen (Silsbury dan Cathpoole, 1984). Pada hal lahan areal penanaman kedelai seperti sawah dapat mengandung nitrogen relatif tinggi yang berasal dari sisa pupuk yang diberikan pada tanaman padi yang ditanam sebelumnya. Karena itu strain yang toleran terhadap kandungan nitrogen tanah yang relatif tinggi juga diperlukan.

2.6 Peranan Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kedelai

Nitrogen yang tersedia bagi tanaman dapat berupa nitrat (NO_3^-) atau amonium (NH_4^+) yang kemudian di dalam tubuh tanaman dikonversi ke bentuk asam amino yang merupakan bahan dasar dari sintesis protein, enzim, dan koenzim (Sitompul, 1991). Selanjutnya Sarief (1986) mengemukakan bahwa nitrogen merupakan unsur hara utama bagi pertumbuhan dan produksi tanaman, karena merupakan penyusun dari semua protein dan asam nukleat, serta protoplasma. Demikian pula Black (1967) menyatakan nitrogen merupakan unsur hara tanah yang penting bagi pertumbuhan tanaman, dan fungsi utama nitrogen sebagai bahan dasar pembentukan protein, isi sel, dan klorofil.

Kekahatan nitrogen dapat menimbulkan gangguan pembentukan protein dan hambatan pertumbuhan; gejala visual yang tampak adalah klorosis yang dapat menurunkan laju fotosintesis dan akhirnya menurunkan hasil (Sunarlim dan Gunawan, 1989). Hasil penelitian Kang (1975) menunjukkan bahwa dengan penambahan unsur hara nitrogen dalam bentuk pupuk pada tanaman kedelai ternyata dapat meningkatkan hasil biji kedelai.

Di pihak lain, Utomo dan Islami (1994) mengemukakan unsur hara nitrogen dalam bentuk amonium atau nitrat umumnya pada tanaman legum akan mempengaruhi pembentukan nodul akar dan fiksasi nitrogen. Namun dikemukakan juga, bahwa pada beberapa jenis legum, meskipun telah dapat memfiksasi nitrogen lewat hubungan simbiosis dengan bakteri *Rhizobium* ternyata masih diperlukan penambahan unsur nitrogen terutama pada awal per-

tumbuhan. Selanjutnya hasil penelitian Sunarlim dan Gunawan (1989) dengan peningkatan pemupukan N dapat meningkatkan bobot tanaman, mengurangi jumlah dan bobot nodul akar, dan tidak berpengaruh terhadap bobot biji tanaman kedelai. Ternyata, unsur nitrogen yang diberikan pada tanaman kedelai hanya berfungsi sebagai pemacu terbentuknya nodul akar; sedangkan pada beberapa jenis legum nitrat dan amonium dapat mengganggu pembentukan benang-benang infeksi oleh bakteri *Rhizobium* yang pada akhirnya akan menurunkan efisiensi fiksasi nitrogen (Utomo dan Islami, 1994). Duong *et al.* (1984) (*dalam* Giller dan Wilson, 1991) mengemukakan bahwa inokulasi *Rhizobium* tanpa pemberian pupuk nitrogen dapat meningkatkan N pada biji, protein, dan hasil biji (Tabel 2.2).

Tabel 2.2. Respon Kedelai terhadap Pemupukan N dan Inokulasi

Perlakuan (kg N/Ha)	N Biji (kg/Ha)	N tanaman (kg/Ha)	Protein biji (%)	Hasil Biji (kg/Ha)
0	17	1	36	290
20	19	-	31	385
40	29	8	26	680
60	24	8	28	870
80	32	14	28	1140
0 + Inokulasi	185	15	40	2870

(Duong, *et.al.*, 1984 *dalam* Giller dan Wilson, 1991)

2.7 Keragaan Ekologi

2.7.1 Ketinggian Tempat

Ketinggian tempat dari permukaan laut, merupakan salah satu faktor yang menentukan penyebaran suatu organisme (Odum, 1968). Dalam bidang klimatologi pertanian pembagian wilayah berdasarkan ketinggian tempat dapat dikelompokkan menjadi 3 daerah, yaitu (1) dataran rendah, 0 hingga 400 meter dari permukaan laut, (2) dataran sedang/menengah, 400 hingga 800 meter dari permukaan laut, dan (3) dataran tinggi, lebih dari 800 meter dari permukaan laut. Perubahan ketinggian tempat sering dikaitkan dengan perubahan suhu, sehingga faktor suhu menjadi petunjuk bagi penyebaran suatu organisme (Oldeman, 1977). Selanjutnya Adisarwanto dan Sumarno (1993) mengemukakan bahwa pengembangan tanaman kedelai pada lahan kering di dataran tinggi, mempunyai peluang untuk memenuhi kebutuhan benih kedelai yang mempunyai kualitas tinggi; sedangkan untuk daerah dataran rendah dan sedang merupakan daerah yang potensial bagi pengembangan produksi kedelai.

Saat ini sudah tersedia banyak varietas kedelai lahan kering, di antaranya adalah varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci. Menurut Anas (1989) biofertilisasi nitrogen ditentukan oleh strain *Rhizobium* dan varietas kedelai. Oleh karena itu, adaptasi dan kompatibilitas strain *Rhizobium* dengan varietas kedelai akan menentukan kemampuan biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai.



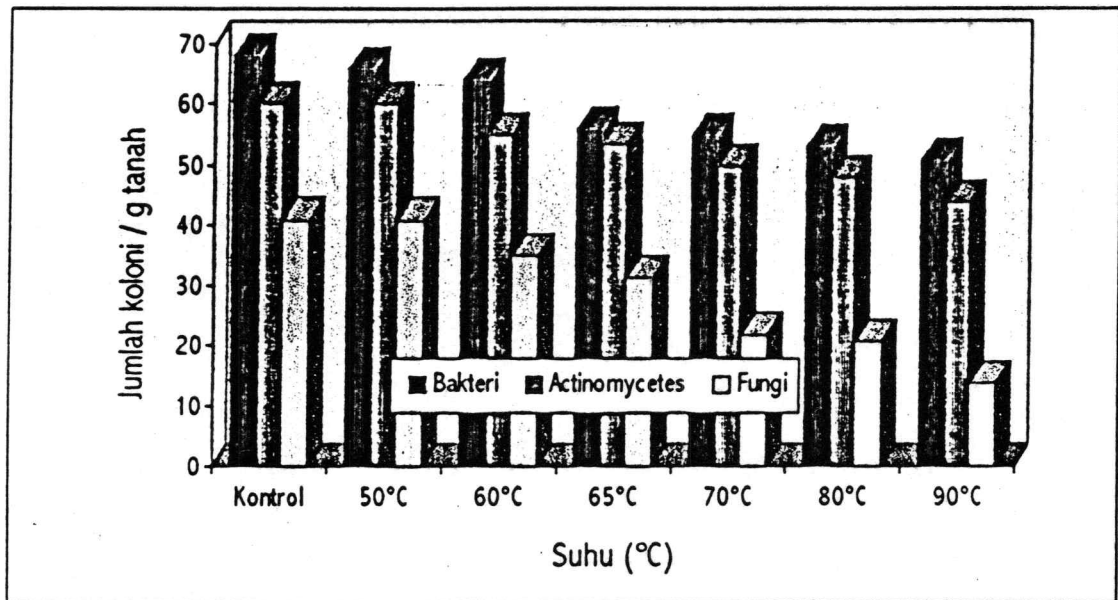
2.7.2 Aerasi dan drainase

Struktur tanah yang baik memungkinkan adanya udara yang diperlukan oleh bakteri. Kelembaban tanah mempengaruhi pembentukan nodul akar, pertumbuhan tanaman, dan total nitrogen tanaman (Freire, 1982). Kandungan air tanah, efisiensi serapan P dan pembentukan nodul akar berkorelasi positif. Berat nodul akar dan aktivitas bakteri pada tanah lembab 5 hingga 10 kali lebih tinggi daripada lahan kering. Kadar air yang rendah akan mengganggu peranan air dalam memfiksasi nitrogen (Mahmud, 1979). Bila nodul akar kehilangan air sampai 80%, maka fiksasi nitrogen akan terhenti. Kadar air tanah yang terbaik bagi perkembangan bakteri adalah 75 hingga 85% kapasitas lapang (Skerman, 1977). Selanjutnya Miller, *et al.* (1947) (*dalam* Syekhfani, 1986) mengemukakan bahwa kadar air tanah optimum bagi pertumbuhan jasad mikro adalah 50 hingga 70% KPA (kapasitas penahanan air), yaitu kurang lebih sama dengan kebutuhan tanaman.

2.7.3 Suhu Tanah

Suhu tanah optimal untuk *Rhizobium* sekitar 30° C. Penurunan suhu sebanyak 5° C di bawah optimal menunjukkan penurunan jumlah nitrogen yang diikat sebanyak 4,5% (Burns dan Hardy, 1975). Selanjutnya suhu untuk kehidupan jasad mikro tanah beragam tergantung kelompok dan jenisnya, tetapi umumnya suhu optimal secara keseluruhan adalah 35° C (Syekhfani, 1986).

Untuk mendapatkan gambaran mengenai pengaruh suhu terhadap kehidupan jasad mikro tanah, disajikan pada Gambar 2.2 (Bollen, 1969).



Gambar 2.2 Pertumbuhan Jasad Mikro Setelah Pemanasan Tanah Selama 30 Menit (Bollen, 1969)

Dari Gambar 2.2 tersebut bahwa makin meningkatnya suhu tanah, maka jumlah koloni makin berkurang; meskipun pengurangannya makin kecil yang diduga akibat kemampuan adaptasi jasad mikro. Pola penurunan koloni memberi petunjuk bahwa bakteri lebih cepat mengadakan adaptasi dibandingkan dengan aktinomisetes, sedangkan aktinomisetes lebih cepat dari jamur.

2.7.4 Derajat Keasaman Tanah

Derajat keasaman tanah optimal untuk *Rhizobium* adalah 6,8 (Jutono, 1985). Derajat keasaman tanah dapat mengurangi jumlah nodul akar,

penurunan pH 5,5 menjadi pH 4,5 akan mencegah terjadinya nodul akar. Reaksi tanah yang terlalu masam dapat menimbulkan masalah, yaitu berkurangnya unsur kalsium, magnesium, kalium, fosfor, dan nitrogen. Sementara unsur mangan, aluminium, dan ion hidrogen terdapat dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan keracunan bagi tanaman. Defisiensi kalsium dapat mengurangi kemampuan tanaman untuk membentuk nodul akar. Jika kalsium cukup tersedia, infeksi akar segera akan terjadi (Muns, 1970). Oleh karena itu, pengapuran pada tanah-tanah yang masam sangat diperlukan untuk pertumbuhan bakteri *Rhizobium*.

2.7.5 Unsur Hara

Pada tanaman legum, peranan nitrogen tidak hanya berpengaruh pada tanamannya saja, tetapi berpengaruh pula terhadap fiksasi nitrogen. Dalam jumlah yang sedikit, nitrogen dalam tanah berpengaruh positif terhadap pembentukan nodul akar dan aktivitas nitrogenase; sebaliknya dalam jumlah yang banyak akan menghambat. Pada beberapa legum, senyawa nitrogen anorganik dalam jumlah kecil memang sering diperlukan untuk mengatasi kekurangan nitrogen pada awal pertumbuhan, terutama sebelum tanaman dapat mengandalkan kebutuhan nitrogen dari fiksasi nitrogen oleh nodul akar (Jutono, 1985). Selanjutnya Surowinoto (1977) menyatakan bahwa dengan penambahan pupuk N dapat menaikkan jumlah N bahan kering tanaman, tetapi menurunkan N-fiksasi oleh *Rhizobium* pada kedelai varietas Clark-63.

Whyte, *et al.* (1953) menyatakan bahwa perbandingan C dan N akan mempengaruhi pengikatan nitrogen dari udara oleh bakteri *Rhizobium*, karena nitrogen hanya akan diikat oleh bakteri *Rhizobium* apabila perbandingan C dan N seimbang. Demikian pula halnya yang dikemukakan oleh Kismono (1979) bahwa karbohidrat sangat diperlukan oleh bakteri *Rhizobium*. Hal ini tampak bila ditambahkan karbohidrat ke dalam media tumbuh, maka pengikatan nitrogen oleh bakteri *Rhizobium* akan meningkat.

Pemupukan P dan K dapat meningkatkan hasil biji dan berat nodul akar kedelai varietas Clark-63 (Kasli, 1980). Pemberian pupuk P tanpa pengapuran pada tanah masam tidak akan mengurangi pengaruh buruk Al dan Mn (Freire, 1982). Saraswati, Gunarto, dan Hastuti (1993) mengemukakan pemberian arang sekam dengan pupuk kandang 120 gram per pot yang disertai inokulasi rhisogin mempunyai kecenderungan meningkatkan berat kering tanaman.

2.8 Inokulasi *Rhizobium* pada Tanaman Kedelai

Inokulasi *Rhizobium* pada tanaman kedelai perlu dilakukan, terutama pada lahan-lahan yang belum pernah ditanami tanaman kedelai. Menurut Anas (1979) tanaman kedelai akan efektif membentuk nodul akar, apabila *Rhizobium japonicum* dapat bersimbiosis dengan tanaman kedelai. Lebih lanjut juga dikemukakan bahwa biofertilisasi nitrogen akan efisien bila strain *Rhizobium* sesuai dengan varietas kedelai. Nurhayati, Diatloff, dan Hoults (1988) mengemukakan bahwa tanaman legum di Indonesia umumnya diinokulasi dengan inokulum

impur, akibatnya daya adaptasi, kompetitif, dan kompatibilitasnya menjadi rendah. Ternyata pada tanaman *Macroptilium atropurpureum* dan *Vigna unguiculata* akumulasi nitrogen tertinggi yang diinokulasi dengan strain *Rhizobium* indigen (Tabel 2.3).

Tabel 2.3 Hasil Berat Kering dan Jumlah Nodul Akar Akibat Inokulasi

Jenis Tanaman	Strain	Berat Kering (mg/pot)	Jumlah Nodul/pot
<i>V. unguiculata</i>	CB756	38	54
	CB627	40	62
	CB1923	45	52
	BPT105a	55	75
	BPT105b	44	70
	BPT117	66	52
<i>M. atropurpureum</i>	CB627	11	26
	CB756	11	40
	CB1923	10	32
	BPT105b	14	36
	BPT105a	14	43
	BPT113b	15	45

Keterangan : CB = *Rhizobium* exogen (inokulum impor)
 BPT = *Rhizobium* indigen (inokulum lokal)

Nurhayati, Diatloff, dan Hoult, 1988

Giller dan Wilson (1991) menyatakan bahwa apabila inokulasi *Rhizobium* disertai dengan pemberian DAP (*diamonium phosphate*) 100 kg/Ha dapat meningkatkan hasil biji kedelai, seperti disajikan pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Hasil Inokulasi Tanaman Kedelai di Rwanda

Wilayah dan Musim	Hasil biji (kg/Ha)		
	Tanpa Inokulasi	Inokulasi	Inokulasi+DAP
Butare 1985	846	1249	1399
Butare 1986	1258	1805	1810
Rwanda 1985	944	1367	1508
Rwanda 1986	1120	1577	1603

Giller dan Wilson, 1991

2.9 Cara Pengembangan Inokulum

Rhizobium perlu diawetkan untuk mencegah kontaminasi, mutasi, atau kematian. Menurut Brockwell (1982) ada tiga cara penyimpanan yang lazim dilakukan di laboratorium, yaitu penyimpanan dingin dalam tabung, pengeringan pada *bed porselin*, dan *liofilisasi*. Cara pertama adalah cara yang sederhana, dan yang terakhir merupakan cara yang kompleks. Jangka waktu strain dapat disimpan dalam keadaan stabil dan hidup, terlama *liofilisasi*, kemudian pengeringan pada *bed porselin*, dan tersingkat penyimpanan dingin dalam tabung.

2.9.1 Penyimpanan dalam Tabung

Untuk penyimpanan Rhizobium jangka pendek dan untuk memelihara koleksi, strain murni dibiakkan dalam tabung tertutup yang berisi YMA (*yeast manitol agar*) miring. Cara ini dilakukan dengan penyimpanan dalam *refrigerator* selama 2 hingga 3 bulan. Tabung tersebut harus ditutup dengan rapat untuk

menghindari kekeringan agar yang ada dalam tabung. Di samping itu, juga dapat dilakukan dengan penambahan minyak mineral steril untuk menutup permukaan agar, supaya dapat mencegah kekeringan agar yang mengandung strain *Rhizobium*.

2.9.2 Penyimpanan dalam *Porselin bead*

Jika alat pengering dingin tidak tersedia, alternatif yang dapat digunakan untuk penyimpanan dalam jangka pendek, adalah dengan mengeringkan biakan pada *porselin bead*. Cara ini dapat menyimpan biakan selama 3 tahun dengan penyimpanan pada suhu 4 °C.

2.9.3 Liofilisasi

Cara penyimpanan jangka panjang yang umum digunakan untuk strain *Rhizobium* adalah dengan pengeringan dingin. *Rhizobium* dimasukkan dalam larutan pepton sukrose (masing-masing 10% dan 20%, disterilkan secara terpisah lalu dicampur) dan dikeringkan pada suhu 10°C dan steril di dalam ampul yang telah berisi label. Ampul ditutup dalam keadaan vacuum dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

2.9.4 Media Pembawa

Ketiga cara tersebut di atas merupakan cara penyimpanan strain *Rhizobium* yang umumnya dilakukan di laboratorium, oleh karena itu untuk pengembangan ke petani diperlukan media pembawa sebelum diinokulasikan

ke lahan petani kedelai. Di antara media pembawa yang telah digunakan untuk inokulan *Rhizobium*, menurut Somasegaran dan Hoben (1985) adalah gambut, tanah yang kaya bahan organik (kompos), arang, dan lignit (paku-pakuan, daun pinus).

Pada pengembangan mikoriza, campuran tanah dengan humus merupakan media pembawa yang telah digunakan di Indonesia, Filipina, Thailand, dan Malaysia (Imas, Hadioetomo, Gunawan, dan Setiadi, 1989). Lebih lanjut dikemukakan bahwa perbandingan yang dipakai antara tanah bermikoriza dengan media pot bervariasi antara 1 : 4 sampai 1 : 10. Sama halnya dengan pupuk OST (*organic soil treatment*) yang telah banyak dipasarkan juga merupakan pupuk biologi yang dapat meningkatkan kesuburan tanah, karena mengandung organisme yang mampu menggiatkan kesuburan tanah. Legin dan rhisogin merupakan pupuk biologi dengan media pembawa yang mengandung strain *Rhizobium*, sebelum digunakan oleh petani.

Penggunaan teknik pengembangan inokulum yang perlu diperhatikan, antara lain jenis inokulum yang dipakai, penguasaan teknik pengembangan inokulum, dan waktu pemberian inokulum (Imas, Hadioetomo, Gunawan, dan Setiadi, 1989). Tanah kering yang steril juga dapat digunakan untuk memelihara biakan *Rhizobium*, variasi yang terjadi dengan menggunakan kultur tanah bergantung pada perbanyakan dari *Rhizobium* setelah penambahan biakan ke tanah (Anas, 1989).

Menurut Roughley dan Vincent (1967) *dalam* Anas (1989) tanah yang ber-pH netral dan bertekstur lempung dengan kadar air tidak kurang dari 10%, merupakan media pembawa yang baik untuk Rhizobium. Demikian pula Somasegaran dan Hoben (1985) menyatakan bahwa kemampuan media pembawa dalam menahan air tidak kurang dari 50% (*water holding capacity*) dengan derajat keasaman media berkisar antara 6,5 hingga 7. Dalam pengaturan pH dapat dilakukan dengan penambahan CaCO_3 pada media pembawa yang digunakan.

BAB 3

Bab 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Kendala utama peningkatan produksi kedelai di lahan kering adalah ketersediaan air terbatas dan miskin akan unsur hara, terutama unsur nitrogen. Untuk menanggulangi ketersediaan air bagi tanaman kedelai lahan kering dapat dilakukan penanaman kedelai di akhir musim penghujan, sedangkan untuk mengatasi keterbatasan unsur hara N pada lahan kering dapat dilakukan dengan pemupukan, baik melalui pupuk sintesis maupun pupuk organik.

Pemupukan dengan pupuk sintesis mempunyai kelebihan dalam segi kimia, akan tetapi mempunyai beberapa kelemahan. Diantaranya bila dalam jumlah berlebihan dapat mengganggu ekosistem tanah dan perairan dan hanya dapat mengatasi kesuburan dari segi kimia dalam jangka pendek. Sebaliknya penggunaan pupuk biologi mempunyai kemampuan dari segi biologi, fisik, dan kimia. Selain itu penggunaan pupuk biologi yang berlebihan tidak berdampak negatif terhadap ekosistem tanah dan perairan, bermanfaat dalam meningkatkan kesuburan tanah jangka panjang. Pemupukan biologi dapat dilakukan biofertilisasi nitrogen yang merupakan kegiatan simbiosis tanaman legum dengan bakteri *Rhizobium*.

Kedelai merupakan tanaman legum yang mampu mengikat nitrogen dari udara melalui simbiosisnya dengan bakteri *Rhizobium japonicum* L. Biofertilisasi

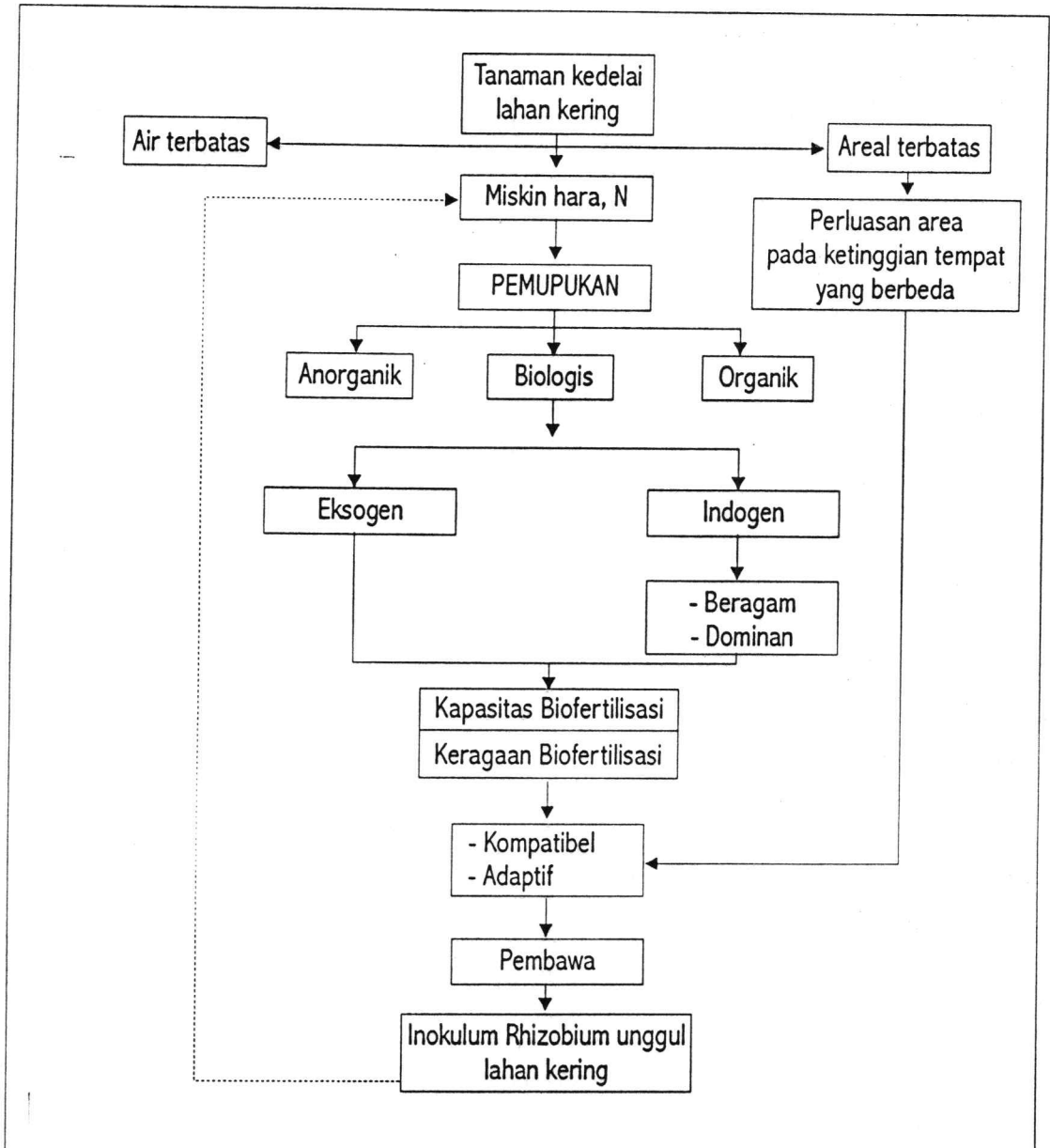
nitrogen merupakan cara yang baik dalam menyediakan N bagi tanaman kedelai. Untuk meningkatkan biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai dapat ditempuh dengan inokulasi Rhizobium. Inokulasi Rhizobium dapat dilakukan dengan Rhizobium eksogen maupun Rhizobium indigen. Inokulasi Rhizobium eksogen pada tanaman kedelai telah banyak dilakukan, akan tetapi hasilnya masih beragam. Karena inokulan Rhizobium eksogen tidak kompatibel dengan varietas kedelai, tidak adaptif terhadap lingkungan, dan terjadi kompetisi dengan Rhizobium indigen.

Biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai tergantung pada (1) keefektifan dan efisiensi dari strain Rhizobium yang berperan, (2) kemampuan bersaing dari Rhizobium yang berperan terhadap populasi Rhizobium yang ada dalam tanah (indigen), (3) ketersediaan hara bagi legum, dan (4) faktor lingkungan (Mahmud, 1983).

Pembentukan nodul akar oleh suatu strain Rhizobium yang diinokulasikan pada tanaman legum di luar spesifitasnya dapat dilakukan, akan tetapi tidak efektif memfiksasi nitrogen. Strain Rhizobium spesifik dapat membentuk nodul akar dan memfiksasi nitrogen apabila kompatibel dengan varietas kedelai. Kesesuaian strain Rhizobium dengan varietas kedelai juga ditentukan oleh kondisi ekologiannya. Sehingga simbiosis kedelai dengan strain Rhizobium akan berbeda pada ekosistem lahan kering dengan ketinggian tempat yang berbeda.

Strain Rhizobium indigen merupakan strain yang telah beradaptasi dengan lingkungan. Kompatibilitas varietas kedelai dengan strain Rhizobium

akan ditentukan oleh kesesuaian dari masing-masing varietas kedelai lahan kering yang telah tersedia. Secara skematis kerangka konseptual dapat dijelaskan pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

Melalui rekayasa mikrobiologi dengan observasi dan seleksi strain *Rhizobium* indigen pada berbagai tipe ekologi lahan kering akan diperoleh strain dominan. Strain dominan diharapkan mempunyai kemampuan mengikat nitrogen dari udara melalui fiksasi nitrogen. Jumlah nitrogen yang dapat difiksasi dari udara oleh tanaman kedelai merupakan kapasitas biofertilisasi nitrogen melalui simbiosisnya dengan *Rhizobium*. *Rhizobium* indigen akan menentukan keragaan biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai.

Kompatibilitas *Rhizobium* indigen pada tanaman kedelai ditentukan oleh faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetik adalah varietas, sedangkan faktor lingkungan adalah ketinggian tempat. Saat ini sudah tersedia varietas kedelai untuk lahan kering, yaitu varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci. Ketinggian tempat berdasarkan batasan geografi dapat dikelompokkan menjadi dataran tinggi (> 800 mdpl.), dataran menengah (400 - 800 mdpl.) dan dataran rendah (< 400 mdpl.). Apabila terdapat strain untuk masing-masing varietas dan ketinggian tempat, tentunya terdapat strain *Rhizobium* spesifik. Berarti strain *Rhizobium* spesifik itu mempunyai kemampuan beradaptasi pada ekosistem tertentu untuk masing-masing varietas kedelai lahan kering. Sebaliknya, bila strain *Rhizobium* indigen tidak sesuai untuk setiap varietas dan ketinggian tempat, maka dapat dinyatakan bahwa strain tersebut tidak spesifik pada varietas dan ketinggian tempat tertentu.

Bahwa strain *Rhizobium* indigen dapat digunakan sebagai pupuk biologi, maka diperlukan media pembawa (*carrier*). Selanjutnya inokulan *Rhizobium*

dengan media pembawa yang didapatkan dapat dikemas untuk disebarakan pada petani kedelai lahan kering.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep penelitian tersebut dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut.

1. Terdapat keanekaragaman (biodiversitas) Rhizobium indigen lahan kering pada berbagai ketinggian tempat.
2. Terdapat Strain Rhizobium dominan pada ekosistem lahan kering yang berbeda ketinggiannya.
3. Terdapat perbedaan keragaan strain Rhizobium Dominan pada tanaman kedelai.
4. Strain Rhizobium dapat dipakai sebagai inokulan pada tanaman kedelai di lahan kering.
5. Terdapat kompatibilitas antara strain Rhizobium pada tanaman kedelai.
6. Media pembawa gambut dapat digunakan untuk inokulum strain Rhizobium.

BAB 4

Bab 4

METODE PENELITIAN

Pada tahap awal penelitian telah dilakukan observasi pada pertanaman kedelai untuk memperoleh strain *Rhizobium* indigen tanaman kedelai pada lahan kering yang berbeda ketinggian tempatnya dari permukaan laut. Tahap berikutnya adalah isolasi dan seleksi strain *Rhizobium* indigen untuk mengetahui ada tidaknya keragaman (*biodiversitas*) strain *Rhizobium* yang berasal dari lahan kering dengan ketinggian tempat yang berbeda. Setelah itu ditentukan strain *Rhizobium* dominan, kemudian diinokulasikan pada tanaman kedelai melalui percobaan pot untuk menentukan strain *Rhizobium* yang efektif dan efisien memfiksasi nitrogen dari udara. Kemudian percobaan keragaan *Rhizobium* indigen pada tanaman kedelai. Selanjutnya strain terpilih yang merupakan strain spesifik lahan kering akan dilakukan pengujian di tiga lokasi ketinggian tempat yang berbeda dengan menyertakan tiga varietas kedelai lahan kering. Sehingga diperoleh strain yang adaptif dan kompatibel dengan varietas kedelai lahan kering. Di dalam pengembangan inokulan *Rhizobium* spesifik tersebut dilakukan pula pengujian media pembawa, sehingga akan diperoleh media pembawa dengan strain *Rhizobium* spesifik itu.

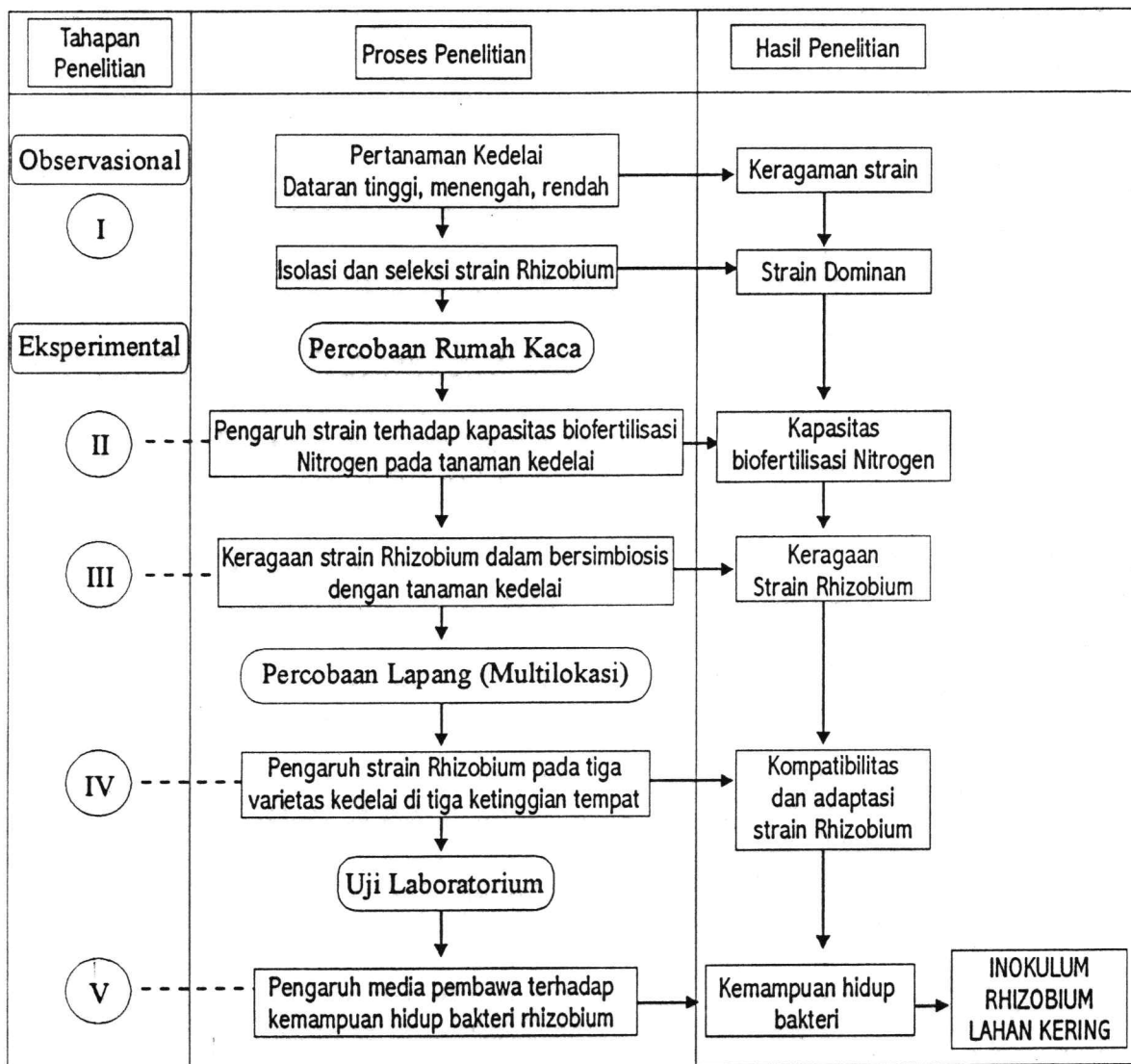
Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap, yaitu tahap observasional dan eksperimental. Penelitian observasional dimaksudkan untuk memperoleh bahan

isolat *Rhizobium* yang berasal dari pertanaman kedelai yang tumbuh pada lahan kering yang berbeda ketinggian tempatnya.

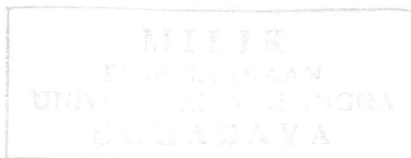
Penelitian eksperimental meliputi pengaruh strain *Rhizobium* terhadap kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai, keragaan strain *Rhizobium* dalam bersimbiosis dengan tanaman kedelai, pengaruh strain *Rhizobium* spesifik terhadap pertumbuhan dan hasil tiga varietas kedelai lahan kering, dan pengaruh media pembawa terhadap kemampuan hidup strain - *Rhizobium*.

Persiapan bahan dan pelatihan kegiatan laboratorium dilakukan sejak bulan September 1994 hingga Desember 1994, sedangkan penelitian observasi dimulai bulan April hingga Juni 1995. Penelitian laboratorium, penelitian rumah kaca, dan penelitian lapang dilakukan pada bulan Juli 1995 hingga Agustus 1996.

Secara skematis kerangka operasional penelitian dapat diterangkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kerangka operasional penelitian



4.1 Biodiversitas Rhizobium Indigen Lahan Kering

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui biodiversitas Rhizobium indigen yang berasal dari lahan kering dengan kondisi ekologi yang berbeda. Indikator yang digunakan meliputi pola penyebaran nodul, karakteristik bakteri Rhizobium, jumlah bakteri dan indeks diversitas.

Observasional dilakukan di tiga tempat yang berbeda menurut letak ketinggiannya dari permukaan laut. Penentuan tempat dengan teknik sampling yang digunakan *Purposive sampling*, yaitu Batu, Bedali, dan Pasuruan. Kemudian menanam pertanaman kedelai pada lahan kering yang belum pernah dilakukan inokulasi Rhizobium. Di samping itu, data fisik lapangan meliputi jenis tanah, iklim, dan varietas kedelai yang ditanam.

Pada umur 42 hari untuk dapat digunakan diambil nodulnya yang akan digunakan sebagai bahan dalam mengisolasi bakteri Rhizobium. Selanjutnya dilakukan pembiakan bakteri di laboratorium, untuk mengamati karakteristik pertumbuhan dan jumlah bakteri serta penentuan biodiversitas Rhizobium indigen lahan kering.

4.1.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan lapang dengan menggunakan rancangan acak kelompok diulang 3 kali dengan tiga perlakuan, yaitu kedelai varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci untuk setiap tempat penelitian. Tempat penelitian terdiri dari dataran tinggi (Batu), dataran menengah (Bedali), dan

dataran rendah (Wonorejo). Dengan menggunakan 3 (tiga) varietas kedelai (Willis, Ringgit, Kerinci) yang ditanam pada 3 (tiga) tempat yang berbeda ketinggiannya di atas permukaan laut (Batu, Bedali, dan Wonorejo). Petak percobaan berukuran petak 4 m x 2 m, jarak tanam yang digunakan adalah 30 cm x 15 cm dengan 2 tanaman per lubang tanam.

4.1.2 Populasi, sampel, dan besar sampel

Populasi tanaman kedelai merupakan jumlah tanaman per satuan luas, yaitu luas petak dibagi jarak tanam dikali jumlah tanaman per lubang tanam. Sehingga populasi tanaman setiap petak adalah $400 \text{ cm} \times 200 \text{ cm}$ dibagi 40 cm kali 15 cm kali 2 tanaman = 266 tanaman per petak. Dengan demikian populasi tanaman keseluruhan percobaan adalah 266 kali 3 perlakuan kali 9 ulangan = 7.182 tanaman per 216 meter per segi.

Sampel ditetapkan secara sistematis dengan mengambil bagian tanaman pada umur 42 hari. Besarnya sampel adalah 9 ulangan kali 2 tanaman per lubang tanam kali 2 tanaman setiap petak = 36 tanaman (Gomez, 1953 dalam Ainurrasyid, 1994).

4.1.3 Variabel penelitian

Variabel yang diamati (tergantung) meliputi karakteristik pertumbuhan Rhizobium (Somasegaran dan Hoben, 1985; Hirsch dan Skinner, 1995), yang terdiri dari :

- (a) Jumlah koloni/strain, dihitung pada setiap tahap isolasi dengan metode *Plat Agar* (Salle, 1972).
- (b) Bentuk koloni, sedikit cembung, cembung ("domed"), menggunung (*even conical*).
- (c) Warna dan tekstur, putih keruh, putih susu, atau putih jernih
- (d) Laju pertumbuhan, untuk mencapai ukuran koloni maksimum pada media agar, termasuk tumbuh cepat (3 - 5 hari), tumbuh lambat (5 - 7 hari), sangat lambat (7 - 12 hari).
- (e) Ukuran koloni, diukur diameter koloni.

4.1.4 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan 3 (tiga) varietas kedelai, yaitu Wilis, Ringgit, dan Kerinci (Diskripsi Varietas Lampiran 1, 2, dan 3). Di samping itu bahan kimia yang dibutuhkan meliputi manitol, *extract of yeast*, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl, CaCl_2 , $\text{FeCl}_3 \cdot \text{GH}_2\text{O}$, agar difto-bacto, larutan pH indikator, *bromothymol blue*, air destilasi, alkohol 95 %, kapas, H_2O_2 3%, NaOH 0,5N, kertas payung, isolasi, karet, banlete, minyak parafin, *silica gell blue*, etanol, safranin, crystal violet, iodide, amonium oxalat, potasium iodide, dan aluminium foil.

4.1.5 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari cawan Pitri, gelas beker, alat pemanas dan pengaduk, timbangan, pH meter, autoclave, *laminar flow cabinet*, inkubator, refrigator, tabung reaksi, penyumbat, api Bunsen, pisau scapel, jarum ose, penjepit lengkung, dan sprayer.

4.1.6 Tempat dan waktu penelitian

Tempat penelitian di 3 (tiga) wilayah pengembangan pertanaman kedelai (Batu, Malang, dan Pasuruan) yang dilanjutkan di Laboratorium Fisiologi Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

Penentuan tempat penelitian dengan menggunakan metode teknik sampling, yang digunakan adalah *Purposive Sampling*. Kesengajaan dengan mempertimbangkan hal-hal sebagai berikut.

1. Ketinggian tempat (meter dari permukaan laut = mdpl.), terdiri dari dataran tinggi (>800 mdpl.) dataran menengah (400 - 800 mdpl.), dataran rendah (<400 mdpl.), Oldemann (1977).
2. Daerah pengembangan, untuk dataran tinggi diharapkan dapat dijadikan sebagai daerah untuk penghasil benih kedelai yang mutunya baik; sedangkan dataran menengah dan dataran rendah merupakan daerah pengembangan produksi kedelai (Adisarwanto dan Sumarno, 1993).

Untuk itu dipilih daerah Bumiaji, kotatiff Batu yang mewakili daerah dataran tinggi (871 mdpl.), daerah Bedali, kabupaten Malang yang mewakili daerah dataran menengah (495 mdpl.), dan daerah Wonorejo, kabupaten Pasuruan yang mewakili daerah dataran rendah (70 mdpl.).

Waktu penelitian bulan Juni-Oktober 1995.

4.1.7 Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan mulai eksplorasi hingga pengamatan di laboratorium. Pengambilan nodul pada saat tanaman kedelai melakukan aktivitas simbiosis antara *Rhizobium* dengan tanaman kedelai paling tinggi, ditandai warna merah setelah nodul dibelah (Yutono, 1981). Secara visual dapat pula diketahui dari kenampakan pertumbuhan tanaman, setelah mencapai fase pertumbuhan reproduktif lengkap atau saat pembentukan bunga sudah terhenti (Ismail dan Efendi, 1985).

Mengambil nodul akar pada pertanaman kedelai umur 6 minggu yang berasal dari Beji, Bedali, dan Wonorejo; dengan membiarkan sedikit akar yang menempel pada nodul. Setelah nodul akar dicuci, kemudian di letakkan di atas kain kassa untuk menghindarkan kontaminasi. Selanjutnya nodul akar direndam dalam alkohol 95% selama 1 menit, kemudian dimasukkan dalam larutan desinfektan H_2O_2 3% selama 3 - 4 menit. Dibilas dengan air steril 5 -6 kali, dan jika tidak dapat segera diisolasi, nodul akar dapat disimpan dalam tabung yang diisi *silica gel blue* dan kapas, tutup rapat dengan karet penutup.

Nodul akar dibelah dan diambil bagian dalamnya dengan jarum ose, setelah itu digoreskan pada cawan Petri yang berisi YMA. Pisau scapel, penjepit lengkung, dan jarum ose yang akan digunakan setiap kali harus dimasukkan alkohol dan dibakar pada nyala Bunsen. Kemudian cawan Petri ditutup dan diisolasi. Cawan Petri diletakkan secara terbalik di dalam inkubator 26 °C, dan diamati selama 5 - 10 hari. Pemilihan koloni yang tumbuh baik secara terpisah di sepanjang garis olesan. Koloni diambil dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi air steril dan pasir steril sebelum penggoresan ke dua. Kemudian perlu diperhatikan keseragaman bentuk koloni pada agar dalam cawan Petri dari penggoresan ke dua, setelah itu pengambilan koloni yang dominan dan digoreskan pada agar YMA dalam posisi miring. Kemudian dilakukan pengujian dengan uji gram dan karakteristik pertumbuhan koloni.

Menghitung jumlah bakteri dilakukan dengan mengambil 1,0 ml. dari pengenceran dimasukkan ke dalam cawan Petri yang telah diberi label. Setelah itu ditambahkan media 15 YEM cair yang telah didinginkan, dan diaduk dengan memutar cawan Petri menurut arah jarum jam beberapa kali, ke muka, ke belakang, ke kiri, dan ke kanan. Kemudian didiamkan beberapa saat agar media menjadi padat, barulah cawan Petri dibalikkan, inkubasi pada 26 - 28° C selama 3 - 5 hari untuk *Rhizobium* yang tumbuhnya cepat, 3 - 7 hari untuk *Rhizobium* tumbuhnya lambat, dan 7 - 12 hari untuk *Rhizobium* yang tumbuhnya sangat lambat.

Untuk menghitung jumlah Rhizobium, pilih cawan Petri yang jumlah koloninya berkisar dari 30 - 300 per cawan. Gunakan latar belakang gelap/hitam untuk memudahkan perhitungan.

4.1.8 Teknik analisis data

Analisis diskriptif untuk menentukan karakteristik pertumbuhan Rhizobium dengan pengujian secara mikroskopis lekapan basah (*Simple Water Mount*) seperti disajikan pada Lampiran 4. Untuk menentukan strain Rhizobium yang dominan, menurut Whittaker (1972) dapat digunakan *Indeks Diversitas Simpson*.

$$\text{Indeks Diversitas } (H) = \sum_{i=1}^s \frac{\pi_i^2}{\pi_i}$$

s = banyaknya strain
 π_i = proporsi strain ke i

4.2 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen pada Tanaman Kedelai

Penelitian bertujuan untuk mengetahui kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai. Indikator yang digunakan adalah jumlah dan bobot nodul, N total tanaman, bobot kering total tanaman, aktivitas spesifik fiksasi nitrogen, dan relatif aktivitas fiksasi nitrogen.

4.2.1 Rancangan penelitian

Percobaan ini merupakan percobaan pot dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang diulang 3 kali dengan 8 perlakuan. Perlakuan terdiri dari 6 strain *Rhizobium* uji yang diinokulasikan pada tanaman kedelai, dan sebagai pembanding tanpa inokulasi dan inokulasi *Rhisogin* pada tanaman kedelai. Diikut-sertakannya pembanding untuk mengetahui apakah strain yang diuji mampu melebihi kemampuan pembentukan nodul akar, fiksasi nitrogen, dan kandungan nitrogen total tanaman.

4.2.2 Variabel penelitian

Kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai dapat diketahui atas dasar pembentukan nodul akar dan kemampuan dari nodul akar untuk mengikat nitrogen.

Variabel pengamatan (tergantung) meliputi :

- (1) jumlah nodul umur 6 minggu, ditentukan dengan menghitung semua nodul akar yang mempunyai diameter lebih dari 0,5 mm pada setiap tanaman,
- (2) bobot kering nodul umur 6 minggu, diperoleh dengan cara menimbang nodul akar setiap tanaman setelah dioven (75°C) selama 48 jam,
- (3) kandungan N total tanaman umur 6 minggu dengan metode Kjeldahl (Lampiran 5),

- (4) bobot kering total tanaman umur 6 minggu, diperoleh dengan cara menimbang seluruh tanaman setelah dilakukan pengeringan pada suhu 70°C selama 48 jam.

4.2.3 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan benih kedelai varietas Wilis, isolat Rhizobium, dan larutan hara (Lampiran 6).

4.2.4 Alat penelitian

Alat yang digunakan meliputi pot plastik, pasir steril, mikroskop monokuler, obyek gelas, dek gelas, penangas air, erlenmeyer, seperangkat alat penentuan kadar N tanaman dengan metode Kjeldahl.

4.2.5 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Waktu penelitian dilaksanakan bulan September - Nopember 1995.

4.2.6 Pengumpulan data

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca dan menggunakan Pot Plastik. Biji kedelai varietas Wilis disterilisasi dengan prosedur yang sama seperti sterilisasi nodul akar. Sebanyak 5 biji kedelai di tanam dalam media pasir steril dalam pot plastik yang ditempatkan di rumah kaca. Setelah kecambah muncul di atas

tanah, tanaman dikurangi hingga menjadi 2 tanaman. Inokulasi strain *Rhizobium* yang disiapkan dalam bentuk larutan dilakukan dengan cara menyiram media pasir pada 0, 3 dan 6 hari setelah tanam. Pengumpulan data dengan cara mengukur setiap variabel pengamatan, yaitu jumlah nodul, bobot nodul, kandungan N total tanaman, dan bobot kering total tanaman pada umur 6 minggu setelah tanam.

4.2.7 Teknik analisis data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan analisis varian untuk mengetahui perbedaan kapasitas biofertilisasi nitrogen, jika terdapat pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji BNJ (beda nyata jujur) dengan taraf 5%.

Di samping itu, juga dilakukan penentuan spesifitas strain dengan menghitung aktivitas spesifikasi nitrogen dan nilai relatif fiksasi nitrogen (Nunung, *et. al.*, 1989).

Aktivitas spesifik fiksasi N = W/A .

W = N-total x Bobot kering tanaman (mg N tanaman)

A = Bobot kering nodul akar (mg)

Nilai Relatif Aktifitas Fiksasi N = $B/C \times 100\%$

B = Aktivitas spesifik fiksasi N isolat uji

C = Aktifitas spesifik fiksasi N strain standart.

4.3 Keragaan Strain Rhizobium dalam Bersimbiosis dengan Tanaman Kedelai

Penelitian ini bertujuan untuk menguji keragaan diantara strain Rhizobium dominan padata tanaman kedelai. Indikator yang digunakan meliputi bobot biji per tanaman, N total tanaman, bobot dan jumlah nodul, dan bobot kering total tanaman.

4.3.1 Rancangan penelitian

Percobaan ini merupakan percobaan pot secara faktorial dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang diulang 3 kali. Perlakuan terdiri dari dua faktor, yaitu strain Rhizobium (G) dan varietas kedelai (V). Faktor pertama strain Rhizobium terpilih terdiri dari 7 level, yakni :

- G₀ = tanpa inokulasi Rhizobium
- G₁ = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas wilis dataran rendah
- G₂ = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran rendah.
- G₃ = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Wilis dataran menengah.
- G₄ = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran menengah

- G_5 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Wilis dataran tinggi.
- G_6 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran tinggi.

Faktor kedua varietas kedelai terdiri dari 3 level, yakni Wilis (V_1), Ringgit (V_2), Kerinci (V_3).

4.3.2 Variabel penelitian

Keragaan isolat bakteri Rhizobium pada tanaman kedelai dapat diketahui dari perbedaan jumlah nodul akar dan kemampuan dari nodul akar untuk mengikat nitrogen. Di samping itu kriteria yang digunakan adalah hasil biji per tanaman dan kandungan nitrogen total tanaman.

Variabel pengamatan (tergantung) meliputi :

- (1) jumlah nodul umur 6 minggu, ditentukan dengan menghitung semua nodul akar yang mempunyai diameter lebih dari 0,5 mm pada setiap tanaman,
- (2) bobot kering nodul umur 6 minggu, diperoleh dengan cara menimbang nodul akar setiap tanaman setelah dioven (75°C) selama 48 jam,
- (3) kandungan N total tanaman umur 6 minggu dengan metode Kjeldahl (Lampiran 5),

- (4) bobot kering total tanaman umur 6 minggu diperoleh dengan cara menimbang seluruh tanaman setelah dilakukan pengeringan pada suhu 70°C selama 48 jam,
- (5) bobot biji per tanaman, dengan mengeringkan biji per tanaman saat panen dengan suhu 70°C selama 48 jam atau hingga bobot biji konstan.

4.3.3 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan benih kedelai varietas Wilis, varietas Ringgit, dan Variets Kerinci, isolat Rhizobium, dan larutan hara (Lampiran 6).

4.3.4 Alat penelitian

Alat yang digunakan meliputi pot plastik, pasir steril, mikroskop monokuler, obyek gelas, dek gelas, penangas air, erlenmeyer, seperangkat alat penentuan kadar N tanaman dengan metode Kjeldahl.

4.3.5 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Waktu penelitian dilaksanakan bulan Oktober 1995-Februari 1996.

4.3.6 Pengumpulan data

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca dan menggunakan Pot Plastik. Biji kedelai varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci disterilisasi dengan prosedur yang

sama seperti sterilisasi nodul akar. Sebanyak 5 biji kedelai ditanam dalam media pasir steril dalam pot plastik yang ditempatkan di rumah kaca. Setelah kecambah muncul di atas tanah, tanaman dikurangi hingga menjadi 2 tanaman. Inokulasi strain Rhizobium yang disiapkan dalam bentuk larutan dilakukan dengan cara menyiram media pasir pada 0, 3 dan 6 hari setelah tanam. Pengumpulan data dengan cara mengukur setiap variabel pengamatan.

4.3.7 Teknik analisis data

Data pengamatan dianalisis dengan analisis varian, jika terdapat pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji BNJ (beda nyata jujur) dengan taraf 5% untuk mengetahui perbedaan keragaan strain Rhizobium pada tanaman kedelai.

4.4 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tiga Varietas Kedelai pada Dataran Rendah, Dataran Menengah, dan Dataran Tinggi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui strain Rhizobium spesifik pada tanaman kedelai di dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi. Indikator yang digunakan hasil biji per tanaman, hasil biji per hektar, bobot kering total tanaman, N total tanaman, analisis tanah, dan unsur iklim.

4.4.1 Rancangan penelitian

Percobaan faktorial dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang diulang 3 kali.

Perlakuan terdiri dari 2 (dua) faktor, yaitu strain Rhizobium terpilih (G) dan Varietas (V). Strain Rhizobium terdiri dari 6 level, yaitu

G_0 = tanpa inokulasi

G_1 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Wilis dataran rendah

G_2 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran rendah

G_3 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Wilis dataran menengah

G_4 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran menengah

G_5 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari kedelai varietas Wilis dataran tinggi

G_6 = inokulasi Rhizobium yang berasal dari varietas Ringgit dataran tinggi.

Varietas terdiri dari 3 level, yaitu Wilis (V_1), Ringgit (V_2), dan Kerinci (V_3).

Jumlah kombinasi perlakuan terdiri dari 21 perlakuan dengan 3 ulangan, sehingga ada 63 plot untuk masing-masing ketinggian tempat.

4.4.2 Populasi, sampel dan besar sampel

Populasi tanaman kedelai merupakan jumlah tanaman per satuan luas, yaitu luas petak di bagi jarak tanam kali jumlah tanaman per lubang $400\text{cm} \times 200\text{ cm}$ kali 2 tanaman per lubang = 266 tanaman. Dengan demikian populasi seluruh tanaman kedelai adalah 7 perlakuan \times 3 ulangan \times 266 tanaman = 16.758 tanaman per 504 m persegi. Sampel ditetapkan secara sistematis dengan mengambil seluruh bagian tanaman pada umur 6 minggu, sedangkan pengamatan hasil biji dan bobot kering total tanaman pada saat panen.

Besarnya sampel adalah 3 ulangan \times 5 lubang tanam \times 2 tanaman per lubang = 30 tanaman (Gomez, 1953 *dalam* Ainurrahyid, 1994).

4.4.3 Variabel pengamatan

Adaptasi dan kompatibilitas antara strain *Rhizobium* spesifik dengan varietas kedelai dapat diketahui dari kapasitas biofertilisasi nitrogen yang didasarkan pada pembentukan nodul akar, kandungan N total tanaman, dan hasil biji per tanaman; sedangkan kompatibilitas simbiosis *Rhizobium* dengan kedelai dapat diketahui dari pertumbuhan dan hasil kedelai.

Variabel pengamatan (tergantung) meliputi :

- (1) jumlah nodul akar umur 6 minggu, ditentukan dengan menghitung semua nodul akar yang mempunyai diameter lebih dari 0,5 mm pada setiap tanaman (Anas, 1989),

- (2) bobot kering nodul akar umur 6 minggu, dengan menimbang setiap nodul setelah dioven 70 °C selama 48 jam (Anas, 1989),
- (3) kandungan N total tanaman dengan menggunakan metode Kjeldahl (Lampiran 5),
- (4) tinggi tanaman umur 6 minggu, diukur mulai dari leher akar hingga titik tumbuh (Sitompul dan Guritno, 1995),
- (5) jumlah daun umur 6 minggu, diukur untuk semua daun yang telah membuka sempurna (Sitompul dan Guritno, 1995),
- (6) bobot kering total tanaman saat panen, diukur dengan menimbang total per tanaman setelah dilakukan pengeringan 70 °C selama 48 jam (Sitompul dan Guritno, 1995),
- (7) hasil biji per tanaman, diukur dengan menimbang setiap biji per tanaman setelah dilakukan pengeringan dengan suhu 70° C selama 48 jam atau bobot biji telah dicapai konstan (Sitompul dan Guritno, 1995),
- (8) hasil biji per hektar, merupakan hasil perhitungan yang didasarkan bahwa populasi tanaman per petak adalah 130 tanaman, dengan ukuran per petak 6 m² (Sitompul dan Guritno, 1995).

4.4.4 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan meliputi benih kedelai varietas Wilis, varietas Ringgit, dan varietas Kerinci, isolat Rhizobium, pupuk TSP dan KCl, insektisida Asodrin, dan fungisida Dithane.

4.4.5 Alat penelitian

Alat yang digunakan meliputi cangkul, lempak, meteran, counter, timbangan, oven, hand sprayer, mikroskop monokuler, penangas air, erlenmeyer.

4.4.6 Tempat dan waktu penelitian

Tempat penelitian di 3 (tiga) tempat, yaitu Desa Pandesari, Kecamatan Pujon Kabupaten Malang (1.100 mdpl.), Desa Bedali, Kecamatan Lawang Kabupaten Malang (495 mdpl.), dan desa Wonorejo, Kecamatan Wonorejo Kabupaten Pasuruan (70 mdpl.).

Penelitian dilaksanakan bulan Februari - Juni 1996.

4.4.7 Pengumpulan data

Penelitian dilakukan pada lahan kering di 3 (tiga) tempat, yaitu Pandesari, Bedali, dan Wonorejo). Tanah diolah dan dibuat dalam bentuk guludan dengan jarak 80 cm antar guludan. Pengolahan dilakukan dengan mencacah tanah secara memanjang selabar cangkul (10 cm) dengan jarak

antar bidang cacahan tanah 80 cm. Bagian yang dicacah kemudian ditimbun dengan tanah di sampingnya, sehingga terbentuk guludan yang rendah. Setiap plot terdiri dari 5 guludan dengan panjang 2 meter. Penanaman dilakukan dengan memakai tugal pada kedalaman tanam 5 cm. Jumlah benih kedelai yang ditanam 3 benih setiap lubang, kemudian dijarangkan menjadi 2 tanaman per lubang. Benih ditanam pada kedua sisi guludan. Jarak antar tanam antar barisan 40 cm dan dalam barisan tanam 15 cm. Penanaman diikuti dengan inokulasi strain *Rhizobium* dengan cara menyiram media tanah pada 0, 3, dan 6 hari setelah tanam. Pemupukan dilakukan pada saat penanaman sebagai pupuk dasar. Pengairan diberikan pertama kali satu hari sebelum tanam. Pengairan selanjutnya dilakukan bila kondisi tanaman mengalami kekurangan air (gejala kelayuan). Pengendalian hama dan penyakit dilakukan dengan penyemprotan insektisida Asodrin dan fungisida Dithane.

4.4.8 Teknik analisis data

Data pengamatan dianalisis dengan analisis varian, jika terdapat pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji BNJ (beda nyata jujur) dengan taraf 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik dan perbedaan diantara perlakuan.

4.5 Pengaruh Media Pembawa terhadap Kemampuan Hidup Strain *Rhizobium*

Setelah dilakukan penelitian (4), hasil pengujian *Rhizobium*, dipilih 4 strain terbaik, yaitu :

- G_1 = strain Rhizobium berasal dari kedelai varietas Wilis dataran rendah,
- G_2 = strain Rhizobium berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran rendah,
- G_3 = strain Rhizobium berasal dari kedelai varietas Wilis dataran menengah,
- G_4 = strain Rhizobium berasal dari kedelai varietas Ringgit dataran menengah.

4.5.1 Rancangan penelitian

Strain terbaik hasil penelitian tahap 3) akan diuji 3 (tiga) macam karier. Rancangan percobaan faktorial dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) diulang 3 kali. Perlakuan terdiri dari 2 faktor, yaitu faktor pertama strain terpilih (G_1, G_2, G_3, G_4) dan faktor kedua karier terdiri dari 3 level (K_1, K_2, K_3).

4.5.2 Populasi, sampel dan besar sampel

Masing-masing strain pada setiap media di ulang 3 kali, sehingga populasi setiap strain ada 36 sampel.

4.5.3 Variabel pengamatan

Variabel yang diamati (tergantung) meliputi :

- (1) daya tahan hidup, yang ditandai oleh karakteristik pertumbuhan koloni, dengan interval 10 hari,

- (2) jumlah *Rhizobium* hidup, dihitung dengan metode *plate count* (Lampiran 7).

4.5.4 Bahan penelitian

Bahan terdiri dari tanah gambut, kompos, arang, sukrose, kapas, pepton atau kaldu steril, dan *Yeast Manitol Agar*.

4.5.5 Alat penelitian

Alat yang digunakan meliputi cawan petri, *freeze-drying*, pipet, dan tabung gelas.

4.5.6 Tempat dan waktu penelitian

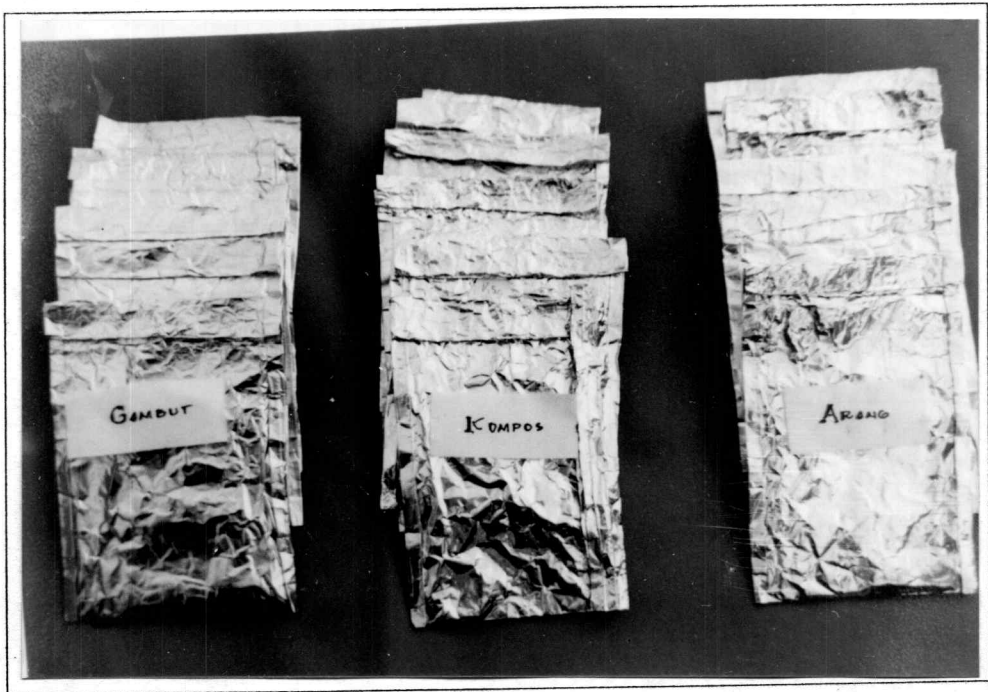
Tempat penelitian di Laboratorium Fisiologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Malang.

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-September 1996.

4.5.7 Pengumpulan data

Strain *Rhizobium* spesifik yang dihasilkan dicampurkan dengan pembawa (Lampiran 8). Dalam pembuatan pembawa yang terdiri dari gambut, kompos, dan arang; dikering-anginkan, setelah itu ditumbuk dan diayak. Untuk menetralkan media diberikan CaCO_3 hingga netral (pH 6,5 - 7), kemudian ditentukan kapasitas menahan air pembawa (*water holding capacity*). Setelah

itu dikemas dan disterilkan, yang selanjutnya dilakukan pencampuran strain Rhizobium; kemudian dilakukan penyimpanan yang akan digunakan sebagai inokulan Gambar 4.2).

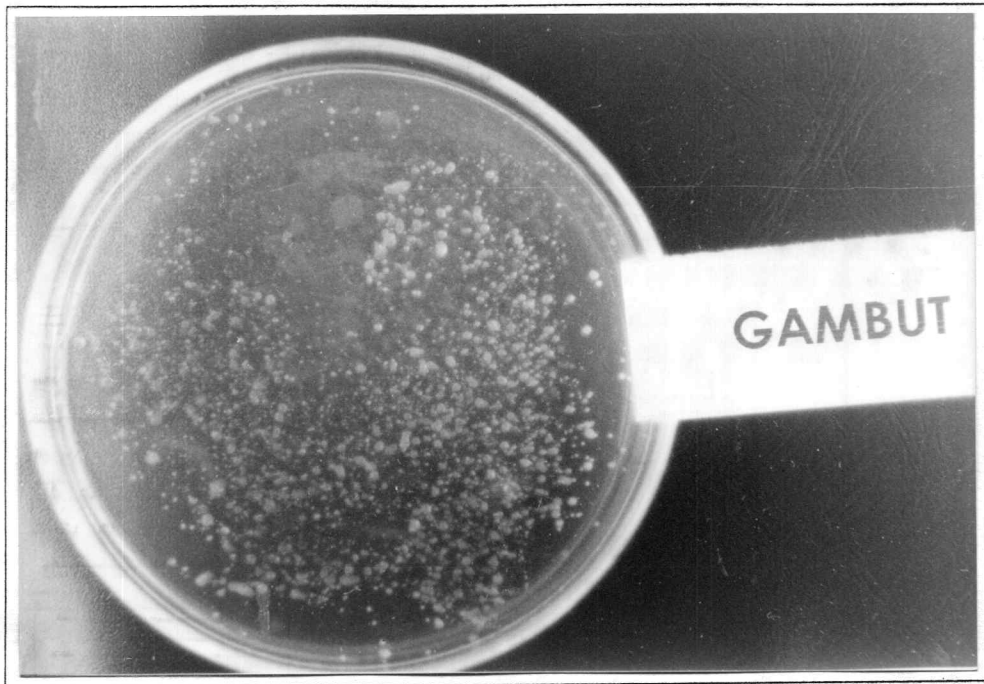


Gambar 4.2 Pengemasan Strain Rhizobium pada Berbagai Media Pembawa

Pengujian dilakukan setelah inkubasi selama 2 minggu. Tuangkan 12 ml medium agar yang telah disterilkan, kemudian dicairkan ke dalam 15 cawan Petri yang steril untuk masing-masing perlakuan. Didiamkan sampai medium agar memadat sebelum inokulasi dilakukan. Menyiapkan seri dari contoh yang akan dianalisis setiap inokulan. Pipet 1 ml setiap pengenceran dan dimasukkan ke dalam cawan Petri yang telah berisi medium agar yang telah memadat.

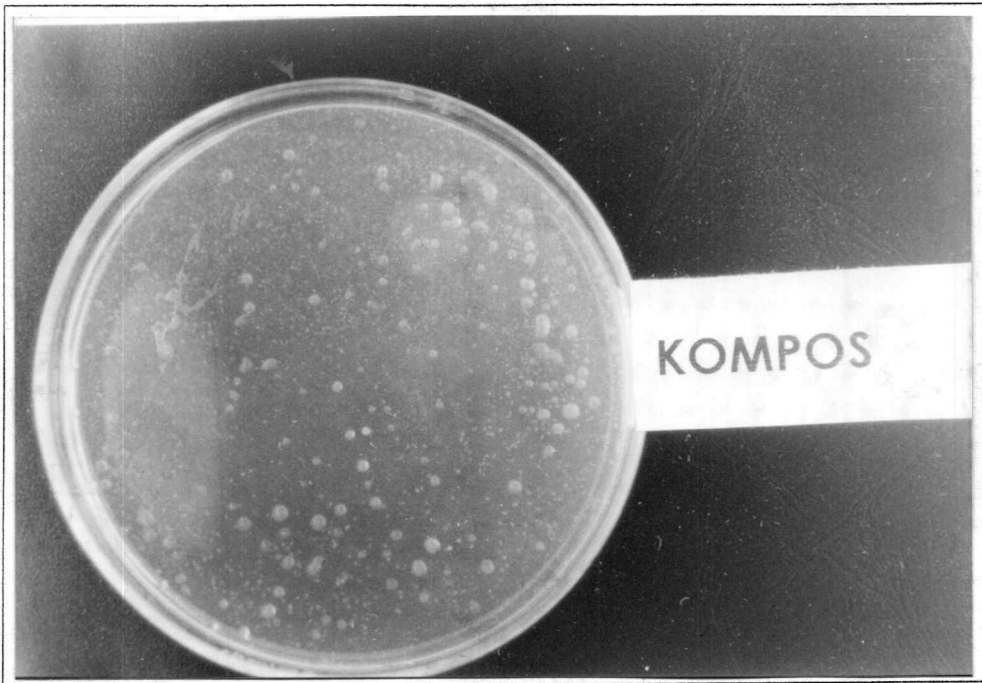
MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Kemudian dilakukan penyebaran inokulum secara merata dipermukaan agar. Inkubasi cawan Petri tersebut selama 5-7 hari pada suhu 28 °C (Gambar 4.3).



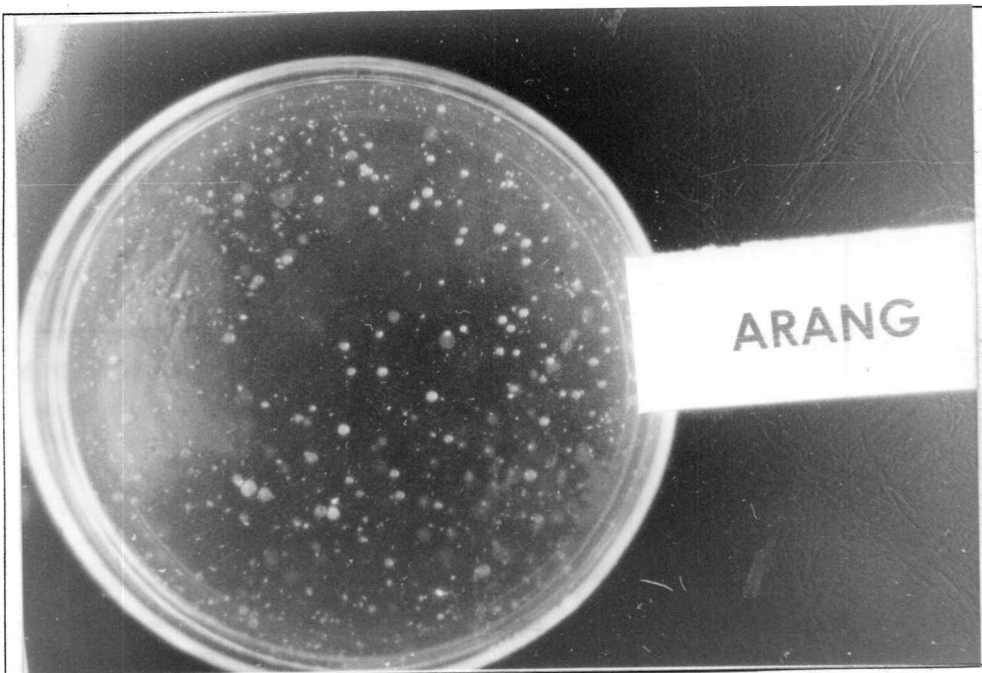
Gambar 4.3a

Koloni *Rhizobium* asal media pembawa gambut yang ditumbuhkan pada Medium Agar



Gambar 4.3b

Koloni Rhizobium asal media pembawa kompos yang ditumbuhkan pada Medium Agar



Gambar 4.3c

Koloni Rhizobium asal media pembawa arang yang ditumbuhkan pada Medium Agar

4.5.8 Teknik analisis data

Menghitung koloni dengan memperhatikan karakteristik *Rhizobium*, cembung, mengkilap, semi tembus cahaya, dan berlendir. Menghitung jumlah *Rhizobium* yang hidup dengan menggunakan *Metode Penetapan Jumlah Rhizobium Hidup dengan Plate Count* (Lampiran 7). Analisis regresi dengan variabel batas waktu (dalam hari) untuk menentukan umur tahan hidup masing-masing strain pada tiap macam media pembawa.

BAB 5

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Biodiversitas Rhizobium Indigen Lahan Kering

Hasil observasi pola penyebaran nodul di sajikan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Pola Penyebaran Nodul pada Tiga Varietas Kedelai di Tiga Tempat

Ketinggian tempat	Varietas		
	Wilis	Ringgit	Kerinci
Rendah (70 mdpl.)	Pola 3	Pola 6	Pola 1
Menengah (495 mdpl)	Pola 3	Pola 4	Pola 3
Tinggi (871 mdpl)	Pola 2	Pola 2	Pola 8

Keterangan :

Pola 1 = Nodul di pangkal besar

Pola 4 = Nodul kecil menyebar

Pola 2 = Nodul kecil di akar utama

Pola 6 = Nodul besar dan kecil menyebar

Pola 3 = Nodul besar menyebar

Pola 8 = Nodul kecil di akar sekunder.

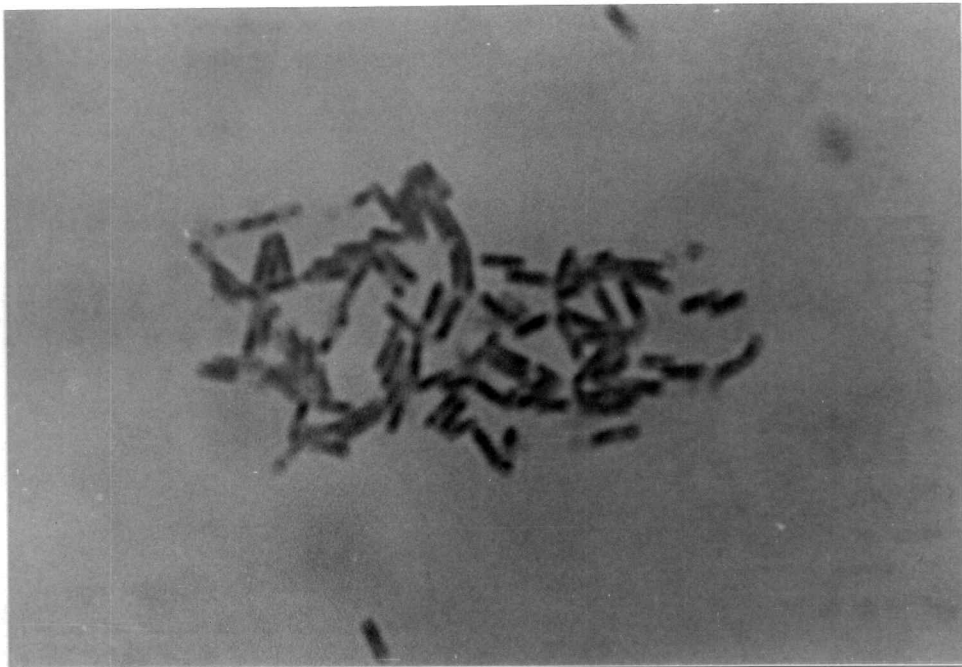
Pola penyebaran nodul kedelai varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci yang ditemukan adalah pada nodul besar menyebar, kemudian diikuti oleh pola nodul kecil di akar utama, nodul kecil menyebar, nodul besar dan kecil menyebar, dan nodul kecil di akar sekunder. Hal ini menunjukkan bahwa pola penyebaran nodul beragam, atau dengan kata lain tidak semua pola penyebaran nodul baik pada dataran rendah, dataran menengah, maupun dataran tinggi untuk setiap varietas kedelai yang diamati mempunyai pola yang sama

Berdasarkan hasil isolasi dari nodul tanaman kedelai diperoleh isolat Rhizobium, terdiri dari 8 strain dari dataran rendah, 9 strain dari dataran menengah, dan 9 strain dari dataran tinggi. Karakteristik pertumbuhan strain Rhizobium hasil isolasi di sajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Karakteristik Pertumbuhan Strain Rhizobium

Asal strain (Kode strain)	Karakteristik Pertumbuhan Koloni				
	Jumlah	Bentuk	Warna	Laju (hari)	Diameter (mm)
Dataran Rendah					
1. Wilis	13	Cembung	Putih bening	7	9-14
2. Wilis	12	Tak Beratur	Putih keruh	10	4-14
3. Wilis	10	Menggunung	Putih susu	10	8-15
4. Ringgit	10	Cembung	Putih bening	7	4-15
5. Ringgit	10	Cembung	Putih keruh	7	6-17
6. Ringgit	10	Menggunung	Putih bening	10	4-15
7. Ringgit	10	Menggunung	Putih keruh	10	4-10
8. Kerinci	8	Cembung	Putih keruh	10	4-9
Dataran Menengah					
9. Wilis	10	Cembung	Putih keruh	8	8-16
10. Wilis	10	Sedikit Cembung	Putih keruh	3	6-15
11. Wilis	10	Cembung	Putih keruh	3	7-19
12. Ringgit	11	Cembung	Putih susu	7	8-17
13. Ringgit	10	Sedikit cembung	Putih keruh	3	8-17
14. Kerinci	10	Cembung	Putih keruh	10	7-12
15. Kerinci	10	Cembung	Putih bening	8	7-12
16. Kerinci	10	Tidak beraturan	Putih keruh	8	7-11
17. Kerinci	10	Menggunung	Putih keruh	10	4-11
Dataran Tinggi					
18. Wilis	10	Sedikit Cembung	Putih keruh	10	11-16
19. Wilis	16	Sedikit Cembung	Putih keruh	10	10-16
20. Wilis	10	Cembung	Putih keruh	6	8-22
21. Ringgit	9	Cembung	Putih keruh	8	2-6
22. Ringgit	17	Cembung	Putih keruh	6	10-22
23. Ringgit	10	Sedikit Cembung	Putih susu	8	5-14
24. Ringgit	10	Sedikit Cembung	Putih keruh	10	5-17
25. Kerinci	10	Sedikit Cembung	Putih susu	10	2-10
26. Kerinci	10	Cembung	Putih keruh	10	9-12

Ternyata dari hasil pengamatan di laboratorium ke 26 strain yang diuji dengan pengecatan *gram* semuanya bersifat negatif, tiga strain tumbuh cepat (3-5 hari), 6 strain tumbuh lambat (6-8 hari), sedangkan sisanya tumbuh sangat lambat (8-10 hari). Bentuk morfologi bakteri Rhizobium seperti pada Gambar 5.1. Hasil perhitungan jumlah bakteri masing-masing strain di sajikan pada Tabel 5.3.



Gambar 5.1 Morfologi Rhizobium (pembesaran 400 kali)

Tabel 5.3. Jumlah Bakteri Berdasarkan Jumlah Koloni

Kode Strain	Asal Strain	Jumlah bakteri setiap cc bahan
Dataran Rendah		
1. RW1	Wilis	2.740.000
2. RW2	Wilis	3.262.500
3. RW3(G1)	Wilis	4.267.500
4. RR1	Ringgit	2.460.000
5. RR2(G2)	Ringgit	4.442.500
6. RR3	Ringgit	3.785.000
7. RR4	Ringgit	3.187.500
8. RK	Kerinci	3.892.500
Dataran Menengah		
9. MW1	Wilis	3.802.500
10. MW2	Wilis	3.215.000
11. MW3(G3)	Wilis	4.732.500
12. MR1(G4)	Ringgit	4.915.000
13. MR2	Ringgit	3.105.000
14. MK1	Kerinci	3.667.500
15. MK2	Kerinci	3.067.500
16. MK3	Kerinci	3.387.500
17. MK4	Kerinci	3.677.500
Dataran Tinggi		
18. TW1	Wilis	2.812.500
19. TW2	Wilis	3.420.000
20. TW3(G5)	Wilis	4.852.500
21. TR1	Ringgit	2.572.500
22. TR2(G6)	Ringgit	3.925.000
23. TR3	Ringgit	3.835.000
24. TR4	Ringgit	2.960.000
25. TK1	Kerinci	2.990.000
26. TK2	Kerinci	3.535.000

Demikian juga indeks diversitas pada masing-masing ke tinggian tempat untuk setiap varietas disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Indeks Diversitas Strain Rhizobium

Sumber inokulum	Varietas Wilis	Varietas Ringgit	Varietas Kerinci	Nilai Indeks
Dataran Rendah	0,345	0.261	*	0.123
Dataran Menengah	0,342	0.525	0.251	0.110
Dataran Tinggi	0,351	0.257	0.503	0.106

Keterangan : * = hanya satu strain

Berdasarkan perhitungan indeks diversitas ternyata terdapat keragaman strain Rhizobium untuk masing-masing sumber inokulum, baik berdasarkan asal ketinggian tempat maupun varietas kedelai. Keragaman strain Rhizobium tertinggi pada tanaman kedelai varietas Ringgit dicapai pada dataran menengah, kemudian diikuti oleh varietas Kerinci dataran tinggi. Hal ini disebabkan karena hanya ada 2 strain Rhizobium, sehingga nilai indeks diversitasnya menjadi tinggi. Pada tanaman kedelai varietas Wilis indeks diversitas tertinggi diperoleh pada dataran tinggi, kemudian diikuti dataran menengah dan dataran rendah. Varietas Ringgit indeks diversitas tertinggi dicapai pada dataran menengah kemudian diikuti dataran rendah dan dataran tinggi.

Apabila didasarkan pada ketinggian tempat dan varietas kedelai yang digunakan sebagai relung (*niche*) bakteri Rhizobium, indeks diversitas yang tertinggi dicapai pada dataran rendah, kemudian diikuti dataran menengah, dataran tinggi. Bakteri Rhizobium yang berasal dari nodul kedelai varietas Kerinci yang ditanam di dataran rendah tidak dapat dihitung indeks diversitasnya, karena hanya ditemukan 1 (satu) strain Rhizobium. Indeks

diversitas strain *Rhizobium* yang berasal dari tanaman inang kedelai varietas Kerinci menunjukkan yang terendah.

Kenyataan ini mengindikasikan bahwa indeks diversitas strain *Rhizobium* yang berasal dari masing-masing sumber inokulan yang beragam. Dengan demikian tidak menunjukkan pola tertentu bila dilihat dari macam varietas kedelai sebagai inang strain *Rhizobium*. Namun apabila diamati berdasarkan ketinggian tempat tumbuh tanaman inang, maka dataran rendah menunjukkan indeks diversitas tertinggi (0,123) kemudian diikuti oleh dataran menengah (0,110) dan dataran tinggi (0,106). Hal ini menunjukkan makin besar indeks diversitas makin tinggi peluang *Rhizobium* untuk dapat tumbuh dan berkembang. Sehingga dataran rendah merupakan tempat tumbuh strain *Rhizobium* yang optimal, terutama faktor suhu (Lampiran 9). Karena menurut Hirsch dan Skinner (1992) suhu optimal pertumbuhan *Rhizobium* berkisar antara 25 - 30° C. Di samping itu, karena dataran rendah sudah banyak dilakukan pembudidayaan tanaman kedelai. Bahkan anjuran untuk penanaman kedelai masih terbatas pada dataran rendah hingga dataran menengah.

Berdasarkan indeks diversitas yang beragam, berarti ada perbedaan keanekaragaman strain. Perbedaan keanekaragaman strain bisa disebabkan oleh perbedaan populasi. Populasi strain tertinggi merupakan strain dominan. Ternyata diperoleh 6 (enam) strain dominan, yaitu: strain *Rhizobium* yang diperoleh dari nodul akar kedelai varietas Wilis dataran rendah = 4.267.500 (G_1), strain *Rhizobium* yang diperoleh dari nodul akar varietas ringgit dataran

rendah = 4.442.500 (G_2), strain *Rhizobium* yang diperoleh dari nodul akar kedelai varietas Wilis dataran menengah = 4.732.500 (G_3), strain *Rhizobium* yang diperoleh dari nodul akar varietas ringgit dataran menengah = 4.915.000 (G_4), strain *Rhizobium* yang diperoleh dari nodul akar kedelai varietas Wilis dataran tinggi = 4.852.500 (G_5), dan strain *Rhizobium* yang diperoleh dari nodul akar varietas ringgit dataran tinggi 3.925.000 (G_6).

5.2 Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen

Berdasarkan hasil analisis ragam diperoleh informasi bahwa terdapat pengaruh yang nyata antara strain *Rhizobium* terhadap variabel komponen fiksasi nitrogen per tanaman. Hal ini ditunjang oleh variabel organ fiksasi nitrogen (pada pertumbuhan aktif, yaitu umur tanaman kedelai 42 hari) yaitu bobot nodul dan jumlah nodul, bobot kering total, dan kandungan N total per tanaman (Lampiran 10). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa strain *Rhizobium* berpengaruh terhadap kapasitas biofertilisasi nitrogen.

Untuk itu, dilakukan penelusuran terhadap pengaruh strain *Rhizobium*. Uji lanjutan dengan BNJ 5 % diperoleh strain 4 (G_4) memberikan hasil tertinggi, walaupun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan strain-strain yang dicoba. Akan tetapi bila dibandingkan dengan kontrol dan strain standar (*Rhisogin*) ternyata keenam strain yang dicobakan mempunyai kapasitas biofertilisasi nitrogen yang lebih tinggi, ditinjau dari variabel pengamatan jumlah dan bobot nodul, kandungan N total tanaman, dan bobot kering tanaman.

Nilai rerata bobot nodul, dan jumlah nodul, bobot kering total, dan kandungan N total tanaman dapat diamati pada Tabel 5.5. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa strain 4 merupakan strain yang mempunyai kapasitas biofertilisasi nitrogen tertinggi.

Tabel 5.5 Nilai Rerata Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen pada Tanaman Kedelai

Jenis Strain	Variabel pengamatan			
	Jumlah Nodul	Bobot Nodul (mg)	N-tanaman (%)	Bobot kering tanaman (g)
G 1	25.667 ab	28.000 ab	3.4967 a	4.8567 ab
G 2	31.000 ab	27.667 ab	4.7360 b	5.9700 ab
G 3	26.333 ab	26.333 ab	4.5727 b	5.1600 ab
G 4	40.667 b	35.000 b	5.8640 b	7.4467 b
G 5	34.333 b	26.667 ab	5.3470 b	5.5267 ab
G 6	32.000 b	30.333 b	4.6210 b	4.9833 ab
Tanpa inokulasi	12.667 a	19.667 a	1.0160 a	2.8433 a
Rhisogin	23.000 ab	22.000 a	3.1030 a	4.8100 ab
BNJ 5%	19,047	9,885	2,363	3,666

Keterangan: G1-G6 = Strain dominan

Berdasarkan hasil uji beda nyata ternyata strain 4 (G_4) menghasilkan kapasitas biofertilisasi yang paling tinggi, sedangkan yang terendah diperoleh pada kontrol, yaitu tanaman kedelai tanpa inokulasi Rhizobium. Selanjutnya bila dihitung aktifitas spesifik fiksasi nitrogen ternyata ke enam strain dominan di atas nilainya jauh melebihi strain standar Rhisogin maupun dengan kontrol (Tabel 5.6).

Tabel 5.6 Nilai Aktifitas Spesifik Fiksasi N dan Nilai Relatif Aktifitas Fiksasi N Strain Uji

Jenis Strain	Aktivitas Spesifik Fiksasi-N	Relatif aktifitas fiksasi-N (%)	
		Rhisogin	Tanpa Inokulasi
G 1	0,007476	120	377
G 2	0,009108	146	459
G 3	0,006601	106	333
G 4	0,011947	192	602
G 5	0,010476	168	528
G 6	0,007267	117	366
Tanpa inokulasi	0,001983	32	100
Rhisogin	0,006218	100	314

Keterangan : G1 - G6 = Strain dominan

5.3 Keragaan Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai

Berdasarkan hasil analisis ragam diperoleh informasi bahwa untuk variabel komponen hasil bobot biji per tanaman tidak terdapat pengaruh interaksi yang nyata antara strain Rhizobium (G) dengan varietas (V) kedelai. Hal ini ditunjang oleh variabel pertumbuhan (pada pertumbuhan aktif, yaitu umur tanaman kedelai 42 hari) yaitu jumlah daun dan tinggi tanaman. Hasil analisis terhadap bobot nodul dan jumlah nodul, bobot kering total, dan kandungan N total per tanaman pada pertumbuhan aktif tersebut juga mendukung hasil analisis terhadap variabel komponen hasil, yaitu tidak terdapat pengaruh interaksi yang nyata antara strain Rhizobium dengan varietas kedelai (Lampiran 11). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa tidak ada strain Rhizobium yang kompatibilitasnya spesifik terhadap varietas tertentu. Untuk itu, dilakukan penelusuran terhadap faktor utama, yaitu pengaruh strain Rhizobium.

Dari hasil analisis ragam terhadap variabel bobot biji pertanaman diperoleh bahwa pengaruh strain sangat nyata ($P = 0,01$). Uji lanjutan dengan BJK 5 % diperoleh strain 4 (G_4) memberikan hasil tertinggi. Hasil analisis terhadap jumlah daun dan tinggi tanaman serta variabel bobot nodul dan jumlah nodul, bobot kering total, dan kandungan N total per tanaman pada pertumbuhan aktif (umur 42 hari) faktor strain *Rhizobium* juga memberikan pengaruh yang nyata, dimana strain 4 memberikan hasil tertinggi, ditinjau dari parameter bobot biji pertanaman, N total tanaman, bobot dan jumlah nodul, dan bobot kering tanaman.

Nilai rerata bobot biji per tanaman, jumlah daun, tinggi tanaman, bobot nodul, jumlah nodul, bobot kering total, dan kandungan N total tanaman dapat diamati pada Tabel 5.7. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa strain 4 (G_4) merupakan strain unggul untuk ketiga varietas kedelai yang dicoba.

Tabel 5.7 Nilai Rerata Keragaan Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai

Variabel pengamatan					
Perlakuan	Bobot biji per tanaman	N-total (%)	Bobor nodul (g)	Jumlah Nodul	Bobot kering/Tan.
G 0	3.5144 a	2.4944 a	16.667a	6.222 a	1.4444 a
G 1	4.3667 a	3.9111 bc	48.889b	34.667 b	2.5100 b
G 2	3.9333 a	3.8297 bc	37.778b	30.333 b	2.2444 b
G 3	4.6333 ab	3.4397 b	61.111cd	33.444 b	2.3756 b
G 4	5.9833 b	4.3127 c	77.778d	54.444 c	2.6767 b
G 5	4.8300 ab	3.6639 b	47.778bc	33.222 b	2.4533 b
G 6	4.7900 ab	3.7924 bc	53.333bc	37.111 b	2.4022 b
BNJ 5%	1,361	0,608	18,803	8,331	0,497

Keterangan : G0 : Tanpa inokulasi G1-G6 : Strain dominan
 Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

5.4 Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai

5.4.1 Dataran rendah

Berdasarkan hasil analisis ragam diperoleh informasi bahwa untuk variabel komponen hasil bobot biji per tanaman dan bobot biji per hektar tidak terdapat pengaruh interaksi yang nyata antara strain Rhizobium (G) dengan varietas (V) kedelai. Hal ini ditunjang oleh variabel pertumbuhan (pada pertumbuhan aktif, yaitu umur tanaman kedelai 42 hari) yaitu jumlah daun dan tinggi tanaman. Hasil analisis terhadap bobot nodul dan jumlah nodul per tanaman pada pertumbuhan aktif tersebut juga mendukung hasil analisis terhadap variabel komponen hasil, yaitu tidak terdapat pengaruh interaksi yang nyata antara strain Rhizobium dengan varietas kedelai (Lampiran 12). Dengan

demikian dapat dinyatakan bahwa pada dataran rendah tidak ada strain *Rhizobium* yang kompatibilitasnya spesifik terhadap varietas tertentu.

Untuk itu, dilakukan penelusuran terhadap faktor utama, yaitu pengaruh strain *Rhizobium*. Dari hasil analisis ragam terhadap variabel bobot biji pertanaman diperoleh bahwa pengaruh strain sangat nyata ($P = 0,01$). Uji lanjutan dengan BNJ 5 % diperoleh strain 4 (G4) memberikan hasil tertinggi. Hasil analisis terhadap bobot biji per hektar tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, namun demikian menunjukkan kecenderungan bahwa strain 4 memberikan hasil tertinggi. Analisis ragam variabel jumlah daun dan tinggi tanaman serta variabel bobot nodul dan jumlah nodul per tanaman pada pertumbuhan aktif (umur 42 hari), faktor strain *Rhizobium* juga tidak memberikan pengaruh yang nyata, dan menunjukkan adanya kecenderungan bahwa strain 4 memberikan hasil tertinggi, ditinjau dari variabel pengamatan bobot biji per tanaman, bobot biji per hektar, jumlah daun, tinggi tanaman, bobot nodul, dan jumlah nodul.

Nilai rerata bobot biji per tanaman, bobot biji per hektar, jumlah daun, tinggi tanaman, bobot nodul, dan jumlah nodul dapat diamati pada Tabel 5.8. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa strain 4 merupakan strain unggul untuk ketiga varietas kedelai yang dicoba.

Tabel 5.8 Nilai Rata-rata Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Rendah

Perlakuan	Hasil			Pertumbuhan		Nodul		Kandungan N Total tanaman
	Biji per tanaman (g)	Biji per hektar (kg)	Bobot kering per tanaman (g)	Jumlah daun	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah	Bobot (mg)	
G 0	3.4556 a	1.2334 a	2.0022 a	8.111 a	41.478 a	10.222 a	53.111 a	2.0933 a
G 1	4.6167 b	1.6167 b	2.7700 ab	9.000 ab	44.833 ab	14.000 a	72.222 ab	3.4091 b
G 2	4.6556 b	1.5482 b	3.0133 ab	9.778 ab	44.856 ab	18.444 b	56.778 a	3.2794 b
G 3	4.9767 bc	1.7502 b	2.9400 ab	8.333 a	43.822 a	19.333 bc	62.667 ab	3.2337 b
G 4	5.4378 c	1.7939 b	3.5667 b	10.778 b	50.044 b	24.000 c	79.222 b	4.4866 c
G 5	4.4011 b	1.4779 a	2.9044 ab	9.889 ab	44.389 ab	16.333 b	70.667 ab	3.4021 b
G 6	4.3544 b	1.5171 ab	2.7344 ab	8.222 a	41.500 a	15.111 ab	64.667 ab	2.8132 a
BNJ 5%	0,626	0,309	1,096	5,813	5,813	5,543	21,352	0,805

Keterangan : G0 : Tanpa inokulasi G1 - G6 : Strain dominan
 Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Hasil analisis ragam terhadap variabel komponen hasil bobot biji per tanaman dan bobot biji per hektar tidak menunjukkan pengaruh interaksi antara strain Rhizobium dan varietas kedelai yang tidak nyata (P untuk masing-masing variabel tersebut berturut-turut adalah 0,890 dan 0,660). Hasil yang sama diperoleh pada variabel pertumbuhan, yaitu jumlah daun, tinggi tanaman dan bobot kering total tanaman serta variabel bobot nodul per tanaman dan jumlah nodul per tanaman pada pertumbuhan aktif (umur 42 hari). Selengkapnya dapat diamati pada Lampiran 13. Informasi yang dapat diperoleh adalah ternyata kompatibilitas strain Rhizobium tidak ada yang spesifik terhadap varietas kedelai tertentu.

Penelusuran terhadap pengaruh faktor utama untuk variabel bobot biji per tanaman dan bobot biji per hektar diperoleh bahwa faktor strain Rhizobium

berpengaruh nyata (nilai P untuk masing-masing variabel berturut-turut adalah 0,000 dan 0,000). Hal ini didukung oleh variabel-variabel pertumbuhan jumlah daun, tinggi tanaman, bobot kering total tanaman, serta variabel bobot nodul per tanaman dan jumlah nodul per tanaman.

Nilai rerata untuk variabel-variabel tersebut untuk pengaruh faktor strain *Rhizobium* disajikan pada Tabel 5.9.

Tabel 5.9 Nilai Rata-rata Kompatibilitas Strain *Rhizobium* pada Tanaman Kedelai di Dataran Menengah

Faktor Utama	Hasil		Pertumbuhan			Nodul		Kandungan N Total Tanaman (%)
	Biji per tanaman (g)	Biji per hektar (kg)	Jumlah daun	Tinggi tanaman (cm)	Bobot kering total tan. (g)	Jumlah Nodul	Bobot Nodul (mg)	
G 0	3.5411 a	1.2172 a	7.111 a	29.344 a	6.403 a	18.444 a	62.444 a	1,9796 a
G 1	4.3856 b	1.4986 b	9.667 ab	31.111 ab	8.818 b	36.222 bc	85.444 b	3,4334 b
G 2	4.6289 b	1.5706 b	8.778 ab	34.289 bc	9.090 b	35.000 bc	67.000 a	3,5870 bc
G 3	4.7089 b	1.5896 b	8.667 ab	33.789 bc	9.943 b	45.444 d	72.444 ab	3,9688 c
G 4	4.9567 b	1.7206 b	10.556 b	34.600 c	10.026 b	48.667 d	89.778 b	4,3602 c
G 5	4.4211 b	1.4688 ab	7.444 a	37.522 c	8.662 b	30.889 b	79.889 ab	3,0008 b
G 6	4.6567 b	1.5844 b	9.111 ab	35.122 bc	8.476 b	41.889 cd	75.000 ab	3,4249 b
BNJ5%	0.779	0.896	2.741	3.347	1.867	8.506	18.107	0,896

Keterangan : G0 : Tanpa inokulasi G1 - G6 : Strain dominan
Angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Dari Tabel 5.9 didapatkan bahwa G₄ memberikan hasil tertinggi walaupun tidak berbeda nyata dengan G₁, G₂, G₃, G₅, dan G₆; baik pada variabel bobot biji per tanaman maupun pada variabel bobot biji per hektar. Hasil ini didukung oleh variabel-variabel jumlah daun, tinggi tanaman, bobot kering total tanaman, bobot nodul per tanaman, dan jumlah nodul per tanaman.

Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa G4 merupakan strain *Rhizobium* unggul untuk dataran menengah pada ketiga varietas kedelai yang dicoba.

5.4.3 Dataran Tinggi

Hasil analisis ragam terhadap variabel bobot biji per tanaman dan bobot biji per hektar menunjukkan pengaruh interaksi yang tidak nyata (nilai P masing-masing variabel berturut-turut adalah 0,885 dan 0,589). Pengaruh interaksi antara strain *Rhizobium* dan varietas kedelai terhadap variabel jumlah daun, tinggi tanaman, bobot kering total tanaman, dan bobot nodul per tanaman pada umur aktif (42 hari) juga tidak nyata (Lampiran 14). Dari hasil analisis terhadap variabel komponen hasil yang juga didukung oleh variabel komponen pertumbuhan serta variabel bobot nodul pada umur aktif (42 hari) dapat dinyatakan bahwa kompatibilitas strain *Rhizobium* tidak spesifik terhadap varietas kedelai tertentu.

Penelusuran terhadap pengaruh faktor utama strain didapatkan pengaruh yang nyata terhadap variabel bobot biji per tanaman, bobot biji per hektar, jumlah daun, tinggi tanaman, bobot kering total tanaman, bobot nodul per tanaman, jumlah nodul per tanaman pada umur aktif (42 hari). Nilai rerata untuk variabel-variabel tersebut disajikan pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10 Nilai Rata-rata Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai di Dataran Tinggi

Faktor Utama	Hasil		Pertumbuhan			Nodul		Kandungan N tanaman (%)
	Biji per tanaman (g)	Biji per hektar (kg/ha)	Bobot kering tanaman (g)	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun	Jumlah Nodul	Bobot Nodul (mg)	
G 0	3.6433 a	1.2161 a	7.212 a	30.822 a	8.667 a	24.000 a	57.667 a	1.5787a
G 1	4.4889 b	1.4962 b	8.219 a	36.989 b	11.667 b	30.111 ab	80.556 cd	3.1552b
G 2	4.7333 b	1.5866 b	8.267 a	36.467 b	10.556 ab	37.667 b	62.556 ab	2.9657b
G 3	4.5011 ab	1.6031 b	10.089 b	33.522 ab	11.778 b	45.444 c	67.889 abc	2.8976b
G 4	5.0967 b	1.7001 b	11.992 c	37.289 b	13.222 b	47.778 c	85.222 d	4.6608c
G 5	4.4056 b	1.4602 ab	8.959 ab	36.300 b	12.444 b	33.333 ab	75.111 bc	3.6478bc
G 6	4.4133 ab	1.5201 b	8.320 a	33.844 ab	11.889 b	38.444 bc	69.667 abcd	2.7204b
BNI 5%	0.819	0.279	1.751	4.472	2.984	9.259	4.472	1.022

Berdasarkan Tabel 5.10 diperoleh informasi bahwa hasil tertinggi untuk bobot biji per tanaman dan bobot biji per hektar dicapai pada tanaman kedelai yang diinokulasi dengan strain Rhizobium G₄ walaupun tidak berbeda nyata dengan G₁, G₂, G₃, G₅, dan G₆. Hasil ini juga didukung oleh variabel-variabel pertumbuhan dan nodul pada umur aktif (42 hari). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa G₄ merupakan strain unggul untuk ketiga varietas yang dicoba.

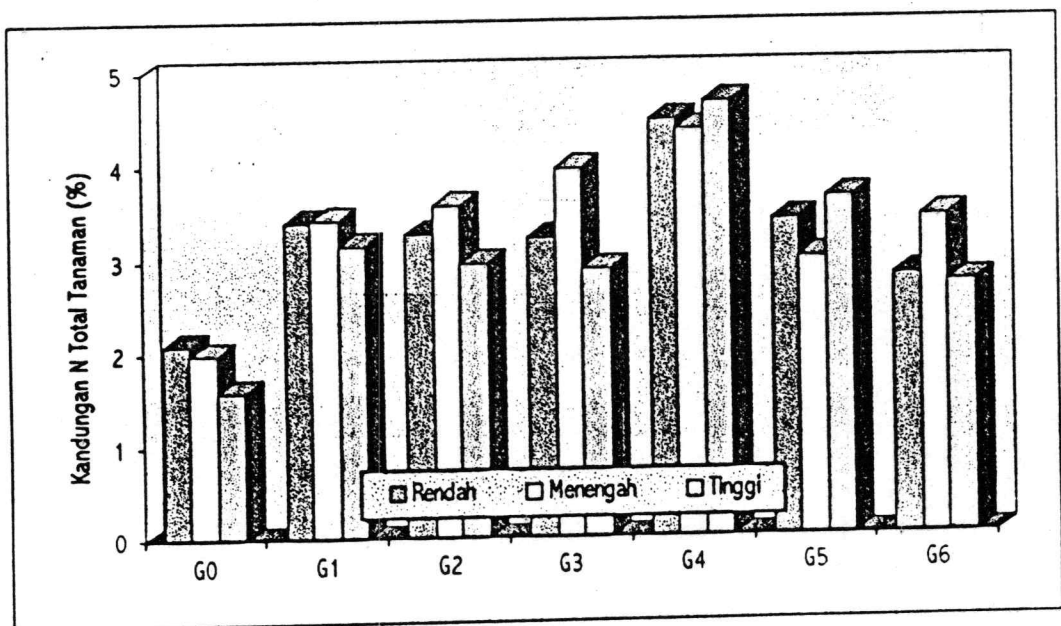
5.4.4 Dataran Rendah, Menengah, dan Tinggi

Merujuk pada uraian 5.4.1, 5.4.2, dan 5.4.3 diperoleh informasi bahwa pengaruh interaksi antara strain (G) dan varietas (V) tidak berbeda nyata hampir pada seluruh variabel yang diamati. Dengan demikian baik untuk dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi strain Rhizobium

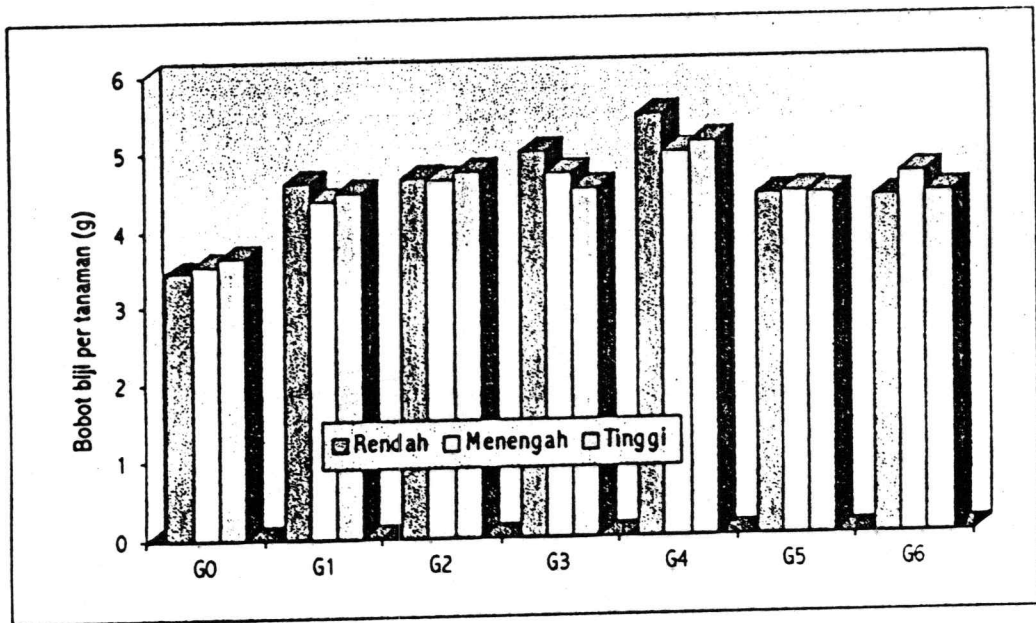
mempunyai kompatibilitas yang tidak spesifik terhadap tiga varietas kedelai yang dicobakan.

Penelusuran terhadap faktor utama strain Rhizobium diperoleh informasi yang sama untuk dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi, yaitu G_4 merupakan strain unggul. Dengan demikian strain G_4 dapat dinyatakan merupakan strain unggul pada semua ketinggian tempat. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.2 dan Gambar 5.3.

Mengingat strain Rhizobium G_4 merupakan strain yang mempunyai kompatibilitas tidak spesifik terhadap varietas kedelai, maka strain G_4 dapat dinyatakan sebagai strain unggul untuk di ketiga ketinggian tempat dan untuk semua varietas kedelai yang dicobakan.



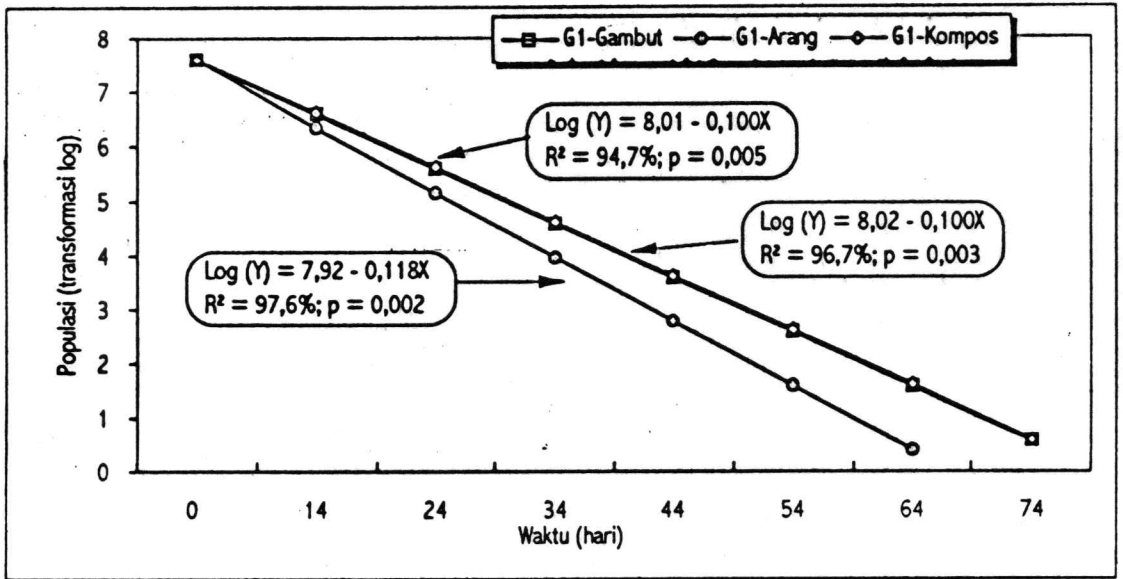
Gambar 5.2 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Kandungan N Total pada Berbagai Ketinggian Tempat



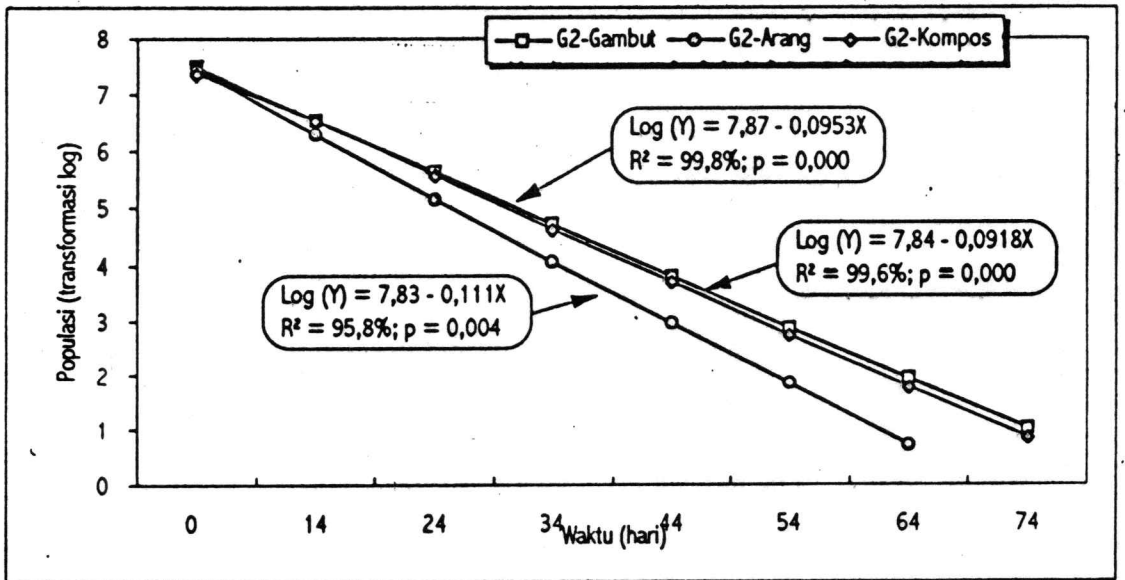
Gambar 5.3 Pengaruh Strain Rhizobium terhadap Hasil Biji per tanaman pada Berbagai Ketinggian Tempat

5.5 Media Pembawa Strain Rhizobium

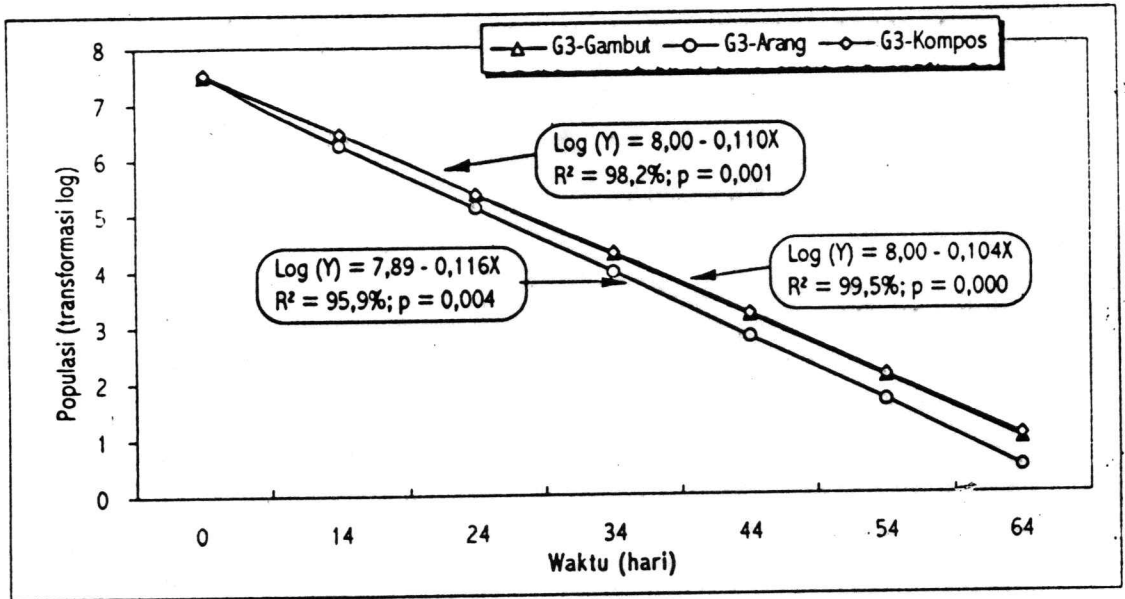
Hasil analisis regresi antara variabel tergantung populasi strain Rhizobium (transformasi logaritma) dengan variabel bebas waktu (dalam hari) selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 15. Penurunan populasi strain Rhizobium dengan bertambahnya waktu penyimpanan untuk masing-masing strain Rhizobium dan macam media pembawa dapat dilihat pada Gambar 5.4, 5.5, 5.6, dan 5.7.



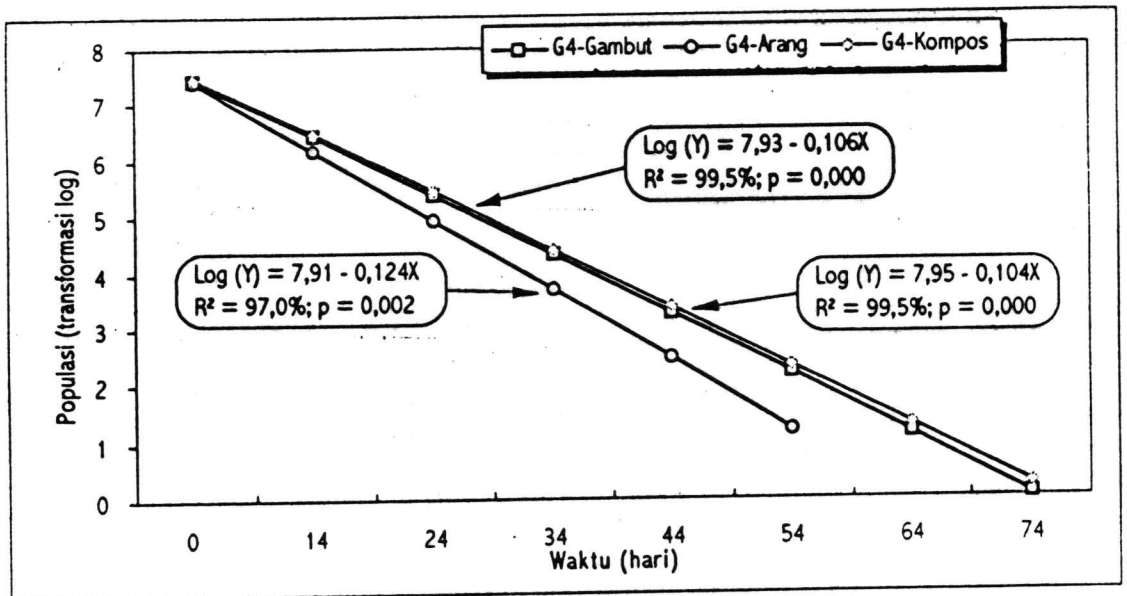
Gambar 5.4 Pola Penurunan Populasi Strain G₁ pada Ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)



Gambar 5.5 Pola Penurunan Populasi Strain G₂ pada Ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)



Gambar 5.6 Pola Penurunan Populasi Strain G₃ pada Ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)



Gambar 5.7 Pola Penurunan Populasi Strain G₄ pada Ketiga Media Pembawa (Gambut, Kompos, Arang)

Lama daya tahan hidup masing-masing strain pada masing-masing media pembawa berdasarkan analisis regresi dan perhitungan analitis dapat dilihat pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Umur Tahan Hidup (hari) Strain Rhizobium pada Masing-masing Media Pembawa

Jenis Strain	Media Pembawa		
	Gambut	Kompos	Arang
G 1	70	70	59
G 2	75	72	62
G 3	64	64	59
G 4	65	67	56

Daya tahan hidup strain G_4 pada media pembawa arang mencapai 56 hari, sedangkan pada media pembawa gambut dan kompos G_4 mencapai 64 hari. Strain G_3 mampu menghasilkan daya tahan hidup lebih lama dibandingkan dengan strain-strain yang lain pada semua media yang digunakan. Namun secara umum media pembawa gambut dan kompos mempunyai kemampuan untuk mempertahankan kehidupan bakteri Rhizobium yang terlama. Di samping itu, dari Tabel 5.11 terdapat indikasi walaupun strain G_4 yang merupakan strain paling unggul, ternyata kemampuan hidupnya lebih rendah dibandingkan dengan strain-strain uji yang lain.

BAB 6

Bab 6

PEMBAHASAN

6.1 Biodiversitas Rhizobium Indigen Lahan Kering

Indeks biodiversitas Rhizobium indigen lahan kering pada tiga ketinggian tempat berbeda, hal ini tampak dari pola penyebaran nodul pada ketiga varietas tanaman kedelai. Pola penyebaran nodul besar menyebar (pola 3) merupakan pola penyebaran nodul yang terbanyak, ditemukan pada varietas Wilis pada dataran rendah maupun dataran menengah serta varietas Kerinci pada dataran menengah. Kemudian diikuti dengan pola penyebaran nodul kecil di akar utama, yaitu pada varietas Wilis dan varietas Ringgit yang ditanam di dataran tinggi. Demikian juga, pola penyebaran nodul yang lain hanya ditemukan pada satu varietas di masing-masing ketinggian tempat. Hal ini menunjukkan bahwa pola penyebaran nodul pada per tanaman kedelai baik pada dataran rendah, dataran menengah, maupun dataran tinggi beragam. Walaupun ada kecenderungan bahwa pola 3 yang paling banyak didapatkan.

Oleh sebab itu dapat dikemukakan bahwa pola penyebaran nodul tidak tergantung pada ketinggian tempat ~~tempat~~ tumbuh tanaman kedelai dan varietas. Akan tetapi tampak adanya keragaman pola penyebaran nodul pada pertanaman kedelai baik untuk varietas Wilis, varietas Ringgit, maupun varietas

Kerinci yang ditanam di dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi. Menurut Somasegaran *et al.* (1982) ada 9 pola sebaran nodul akar.

Kenyataan ini menunjukkan bahwa pola penyebaran nodul pada pertanaman kedelai ditentukan oleh strain *Rhizobium* yang bersimbiosis dengan tanaman kedelai. Hasil penelitian Pabendon *et al.* (1991) pola sebaran nodul akar kedelai pada umur 45 hari mengikuti pola 1-3 tergolong baik, karena ukuran nodul besar dan berkumpul pada pangkal akar. Freire (1977) mengemukakan ukuran, warna, dan letak nodul akar pada sistem perakaran dapat dipakai sebagai petunjuk untuk menyatakan efektif tidaknya simbiosis antara berbagai nodul akar dengan tanamannya. Demikian pula Black (1968) dalam Pabendon *et al.* (1991) juga telah mengemukakan nodul akar yang efektif pada umumnya besar dan berkumpul pada pangkal akar, sedangkan yang tidak efektif ukuran nodulnya kecil dan banyak menyebar pada sistem perakaran.

Lebih lanjut setelah dilakukan pengamatan karakteristik strain *Rhizobium*, dan berdasarkan uji gram ke 26 strain *Rhizobium* yang berhasil diisolasi semuanya gram negatif. Secara rinci ke 26 strain *Rhizobium* tersebut terdiri dari 8 strain diperoleh di dataran rendah, 9 strain ditemukan di dataran menengah, dan 9 strain ditemukan di dataran tinggi. Dari ke 26 strain tersebut ternyata mempunyai keragaman strain yang cukup tinggi, bila dilihat dari karakteristik pertumbuhan koloni *Rhizobium*. Namun, bila dikelompokkan berdasarkan laju pertumbuhan koloni, maka ada 3 strain tumbuh cepat (3-5 hari), 6 strain tumbuh lambat (6-8 hari), dan 17 strain tumbuhnya sangat lambat.

Hal ini bisa dimaklumi karena bakteri *Rhizobium* yang banyak ditemukan di daerah tropis merupakan bakteri *BradyRhizobium* yang salah satu cirinya pertumbuhannya lambat (Hirsch dan Skinner, 1992).

Berdasarkan perhitungan indeks diversitas ternyata keragaman strain *Rhizobium* untuk masing-masing sumber inokulum berbeda-beda, bila diamati berdasarkan tempat dan varietas kedelai sebagai tanaman inang menunjukkan pola yang tidak beraturan. Akan tetapi, bila dilihat atas dasar varietas kedelai sebagai tanaman inang strain *Rhizobium*, maka kedelai varietas ringgit yang tumbuh di dataran menengah dan kedelai varietas Kerinci yang tumbuh di dataran tinggi mempunyai keragaman yang lebih tinggi, masing-masing 0,670 dan 0,503. Tingginya nilai indeks diversitas tersebut karena hanya ditemukan masing-masing dua strain *Rhizobium*.

Bila dicermati berdasarkan ketinggian tempat, maka strain *Rhizobium* yang bersimbiosis dengan kedelai yang tumbuh di dataran rendah menghasilkan indeks diversitas tertinggi; kemudian diikuti oleh *Rhizobium* yang bersimbiosis dengan kedelai yang tumbuh di dataran menengah (0,110) dan *Rhizobium* yang bersimbiosis dengan kedelai yang tumbuh di dataran tinggi (0,106). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Rhizobium* yang bersimbiosis dengan kedelai yang tumbuh di dataran rendah, mempunyai keragaman yang lebih tinggi. Tingginya keragaman tersebut, karena ketinggian tempat di dataran rendah merupakan tempat tumbuh yang optimal bagi pertumbuhan *Rhizobium*. Yutono (1985) menyatakan bahwa suhu optimal bagi pertumbuhan *Rhizobium*

berkisar antara 18 - 28° C. Di samping itu juga, kenyataan menunjukkan bahwa pada dataran rendah memang merupakan daerah yang telah banyak dibudidayakan pertanaman kedelai. Sehingga peluang keragaman Rhizobium di dataran rendah lebih besar.

Demikian pula dengan jumlah bakteri Rhizobium, ternyata masing-masing ketinggian tempat ada 2 strain yang jumlahnya terbesar, sehingga ada 6 strain dominan. Berturut-turut jumlah bakteri masing-masing strain dominan yang berasal dari dataran rendah 4.267.500 dan 3.892.500, jumlah bakteri masing-masing strain dominan yang berasal dari dataran menengah 4.732.500 dan 4.915.000, dan jumlah bakteri masing-masing strain dominan yang berasal dari dataran tinggi 4.852.500 dan 3.925.000. Sehingga dari 26 strain Rhizobium ternyata jumlah bakteri beragam, dan ada 6 strain Rhizobium yang paling banyak, hal ini menunjukkan ke 6 strain bakteri Rhizobium tersebut merupakan strain Rhizobium dominan.

Dengan memperhatikan pola penyebaran nodul, karakteristik pertumbuhan koloni bakteri Rhizobium, jumlah bakteri Rhizobium, serta indeks diversitas; maka dapat disimpulkan bahwa terdapat biodiversitas Rhizobium indigen lahan kering. Dari keragaman jumlah bakteri Rhizobium indigen lahan kering, terdapat 6 strain Rhizobium indigen yang dominan, yaitu G₁, G₂, G₃, G₄, G₅, dan G₆.

6.2 Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen

Kapasitas biofertilisasi nitrogen merupakan kemampuan penambatan nitrogen atmosfer oleh tanaman bernodul akar. Biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai dapat diekspresikan dengan variabel jumlah nodul, bobot nodul, N total tanaman, dan bobot kering tanaman pada umur aktif (umur 42 hari), serta relatif aktivitas fiksasi nitrogen. Ternyata strain *Rhizobium* berpengaruh nyata terhadap jumlah nodul dan bobot nodul, kandungan N total tanaman dan bobot kering total tanaman. Nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan strain 4 (G_4) dan tidak berbeda nyata dengan strain uji yang lainnya, namun berbeda nyata dengan kontrol maupun strain standar.

Apabila dihitung relatif aktivitas fiksasi nitrogen strain 4, ternyata 192 % lebih tinggi dari strain standar (*Rhisogin*); dan bila dibandingkan dengan kontrol ternyata strain 4 nilai relatif aktifitas fiksasi nitrogen mencapai 602 %. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas fiksasi nitrogen strain *Rhizobium* indigen jauh lebih tinggi dari kontrol maupun strain standar. Kenyataan ini menunjukkan, bahwa strain *Rhizobium* indigen telah beradaptasi dengan varietas kedelai yang digunakan maupun lingkungannya. Berbeda dengan strain rhizogen yang merupakan strain introduksi, menyebabkan hasil bobot kering tanaman dan bobot kering nodul akar serta kandungan N tanaman lebih rendah (Tabel 5.5). Imas dan Hadijaya (1994) menyatakan bahwa nilai efektifitas simbiotik dari 20 strain uji lebih tinggi dari pada kontrol maupun strain standar (USDA-110).

Hasil penelitian Suryatmi *et al.* (1990) inokulasi *Rhizobium* dengan legin, rhisogin, dan inokulum asal Brazil tidak meningkatkan bobot nodul akar, terutama bila dibandingkan dengan inokulasi dengan tanah bekas pertanaman kedelai; berarti daya inokulasi inokulum-inokulum tersebut rendah untuk dapat menggantikan strain asli yang terdapat di dalam tanah. Dari hasil Kartika *et al.* (1988) mengemukakan bahwa dengan inokulasi *Rhizobium* akan dapat meningkatkan kadar N jaringan tanaman kedelai sebesar 7,08% dibandingkan dengan tanpa inokulasi. Dengan demikian strain indigen mempunyai kemampuan fiksasi nitrogen lebih tinggi daripada strain *Rhizobium* hasil introduksi. Sehingga strain strain *Rhizobium* indigen dapat dinyatakan sebagai strain yang lebih unggul, bila dilihat dari kapasitas biofertilisasi nitrogen.

Sesuai dengan pendapat Freire (1977) bahwa pencarian strain lokal perlu terus dilakukan, karena strain tersebut lebih mampu beradaptasi dengan lingkungannya; toleran terhadap keadaan stress, menunjukkan efisiensi dan daya saing yang lebih tinggi dibandingkan dengan strain introduksi.

Hasil penelitian Nunung *et al.* (1988) menyatakan bahwa nilai relatif aktifitas spesifik fiksasi nitrogen dan aktifitas pertumbuhannya, tampak pengaruh *Rhizobium* introduksi terhadap pertumbuhan tanaman dan kandungan N tanaman lebih rendah dibandingkan pengaruh *Rhizobium* indigen. Hal ini menunjukkan bahwa strain dominan yang diuji dapat meningkatkan kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai di lahan kering.

6.3 Keragaan Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai

Tidak terdapat interaksi yang nyata antara strain Rhizobium dengan varietas kedelai, akan tetapi strain Rhizobium berpengaruh nyata terhadap jumlah nodul, bobot nodul, N total tanaman, bobot kering total tanaman, hasil biji per tanaman. Hal ini menandakan bahwa semua strain uji pada semua varietas kedelai yang dicobakan mampu membentuk nodul akar yang efektif memfiksasi nitrogen dari udara (Tabel 5.7). Hal ini menunjukkan bahwa dalam pembentukan nodul akar tidak terdapat interaksi khusus antara bakteri nodul akar dengan varietas kedelai. Karena pembentukan organ-organ fiksasi nitrogen akan sangat ditentukan oleh bakteri Rhizobium yang diinokulasikan. Demikian pula pendapat Soemarno *et al.* (1987) dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa pada umumnya varietas kedelai mampu membentuk nodul akar dengan baik apabila diberikan bakteri Rhizobium yang efektif dan efisien.

Untuk mengetahui nodul akar yang efektif dan efisien menurut Anas (1989) kriteria utama yang sering dipakai adalah kandungan nitrogen total tanaman yang diperoleh dari simbiosis Rhizobium dengan tanaman kedelai. Lebih lanjut dikemukakan untuk mengetahui efektif tidaknya bakteri nodul dapat pula diketahui dengan mengukur bobot total tanaman. Efektivitas nodul akar dapat dinilai dari adanya warna merah pada bagian tengah nodul akar setelah dibelah dan dari letak nodul akar pada sistem perakaran. Dalam menentukan ciri-ciri nodul akar yang efektif di lapang dapat diungkapkan dari penilaian pertumbuhan tanaman dan nodul akarnya (Yutono, 1981).

Dari hasil biji per tanaman ternyata strain 4 menunjukkan hasil tertinggi, walaupun tidak berbeda nyata dengan strain 3, strain 5, dan strain 6. Perbedaan hasil ini ternyata juga diikuti oleh variabel kandungan N total tanaman, bobot kering total tanaman, bobot nodul, dan jumlah nodul pada umur aktif (Tabel 5.7). Perbedaan hasil ini ditentukan oleh efektivitas simbiotik tanaman kedelai dengan strain *Rhizobium*. Efektivitas simbiotik ditentukan oleh kemampuan tanaman membentuk nodul, dan bobot kering total tanaman. Dengan demikian akan terjadi pertumbuhan tanaman yang lebih baik yang akan mendukung terbentuknya komponen hasil dan pada akhirnya akan dapat meningkatkan hasil biji.

Hasil penelitian Artha (1992) dengan perlakuan *Rhizobium* berpengaruh nyata terhadap jumlah cabang, komponen hasil, dan hasil biji kedelai. Bahkan hasil biji kedelai meningkat 14% dibandingkan dengan tanpa inokulasi *Rhizobium*.

Himas dan Hadijaya (1994) mengemukakan efektivitas simbiotik menunjukkan kemampuan tanaman bernodul akar memanfaatkan N_2 molekuler yang diekspresikan sebagai nisbah bobot kering total bagian atas tanaman uji dengan bobot kering bagian atas tanaman kontrol. Tingginya hasil biji per tanaman pada perlakuan strain 4 juga disebabkan karena populasi bakteri persatuan volume juga tinggi (Tabel 5.3). Kenyataan ini didukung oleh Yutono (1985) nodul-nodul akar yang efektif dan mampu membentuk nodul, bila mengandung populasi bakteri *Rhizobium* yang tinggi. Lebih lanjut juga

dinyatakan bahwa berkurangnya populasi bakteri dalam tanah selain dipengaruhi oleh faktor fisik, kimia, dan biologi tanah, juga ditentukan oleh sifat-sifat genetiknya. Salah satu usaha yang dilakukan untuk menjamin keserasian antara bakteri-bakteri nodul akar, sehingga tercipta kondisi penambatan N secara optimal apabila pemberian strain bakteri nodul akar dalam bentuk inokulan yang sesuai dengan tanaman inang (Vincent, 1982).

Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan bahwa terdapat biodiversitas strain Rhizobium terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai, yang dinyatakan oleh bobot biji per tanaman, yang ditunjang oleh variabel jumlah dan bobot nodul, kandungan N total tanaman, dan bobot kering total tanaman.

6.4 Kompatibilitas Strain Rhizobium pada Tanaman Kedelai

Kompatibilitas strain Rhizobium pada tanaman kedelai merupakan tingkat kesesuaian antara varietas kedelai dengan strain Rhizobium pada berbagai ketinggian tempat. Dari hasil penelitian dengan menggunakan 6 strain Rhizobium pada tiga varietas kedelai di dataran rendah, menengah, dan tinggi, ternyata tidak terdapat pengaruh interaksi antara strain dan varietas (Lampiran 11, 12, dan 13). Akan tetapi, strain Rhizobium berpengaruh nyata terhadap semua variabel yang diamati untuk semua ketinggian tempat penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa strain Rhizobium yang diuji tidak berinteraksi khusus dengan varietas kedelai, atau dapat dinyatakan bahwa strain Rhizobium

mempunyai kompatibilitas yang tidak spesifik terhadap tiga varietas kedelai yang dicobakan.

Kenyataan ini menandakan bahwa ketiga varietas mempunyai kompatibilitas yang sama dengan isolat yang diuji dalam hal hasil biji pertanaman dan perhektar, bobot kering total tanaman, jumlah daun dan tinggi tanaman, dan jumlah dan bobot nodul, serta kandungan N total tanaman. Walaupun Vincent (1982) menyatakan bahwa terjadinya simbiosis sangat tergantung pada keserasian atau kecocokan antara Rhizobium dengan legum, sehingga pada keduanya terdapat kespesifikan dalam memilih simbion.

Strain Rhizobium tidak ada yang spesifik untuk masing-masing ketinggian tempat, karena kondisi iklim khususnya suhu masih pada batasan optimal bagi Rhizobium (Lampiran 16). Hal ini menandakan bahwa tempat tumbuh tanaman kedelai dan strain Rhizobium masih pada batas yang cocok untuk pertumbuhan dan perkembangannya.

Menurut Yutono (1985) suhu optimal bagi Rhizobium berkisar antara 18 °C hingga 28 °C, minimal 3 °C dan maksimal 45 °C, sedangkan menurut Hirsch dan Skinner (1992) suhu optimal bagi pertumbuhan Rhizobium berkisar antara 25 - 30 °C. Hal ini berbeda dengan pendapat Pasaribu *et al.* (1988) bahwa keberhasilan usaha inokulasi Rhizobium akan ditentukan oleh tiga faktor yang saling berkaitan, yakni strain Rhizobium, varietas kedelai, dan lingkungan tumbuh tanaman/Rhizobium.

Penelusuran terhadap faktor utama strain *Rhizobium* ternyata strain 4 merupakan strain unggul, karena strain 4 dapat menghasilkan hasil biji per tanaman maupun per hektar yang tertinggi untuk semua ketinggian tempat. Walaupun strain 4 tidak berbeda nyata dengan strain 1, 2, 3, dan 6 (Tabel 5.8, 5.9, dan 5.10), sedangkan tanpa inokulasi *Rhizobium* menghasilkan hasil biji terendah, demikian pula untuk semua variabel pengamatan di ketiga tempat. Hal ini menunjukkan tanpa inokulasi *Rhizobium* organ-organ fiksasi N masih dapat terbentuk, akan tetapi tidak efisien. Holland *et. al.* (1969) juga mengemukakan bahwa *Rhizobium* yang tidak aktif mungkin saja dapat membentuk nodul akar, tetapi tidak terbentuk *laghaemoglobin* sehingga proses penambatan N_2 udara tidak dapat berlangsung.

Perbedaan kompatibilitas *Rhizobium* indigen masing-masing strain *Rhizobium* yang diinokulasikan mempunyai karakteristik yang berbeda (Tabel 5.2). Walaupun pada strain 4 jumlah *Rhizobium* maupun proporsinya yang tertinggi (Tabel 5.7). Sehingga strain 4 menunjukkan pengaruh yang terbaik terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai, dan organ fiksasi nitrogen yaitu jumlah dan bobot nodul.

Pertumbuhan tanaman kedelai dan strain *Rhizobium* akan berpengaruh terhadap fiksasi nitrogen. Demikian pula dengan aktivitas spesifik fiksasi nitrogen strain 4 juga tertinggi, bahkan bila dilihat dari nilai relatif fiksasi nitrogen strain 4 mencapai 192% lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai relatif fiksasi nitrogen rhisogin. Tampak bahwa nilai relatif fiksasi nitrogen strain

4 lebih tinggi daripada kontrol (tanpa inokulasi), yaitu 602%. Sehingga strain 4 dapat dinyatakan sebagai strain unggul untuk ketiga varietas kedelai baik yang di tanam pada dataran tinggi, dataran menengah, maupun dataran rendah.

Keunggulan strain G_4 didukung pula oleh faktor lingkungan fisik, baik dari segi tanah maupun iklim (Lampiran 9). Hasil penelitian Lawn dan Bushby (1982) menyatakan bahwa genotipe tajuk tanaman terhadap aktivitas nodul berkaitan erat dengan bobot nodul dan aktivitas nodul spesifik. Nurhayati *et al.* (1988) mengemukakan bahwa hanya strain tertentu saja yang menyebabkan pembentukan nodul akar dan memfiksasi N secara efektif dan efisien pada kedelai.

Menurut Pabendon *et al.* (1991) kualitas Rhizobium yang terdapat di alam kadang-kadang kurang sesuai, sehingga tidak mampu menambat nitrogen dari udara secara maksimal. Di samping itu juga tanaman inang sangat berperan dalam pembentukan dan perkembangan nodul akar, karena pasokan karbohidrat dari tanaman inang ke nodul sangat berpengaruh terhadap penambatan nitrogen dari udara (Wynne, *et al.*, 1986).

Spaink (1995) tanaman inang yang dapat bersimbiosis dengan Rhizobium dicirikan oleh beberapa produk kimia yang dihasilkan, antara lain *flavonoid*, *lipo-chitin oligosacharida* (LCO), *bakteri exopolysacharida* (EPSc), dan *lectin*.

6.5 Media Pembawa Strain Rhizobium

Daya tahan hidup untuk media pembawa gambut dan kompos lebih lama dibandingkan dengan media pembawa arang. Akan tetapi, media pembawa gambut tidak berbeda nyata dengan media pembawa kompos, sedangkan media pembawa arang merupakan media pembawa yang terjelek. Karena media pembawa gambut dan kompos mengandung cukup bahan organik, sedangkan media pembawa arang hanya didominasi oleh karbon (Lampiran 17). Pada hal bahan organik juga penting bagi Rhizobium untuk mempertahankan hidupnya. Sebab menurut Hirsch dan Skinner (1992) bahan seperti biotin, tiamin, dan asam pantotenat dapat memperbaiki pertumbuhan Rhizobium.

Penambahan CaCO_3 pada media pembawa gambut dan kompos dengan tujuan untuk menaikkan pH hingga 6,8 ternyata dapat mempertahankan daya hidup bakteri Rhizobium. Pada media pembawa arang diberikan MgSO_4 agar dapat menurunkan pH menjadi pH 6,8 tidak menunjukkan pengaruh yang positif dibandingkan dengan penambahan CaCO_3 pada media pembawa gambut ataupun media pembawa kompos (Lampiran 17). Pada tanah masam dianjurkan kombinasi inokulasi Rhizobium dan *seed pelleting* dengan CaCO_3 , dolomit, atau bubuk batu fosfat akan dapat menjamin pembentukan nodul akar dan fiksasi nitrogen (Yutono, 1985).

Hasil penelitian Saraswati *et al.* (1993) bobot kering tanaman bagian atas ternyata pada perlakuan pengapuran, dengan pemberian arang sekam saja

pengaruhnya tidak terlihat, tetapi bila diinokulasi *BradyRhizobium* hasilnya lebih tinggi di bandingkan dengan campuran sekam maupun pupuk kandang.

Dengan melihat bobot kering bagian atas tanaman sebagai variabel untuk menentukan efektivitas Rhizobium, maka media tempat tumbuh tanaman dan Rhizobium juga menentukan. Jadi kemampuan hidup strain Rhizobium ditentukan oleh jenis media pembawa, sedangkan di lapang di samping pertumbuhan tanaman kedelai juga ditentukan oleh tempat tumbuh tanaman kedelai. Selanjutnya Yutono (1981) menyatakan bahwa, bahan pembawa (carier) gambut dan kompos merupakan pembawa yang baik bagi Rhizobium yang akan diinokulasikan. Demikian pula dalam pengujian kualitas inokulum Rhizobium, ternyata media pembawa gambut steril yang dapat digunakan Yutono (1985). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa sebagai media pembawa strain Rhizobium dapat digunakan gambut atau kompos.

BAB 7

Bab 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

- 7.1.1 Terdapat biodiversitas strain *Rhizobium* indigen asal lahan kering dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi, ditinjau dari parameter indeks diversitas, pola penyebaran nodul, karakteristik pertumbuhan koloni, dan jumlah (proporsi) selnya yang tidak sama.
- 7.1.2 Pada dataran rendah ditemukan strain dominan G_1 dan G_2 , di dataran menengah ditemukan strain dominan G_2 dan G_3 , di dataran tinggi ditemukan strain dominan G_5 dan G_6 .
- 7.1.3 Strain *Rhizobium* dominan pada dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi dapat meningkatkan kapasitas biofertilisasi nitrogen pada tanaman kedelai di lahan kering, ditinjau dari parameter organ fiksasi nitrogen.
- 7.1.4 Keragaan strain *Rhizobium* yang diekspresikan pada pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai ternyata menunjukkan perbedaan, strain G_4 memberikan hasil yang tertinggi ditinjau dari parameter pertumbuhan, hasil dan nodul.
- 7.1.5 Kompatibilitas strain *Rhizobium* tidak spesifik terhadap varietas Wilis, Ringgit, dan Kerinci. Bahwa G_4 merupakan strain

Rhizobium yang sesuai untuk varietas Wilis, varietas Ringgit, dan varietas Kerinci bila ditanam di dataran rendah, dataran menengah, dan dataran tinggi.

7.1.6 Media pembawa (*carrier*) yaitu gambut dan kompos dapat digunakan untuk inokulan strain Rhizobium indigen.

7.2 Saran

7.2.1 Pemupukan biologi dapat dilakukan melalui biofertilisasi nitrogen, sehingga dapat mengurangi penggunaan pupuk N sintesis bagi tanaman kedelai.

7.2.2 Dalam upaya meningkatkan hasil produksi kedelai pada lahan kering dapat dilakukan inokulasi dengan strain Rhizobium indigen G₄.

7.2.3 Tanaman kedelai di lahan kering dapat ditanam hingga ketinggian 1.100 meter dari permukaan laut.

7.2.4 Melalui biofertilisasi nitrogen dapat meningkatkan sumbangan N bagi tanaman kedelai, karena dapat memberikan sumbangan N bagi tanaman kedelai 3 sampai 6 kali lebih besar dibandingkan tanpa inokulasi Rhizobium.

7.2.5 Sebagai media pembawa (*carrier*) strain Rhizobium dapat digunakan gambut atau kompos.

7.2.6 Selanjutnya dianjurkan untuk penelitian lanjutan dalam upaya meningkatkan produk legum indigen dengan menggunakan media pembawa (*carrier*) gambut atau kompos.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T., dan Sumarno, 1993. Upaya Peningkatan Produksi Kedelai di Jawa Timur. *Pertemuan Teknis Tim Ahli Bimas dan PPS Jawa Timur*. Batu, No. 93-168 : 34 Hal.
- Ainurrasyid, 1994. *Statistika Pertanian*. Fakultas Pertanian Unibraw. 186 hal.
- Anas, I, 1989. *Biologi Tanah Dalam Praktek*. Petunjuk Laboratorium, PAU-IPB, Bogor, 161 Hal.
- Anonim, 1994. *Petunjuk Analisis Kesuburan Tanah*. Jur. Tanah dan Pemupukan, Fak. Pertanian, Unibraw, Malang, 48 Hal.
- Anwarhan, H., H. Supriadi dan D. Sugandi, 1991. Penelitian Sistem Usaha Tani Tanaman Ternak di Lahan Kering Batumarta Sumatera Selatan dan Dampaknya terhadap Petani Transmigran. *Simposium Nasional Penelitian dan Pengembangan Sistem Usaha Tani Lahan Kering yang Berkelanjutan*, Malang.
- Artha, I.N, 1992. Respon Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) terhadap Inokulasi *Rhizobium japonicum* dan Pupuk Anorganik di Lahan Kering pada Musim Hujan. *Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus*, Balitbang, Bogor, Hal.: 339 - 344.
- Baharsyah, S. 1980. Penghapusan Subsidi Pupuk: Suatu Tijakan Ekonomis. *Lokakarya Efisiensi Penggunaan Pupuk*. Puslitan, Bogor, 13 Hal.
- Baharsyah, J.S., D. Suardi, dan I.Las, 1985. Hubungan Iklim dengan Pertumbuhan Kedelai. dalam *Kedelai*. S. Somaatmadja (ed). Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan*, Bogor, Hal. 87-100.
- Ballati, P.A., and S.G. Pueppke, 1990. Cultivar Specific Interactions of Soybean with *Rhizobium fredii* are regulated by the root. *Plant and Soil* 196: 91 - 112.
- Bergersen, F. J, 1980. *Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation*. John Wiley & Sons, Toronto.
- Black, C.B, 1967. *Soil and Plant Relationship*. John Willey and Sons, N.Y. 512 p.

- Bollen, G.J, 1969. The Selective Effect on Heat Treatment of Mikroflora of a Greenhouse Soil. *Neth. J. Pl. Path.* 75: 157 - 163.
- Briil, W.J, 1980. *Nitrogen Fixation*. pp. 53 - 76. In Miller, M (ed). Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding. John Willey & Sons, New York.
- Brockwell, J, 1982. Inoculation Methods for Field Experimenters and Farmers. pp. 211 - 227. In Vincent, J.M.(ed). *Nitrogen Fixation on Legumes*. Academic Press, Australia.
- Burns, R.C. and W.F. Hardy, 1975. *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants*. Springer-Verlag Berlin, Humburg - New York.
- Chang, J.H, 1968. *Climate and Agriculture. An Ecological Survey*. Aldine Publishing Company, Chicago. 626 p.
- Date, R.A, 1970. Mikrobiological Problems in Inoculation and Nodulation of Legumes. *Plant and Soil* 32: 703.
- , 1982. Collection, Isolation, Characterization and Conservation of Rhizobium. pp. 95 - 108. In Vincent, J.M. (ed). *Nitrogen Fixation in Legumes*. Academic Press, Sydney.
- Davis, R.J., J. Holliday., and F.B. Cady, 1984. Preliminary Data from World-Wide Legume Inoculation Trials. pp. 11 - 15. In C. Veeger and W.E. Newton (eds). *Advances in Nitrogen Fixation Research*. Nijhof/Junk, The Haque.
- Dilworth, M. and A. Glenn, 1984. *How does a legume nodule works?*. TIBS, December: 519 - 523.
- Dowdle, S.F. and B.B. Bohlool, 1985. Predominance of fast-growing *Rhizobium japonicum* in a soybean field in the People's Republic of China. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 1171 - 1176.
- Fagi, A.M., dan F.Tangkuman, 1985. Pengelolaan Air untuk Pertanaman Kedelai. Dalam S. Somaatmadja (ed). *Kedelai*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor, Hal.: 103-119.

- El-Swafy, S.A., Pathak, P., Rego, J.J., and Singh, S. 1985. Soil management for optimized productivity under rainfed conditions in the semi-arid tropics. *Adv. Soil Sci.* 1: 1- 64.
- Fred, E.B., I.L. Baldwin and E. McCoy, 1932. *Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants*. Madison. pp. 19 - 23.
- Freire, J.R.J, 1977. Inoculation of Soybeans. Dalam J.M. Vincent, A.s. Whitney dan J. Bose (ed). *Exploiting the Legume-Rhizobium Symbiosis in Tropical Agriculture*. Miscellaneous Publications 145. *Dept. Agron. and Soil Sci.* Univ. of Hawaii.
- Freire, J.R.J, 1982. Some Important Soil Limiting Factors of Symbiosis Rhizobium/Legumes. *Unpublished*. 40p.
- Gardner, E.P., R.B. Pearce., and R.L. Mitchel, 1985. *Physiology of Crop Plants*. The Iowa State University Press. 632 p.
- Gibson, A. H, 1971. Factors in the Physical and Biological Environment Affecting Nodulation and Nitrogen Fixation by Legumes, *Plant and Soil Spec.* Vol. 139 - 152.
- Giller, K.E and K.F. Wilson, 1991. *Nitrogen Fixation Tropical Cropping Systems*. C.A.B International, Wallingford, Oxon OX10 8DE UK. 313 p.
- Graham, P.H, 1985. Problems of Soybean Inoculation in The Tropics. pp. 951 - 959. In *World Soybean Research Conference III. Proceedings*, R. Shibles (ed). Westview Press, Boulder.
- , J. Bale., D. Becker., M. Fried., J. Roskoski., K.T. Mackaay and E. Craswell, 1988. The Contribution of Biological Nitrogen Fixation to Plant Production: An Overview of The Symposium and Its Implication. *Plant and Soil* 108: 1 - 6.
- Gunarto L, 1991. Metagenesis of Brady *Rhizobium japonicum* in Relation to Their Symbiotic Performance with Soybean. *Workshop on Agricultural Biotechnology*. Hal. 135-144.
- Hadiutomo, R.S., 1991. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia, Jakarta. 161 hal.

- Hardy, R.W.F and U.D. Havelka, 1975. Nitrogen Fixation Research. A Key to World Food. *Science* 188: 633 - 643.
- Hirsch, P.R., and F.A. Skinner, 1992. Identification Methods in Applied and Environmental Microbiology. *The Society for Applied Bacteriology Technical Series No. 29*: 45-62.
- Holland, A.A., J.E. Street, and W.A. Williams, 1969. *Range Legume Inoculation and Nitrogen Fixation by Root-Nodule*. Bakteria University of California.
- Imas, T., R.S. Hadioetomo., A.W. Gunawan., dan Y. Setiadi, 1989. Mikrobiologi Tanah II. *PAU-IPB*, Bogor. 145 Hal.
- , dan D.D. Hadidjaya, 1994. Keterkaitan Keefektifan Simbiotik Kelompok BrediRhizobium Kedelai dengan Ciri-ciri Serologis dan Aktivitas Hidrogenase. *Hayati, FMIPA, IPB* 1 No. 1: 10 - 14.
- Ismail, I.G., dan S.Efendi, 1985. Pertanaman Kedelai pada Lahan Kering. Dalam S. Somaatmadja (ed). Kedelai. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan*, Bogor, Hal.: 103-119.
- Kang, B.T., D. Nangju, and A. Yanaba, 1975. Effect of Fertilizer Use on Cowpea and Soybean Nodulation and Nitrogen Fixation in The Lowland Tropics. In *Biological Nitrogen Fixation in Farming System of the Tropics*. In. A. Yanaba and P.J. Dart. (eds.) John Wiley and Sons, New York. p. 205 - 216.
- Kartika, Oka, Nugari, Sunarta, Oka Widyarsana dan Adnyana, 1988. Pengaruh Pengapuran dan Inokulasi Rhizobium terhadap Produksi Kedelai pada Tanah Sawah Masam di Desa Sukasada, Buleleng. *Fak. Peternakan, Udayana*.
- Kasli, 1980. Pengaruh Pemupukan N, P, dan K terhadap Perkembangan Nodul Akar, Pertumbuhan, dan Produksi Kedelai Clark 63. *Thesis MS, IPB*, Bogor. 90 Hal.
- Khan, A and A.A. Khan, 1981. Effect of Nitrate Nitrogen on Growth, Nodulation and Distribution of ¹⁴C Labelled Photosynthate of Cowpea. *Plant and Soil* 63: 141 -149.

- Kingsman, S.M. dan A.J. Kinsman, 1988. Genetic Engineering An Introduction to Gene Analysis and Exploitation in Eukaryotes. *Black Well Sci. Publ. Oxford*. pp. 189 - 234.
- Kismono, I, 1979. *Pasture Establishment*. Fakultas Peternakan, IPB Bogor. 122 Hal.
- Lawn, R.J., K.S. Fisher., and W.A. Brun, 1974. Symbiotic Nitrogen Fixation in Soybeans. II. Interrelationship between carbon and nitrogen assimilation. *Crop Sci.* 14: 17 - 22.
- , and H.V.A. Bushby, 1982. Effect of Root, Shoot, and Rhizobium Strain on Nitrogen Fixation in four Asiatic Vigna Species. *New Phytol.* 92: 425 - 434.
- Mahmud, Z, 1977. Perembesan Nitrogen dari Nodul Akar *Rhizobium japonicum*. Thesis MS. IPB, Bogor. 84 Hal.
- , 1983. Perembesan Senyawa Nitrogen dari Nodul Akar Kedelai. *Disertasi Doktor, IPB, Bogor.* 116 Hal.
- Masyhudi, M.F, 1991. Effect of water stress on nodulation of soybean. *Penelitian Pertanian*, Vol. 11 No. 2. p 107 -113.
- Melati, M., F. Rumawas, J.S. Baharsyah, IPG W. Adhi, 1991. Tanggap Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap Pupuk Mikro Zn, Cu, B dan Beberapa Dosis Pupuk Kandang di Tanah Latosol. *Forum Pascasarjana, IPB*, 14: 1 - 12.
- Mulyadi, D, 1977. Sumber daya tanah kering, penyebaran dan potensinya untuk kemungkinan budidaya pertanian. *Kongres Agronomi, PERAGI, Jakarta* 34 Hal.
- Muns, D.N, 1970. Nodulation of *Medicago sativa* in Solution Culture. V. Calcium and pH Requirement During Infection. *Plant and Soil* 32: 90 - 102.
- National Academy of Sciences, 1979. Microbial Processes: Promising Technologies for Developing Countries. pp. 110 - 123. Report of an Ad-Hoc Panel of Advisory Committee on Technology for International Relations. National Research Council. *National Academy of Sciences, Washington D.C.*

- Nunung, Z., R. Saraswati, dan M. Inoue, 1988. Pengaruh Inokulasi Beberapa Strain Bakteri Nodul Akar terhadap Pertumbuhan dan Nodulasi Kedelai Varietas Orba. *Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan*, Balittan, Bogor. Hal. 350 - 356.
-
- _____, 1989. Colection and Selection of Native Rhizobium and Brady rhizobium. *Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan*, Bogor. Hal.: 293 - 308.
- Nurhayati, D.P., A. Diatloff., dan E.H. Hoults, 1988. The Effectiveness of Some Indonesian Strains of Rhizobium on four Tropical Legumes. *Plant and Soil* 108: 171 - 177.
- Odum, E.P., 1971. *Fundamentals of Ecology*, 3rd ed. Saunders, Philadelphia. 574 halaman.
- Oldeman, L.R., 1975. *An Agroclimate Map of Java*. CRIA (LP3), Bogor. 43 p.
- Pabendon, M.B., R.L. Cerif dan S. Saenong, 1991 Efektivitas Strain *Brady Rhizobium Japonicum* pada beberapa varietas kedelai (*Glycine max* L. merr) *Agrikam* vol. 6. No. 3 : 102 - 108.
- Pasaribu, D., N. Sunarlin., Sumarno., Supriati., R. Saraswati., P. Soetjipto dan Kerama, 1989. Penelitian Inokulasi Rhizobium di Indonesia. Hal. 29 - 33. *Risalah Lokakarya, Kerjasama BPPP-LIPI*, Bogor.
- Paul, E.A., and F.E. Clark, 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc. San Diego, California. 273 p.
- Rodiah dan Sumarno, 1993. Keragaan Hasil Genotipe Kedelai pada Keadaan Tanah Jenuh Air. *Risalah Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan Tahun 1993*. Hal. 115-124.
- Roughley, R.J, 1982. Production and Control of Legumes Inoculants. pp. 193 - 209. *In* Vincent, J.M (Ed). *Nitrogen Fixation in Legumes*. Academic Press, Australia.
- Salle, A.Y, 1972. *Fundamental Principle of Bacteriology*. 7th. Tata Mc Graw Hill Publ. Company Ltd. New Delhi. 820 p.
- Sai, V.S., and Mishra, M, 1986. Comparison of Some Indices of Species Diversity in A Tropical Forest: A Case Study. *Trop. Ecol.* 27: 195 - 201.

- Sanchez, P.A., 1976. *Properties and Management of Soils in The Tropics*. John Wiley and Sons Inc. New York. p : 96 - 134.
- Saraswati, R., L. Gunarto., dan R.D. Hastuti, 1993. Pengaruh Bahan Organik dan Arang Sekam terhadap Mikroorganisme Tanah, Pembentukan Nodul Akar dan Pertumbuhan Tanaman Kedelai di Tanah Masam. *Kongres Nasional Mikrobiology*, Surabaya. 17 Hal.
- Satari, G., Sadjad,S., dan Sastrosoedardjo, 1977. Pendayagunaan tanah kering untuk budidaya tanaman pangan menjawab tantangan tahun 2000. *Kongres Agronomi*, PERAGI, Jakarta 42 Hal.
- Satari, G, 1988. Lokakarya Hasil Penelitian Pertanian Lahan Kering dan Konservasi di DAS Salatiga. *P3HTA, Badan Litbang Pertanian, RI*.
- Schubert, K.R., and H.J. Evans, 1976. Hydrogen Evolution: A Major Factor Affecting The Efficiency of Nitrogen Fixation in Nodulated Symbionts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 73: 1207 - 1211.
- Setiadi, B, 1996. *Gambut Tantangan dan Peluang*. Himpunan Gambut Indonesia (HGI). Hal. II. 21-25.
- Silsbury, J.H. and D. Cathpoole, 1984. Effects of (NO₃-) on N₂-Fixation by *Trifolium subterraneum*. In C. Veeger and W.E. Newton (eds) *Advances in Nitroge Fixation Research*. Martinus Nijhof/DR.Junk, The Haque. 544p.
- Sismindari, 1993. Transfer Gene pada Tanaman dengan *Agrobacterium* Kursus Singkat Tanaman Transgenik. *PAU-UGM*, Yogyakarta. 28 Hal.
- Sitompul, S.M, 1989. Nitrogen Fixation and Water Stress in Faba Bean (*Vicia faba* L.). *PhD Thesis.*, Dept. of Agron. Waite Agr. Res. Inst. University of Adelaide. 156 p.
- , 1991. Sistem pertanian terlanjutkan pada lahan kering beriklim basah. *Simposium Nasional Penelitian dan Pengembangan Sistem Usaha Tani Lahan Kering yang Berkelanjutan*. Malang, 25 Hal.
- , 1994. *Petunjuk Isolasi Rhizobium*. Lab. Fisiologi, Jur. BP.,Fak. Pertanian, Unibraw, Malang. 21 Hal.

- , and E. Listyorini, 1992. Soil Organic Carbon Formation and Nitrogen Balance Under Cassava Based Cropping Systems in Lampung. *Agrivita*, 15: 33 - 38.
- , dan Guritno, B., 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Gajahmada University Press. Yogyakarta. 320 hal.
- , Silsbury, J.M., and D. Aspinall, 1988. The Regulation of Nitrogenase Activity and Response to Water Stress. *Twenty-eight Annual General Meeting of The Australian Plant Physiologist*. 23 p.
- , Syekhfani., and J. van der Heide, 1992. Yield of Maize and Soybean in a Hedgerow Intercropping System. *Agrivita*, 15: 68 - 75.
- Skerman, P.J, 1977. *Tropical Forage Legumes*. F.A.O. Rome, Italy. 287 p.
- Soekartadiredja, E.M, 1992. Usaha Peningkatan Spesifitas Rhizobium Guna Penyediaan Strain Inokulan Bagi Penanaman Kacang-kacangan Budidaya Penting. *FMIPA, Unpad*: 1 - 11.
- Soemarno, 1988. Model dan Simulasi dalam Pengelolaan Lahan Kritis di DAW Selorejo. *Thesis Magister Sains*, Fakultas Pascasarjana, IPB.
- Somasegaran, P., J. Hoben and J. Holiday, 1982. *The Nifal Manual Methods in Legume-Rhizobium Technology*. Universitas Hawaii, College of Tropical of Agriculture and Human Resources. 303p.
- , 1985. *Methods in Legume-Rhizobium Technology*. Univ. of Hawaii NIFTAL Project and MIRCEN, USAID. 367 p.
- Spaink, H.P, 1995. The Molecular Basis of Infection and Nodulation by Rhizobia: The Ins and Outs of Sympathogenesis. *Ann. Rev. Phytopathol.* 33: 345- 368.
- Sumarno, Y. Supriyati, R. Saraswati, Z. Nunung and M. Ismunadji, 1987. Selection for Soybean Genotype and Rhizobium Strain Compatibility, *Borif Seminar*, 1987.
- Sunarlim, N, 1986. Response to Rhizobium Inoculation and Nitrogen Fertilizer on Soybean in The Volcanic Soil in Garut West Java. *ESCAP CGPRT Center*, Bogor. 6 Hal.
- Surowinoto, S, 1977. Respon Kedelai Clark 63 Normal dan Clark Rj1 terhadap Pemupukan Kedelai. *Thesis MS*, IPB, Bogor. 87 Hal.

- Sutarto, Ig. V, 1989. Kecocokan Inokulan Rhizobium pada Beberapa Varietas Kacang Tanah. *Penelitian Pertanian*, BPTP. Bogor, 9: 99 - 103.
- Suryantini, A. Harsono, T. Adisarwanto, 1990. Interaksi antara Jenis dan Takaran Inokulum terhadap Hasil Kedelai di Lahan Sawah. *Risalah Lokakarya Perbaikan Teknologi Tanaman Pangan*, BPTP, Malang. Hal.: 97 - 100.
- Syekhfani, 1986. *Mikrobiologi Tanah*. Jurusan Tanah dan Pemupukan, FP. Unibraw, Malang. 112 Hal.
- Tampubolon, B., J. Wiroatmodjo, J.S. Baharsyah, dan Soedarsono, 1989. Pengaruh Penggenangan pada Berbagai Fase Pertumbuhan Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap Pertumbuhan dan Produksi. *Forum Pascasarjana*, IPB 12: 17 - 25.
- Unger P.W., 1975. Role of Molches in Dryland Agriculture. In *Physiological Aspects of Dryland Farming* U.S. Gupta (ed.) Oxford & Ibh, Publ. co; New Delhi. pp 237 - 258.
- Utomo, W.H., dan T. Islami, 1994. *Tanggapan Tanaman terhadap Tanah dan Air*. Faperta, Unibraw, Malang.
- Van der Heide, J., S. Settiyono., Syekhfani., B. Flach., K. Hairiah., S. Ismunandar., S.M. Sitompul., and van Noordwijk, 1992. Can Low External Input Cropping Systems and Acid Upland Soils in The Humid Tropics be Sustainable. *Agrivita*, Vol. 15: 1 - 15.
- Van Noordwijk, M., Widiyanto., S.M. Sitompul., K. Hairiah., and B. Guritno, 1992. Nitrogen Management Under High Rainfall Conditions for Shallowed Roted Crops; Principles and Hypotesis. *Agrivita*, Vol. 15: 10-18.
- Vest, G., D.F., Weber and C. Slonger, 1973. Nodulation and Nitrogen Fixation. pp. 353 - 290. In B.E. Caldwell (ed) *Soybean: improvement and uses*, ASA Inc., Madison, Wisconsin.
- Vincent, J. M, 1982. *Nitrogen Fixation in Legumes*. Academic Press, Sydney. Hal 13 - 26.
- Whittaker, R.H, 1972. Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon*. 21 (2/3): 213 - 251.

- Whyte, R .O., C. Nilson-Leissner and H.C. Trumble, 1953. Legume in Agriculture. *F.A.O. Agric. Studies*. FAO of The United Nations, Rome, 21: 24 - 36.
- Wittwir, S.H, 1980. The Shape of Things to Come. pp. 413 - 459. In Carlson, P.S. (Ed). *The Biology of Crop Productivity*. Academic Press, New York.
- Wynne, J.C.; S.T Ball; G.H. Elkan; T. Islelb and T.J. Schrawards, 1986. Host Plant Factors Affecting Nitrogen Fixation of The Peanuts. In *Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture*. Graham P.H. and S.O. Harris (eds.) Centro Interclonal de Agricoltire Tropical (CIAT). p 67 - 75.
- Yutono, 1981. Inokulasi Rhizobium pada Kedelai. Kedelai. *Puslitbangtan*, Bogor. Hal. 217 - 230.
- , 1985. Inokulasi Rhizobium pada Kedelai. Kedelai. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan*, Bogor. Hal. 28 - 229.

LAMPIRAN

Lampiran

Lampiran 1 : Diskripsi Varietas Willis

(Kasim dan Djunainah, 1993)

Tipe tumbuh	:	determinit
Tinggi tanaman	:	40-50 cm
Umur berbunga	:	39 hari
Umur panen	:	Rata-rata 88 hari
Kandungan protein	:	37%
Kandungan lemak	:	18%
Hasil rata-rata biji kering	:	1.620 kg/ha
Bobot 100 biji	:	10 g
Bentuk biji	:	oval, agak pipih
Warna polong tua	:	coklat tua
Warna daun	:	hijau tua
Warna bunga	:	ungu
Warna kulit biji	:	kuning
Sifat-sifat lain	:	tahan rebah, agak tahan penyakit karat dan virus.

Lampiran 2 : Diskripsi Varietas Ringgit

(Kasim dan Djunainah, 1993)

Tipe tumbuh	:	determinit
Tinggi tanaman	:	57 cm
Umur berbunga	:	35 hari
Umur panen	:	Rata-rata 85 hari
Kandungan protein	:	39%
Kandungan lemak	:	20,1%
Hasil rata-rata biji kering	:	1-1,5 kg/ha
Bobot 100 biji	:	8 g
Warna batang	:	hijau
Warna kulit biji	:	kuning
Sifat-sifat lain	:	polong tua tidak mudah pecah, agak bercabang, peka terhadap penyakit karat, netral terhadap panjang hari.

Lampiran 3 : Diskripsi Varietas Kerinci

(Kasim dan Djunainah, 1993)

Tipe tumbuh	: determinit
Tinggi tanaman	: 40-60 cm
Umur berbunga	: 38 hari
Umur panen	: Rata-rata 87 hari
Kandungan protein	: 42%
Kandungan lemak	: 14%
Hasil rata-rata biji kering	: 1.620 kg/ha
Bobot 100 biji	: 9,3 g
Warna daun	: hijau tua
Warna bunga	: ungu
Warna kulit biji	: kuning
Sifat-sifat lain	: tahan rebah, agak tahan penyakit karat daun dan lalat kacang.

Lampiran 4: Lekapan Basah (*Simple Water Mount*)
(Anas, 1989)

Lekapan basah ditujukan untuk pengamatan morfologi Rhizobium, walaupun dengan menggunakan mikroskop cahaya yang sederhana.

Bahan

- (1) Slide mikroskop yang bersih dan steril.
- (2) Pewarna karbolfucsin, yang terdiri dari Fucsin basa 1 gram, etanol 10 ml., dan larutan 5 % fenol 100 ML.

Cara kerja:

Mengambil sedikit sel-sel bakteri dari medium padat dan masukkan ke dalam sedikit air. Kemudian ditebar secara merata pada gelas obyek. Biakan berasal dari media cair dan sel bakteri tidak terlalu banyak, maka pengenceran tidak diperlukan. Suspensi bakteri pada gelas obyek dibiarkan sampai kering, sehingga kumpulan sel-sel yang telah kering tersebut cukup tebal; sehingga jelas terlihat dengan mata. Kemudian menggeser preparat tersebut satu-dua kali melalui bagian atas dari api Bunsen, agar sel-sel bakteri melekat pada gelas obyek lalu didinginkan. Preparat dibasahi 5 - 10 kali dengan pewarna yang diencerkan dan didiamkan sekitar 10 - 20 detik. Setelah itu dilakukan pembilasan dengan air mengalir secara perlahan. Kelebihan air dikeringkan dengan membiarkan beberapa waktu atau memakai kertas penyerap air. Kemudian menentukan lapangan pandang yang sesuai dengan menggunakan pembesaran yang lemah dan diamati dengan menggunakan minyak immersi.

Lampiran 5: Penetapan N Total Metode Kyeldahl
(Anonim, 1994)

Alat

Alat terdiri dari (1) neraca analitis; (2) labu ukur dengan ukuran 100, 500, dan 1000 ml; (3) pipet dengan ukuran 10, 20, 50 ml; (4) labu destruksi dan labu destilasi; (5) gelas ukur 10 ml; (6) gelas beker dan erlenmeyer 50, 500 ml; dan (7) buret dan alat destilasi Kyeldahl.

Bahan

Bahan meliputi (1) etanol diatas 95 %; (2) asam sulfat p.a. 95 - 97%; (3) asam sulfat yang ditentukan normalitasnya; (4) NaOH; (5) garam campur atau katalisator; (6) indikator metyl red.

Cara Kerja

Ada tiga tingkatan yang dilakukan dalam penentuan N total dengan metode Kyeldahl, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi.

- (1) Destruksi (untuk melepaskan ikatan-ikatan yang mengandung N), dengan menimbang 1 gram bahan dari tanah atau 0,1 gram bahan dari tanaman, dimasukkan ke dalam tabung destruksi. Didoyangkan agar merata dan destruksikan sampai jernih atau putih kehijau-hijauan, setelah itu didinginkan.
- (2) Distilasi, setelah dingin ditambahkan 20 ml akuades kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi. Mengambil gelas piala 100 - 150 ml

diisi dengan H_2SO_4 0,1 N dan satu tetes larutan indikator metyl red, warna akan berubah menjadi kemerah-merahan. Gelas piala ditempatkan di bawah alat pendingin sampai tercelup di bawah permukaan asam. Kemudian ditambahkan dengan hati-hati 15 ml NaOH p.a. 30 %. Pekerjaan ini dilakukan menjelang distilasi. Distilasi dijaga agar larutan dalam gelas piala tetap berwarna merah, bila warna berubah segera ditambah H_2SO_4 0,1 N dengan jumlah yang diketahui. Distilasi selesai, gelas piala diambil ujung atas-bawah dimasukkan ke dalam pendingin dengan air suling.

- (3) Titrasi, larutan dalam gelas piala dititrasi dengan NaOH 0,6 N sampai warna hilang. Lakukan pekerjaan awal sampai akhir untuk blanko.

Perhitungan

$$(1) \quad \text{mgrek NH}_3 = 1 \text{ mgrek H}_2\text{SO}_4 = 0,5 \text{ mmol H}_2\text{SO}_4$$

$$(2) \quad \text{mgrek NH}_3 = 1 \text{ mmol H}_2\text{SO}_4 = 17 \text{ mg NH}_3 = 14 \text{ mg N.}$$

$$\% \text{ N total} = (B-A) \cdot N \text{ NaOH} \cdot 1,4$$

dimana : A = Analisa blanko,

B = Analisa baku.

Lampiran 6: Komposisi Larutan Hara

Bahan Kimia	Konsentrasi (mg/l)	Molaritas mikro mol/l)
MgSO ₄	246,38	2046
KH ₂ PO ₄	34,0	249,862
Na ₂ MoO ₄	0,12	0,583
CuSO ₄	0,08	0,051
ZnSO ₄	0,22	1,363
MnCl ₂	1,81	14,383
H ₃ BO ₃	2,86	46,271
EDTA	28,82	85,746
Fe ₂ SO ₄	9,92	131,139
K ₂ SO ₄	217,75	1249,713
CaSO ₄	430,00	3158,513

(Date, 1992)

Lampiran 7: Metode Penetapan Jumlah Rhizobium Hidup (Plate Count) (Anas, 1989)

Bahan dan Alat

Cawan Petri yang berdiameter 88 mm. Agar Ekstrak Ragi-Manitol (YEM) tanpa CaCO_3 , dicairkan, kemudian didinginkan sampai temperatur 50°C .

Cara Kerja

Menghitung jumlah bakteri dilakukan dengan mengambil 1,0 ml. dari pengenceran dimasukkan ke dalam cawan Petri yang telah diberi label. Setelah itu ditambahkan media 15 YEM cair yang telah didinginkan, dan diaduk dengan memutar cawan Petri menurut arah jarum jam beberapa kali, ke muka, ke belakang, ke kiri, dan ke kanan. Kemudian didiamkan beberapa saat agar media menjadi padat, barulah cawan Petri dibalikkan, inkubasi pada $26 - 28^\circ\text{C}$ selama 3 - 5 hari untuk Rhizobium yang tumbuhnya cepat, 3 - 7 hari untuk Rhizobium tumbuhnya lambat, dan 7 - 12 hari untuk Rhizobium yang tumbuhnya sangat lambat.

Untuk menghitung jumlah Rhizobium, pilih cawan Petri yang jumlah koloninya berkisar dari 30 - 300 per cawan. Gunakan latar belakang gelap/hitam untuk memudahkan perhitungan.

Lampiran 8: Pembuatan Media Pembawa (*Carrier*) (Somasegaran dan Hogen, 1985)

Bahan

Bahan yang digunakan adalah gambut, kompos, dan arang.

Cara Kerja

Bahan media pembawa dikering-anginkan dan ditumbuk, kemudian dioven sampai 100° C. Kemudian ditumbuk dengan penumbuk porselin dan diayak dengan ukuran ayakan 10 - 40 mikron. Untuk menetralkan media diberikan kapur CaCO₃ hingga mencapai pH netral. Kemudian disimpan dalam kantong plastik polyetilen. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf, masing-masing kantong plastik berisi 50 g yang diautoklaf selama 60 menit dengan tekanan 15 lb. pada suhu 121° C. Kantong plastik yang berisi bahan media pembawa di dalam autoklaf disusun tegak dan agak renggang, sehingga terdapat sirkulasi dan dibiarkan dingin dalam autoklaf. Setelah diautoklaf dibungkus rapat agar tidak terjadi kontaminasi.

Penyimpanan Media Pembawa

pH media perantara 6,8, gelas beker 400 ml. diisi dengan media pembawa ditambah 90 ml. air dikocok sambil diukur pHnya. Bila pHnya kurang dari 6,8 ditambahkan bubuk kapur sedikit demi sedikit, hingga pH mencapai 6,8 atau lebih. Kemudian dicatat jumlah kapur yang ditambahkan untuk



menentukan 100 g media pembawa. Sehingga diketahui jumlah kapur yang diperlukan untuk jumlah media pembawa tertentu.

Cara Menentukan Kemampuan Menahan Air

Menentukan kadar air media pembawa dengan metode penimbangan. Mengambil 10 g bahan media pembawa dioven pada suhu 70° C. Setelah 24 jam ditimbang, kemudian dioven lagi selama 48 jam dan ditimbang lagi.

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Berat basah} - \text{berat kering}}{\text{Berat kering}} \times 100\%$$

Menimbang 100 g bahan kering oven, dimasukkan ke dalam gelas beker 500 ml, ditambah dengan air hingga jenuh. Kemudian ditambahkan air sedikit demi sedikit hingga menjadi struktur lumpur, kemudian disaring selama 1 malam, sehingga air berhenti menetes. Setelah itu tabung beserta media pembawa ditimbang.

Perhitungan, misalnya 100 g media pembawa dapat menahan 120 ml air, berarti kemampuan menahan air media pembawa (*water holding capacity*) tersebut 120 %. Jumlah inokulum yang ditambahkan ke media pembawa harus lebih rendah dari kemampuan menahan air media pembawa.

Pengujian Kualitas Inokulan

- (1) Waktu tahan hidup, 2 minggu setelah inokulasi.
- (2) Jumlah Rhizobium yang hidup, dengan menggunakan metode penetapan jumlah Rhizobium hidup "Plate Count" (Lampiran 7).

Lampiran 9: Analisis Tanah (Laboratorium Tanah) dan Data Iklim (Laboratorium Klimatologi) Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang)

Kandungan	Asal tanah				
	Wonorejo	Bedali	Pujon	Gambut	Kompos
pH	6,3	5,2	6,7	4,1	3,9
C. organik (%)	0,56	1,63	1,27	41,22	4,29
N total (%)	0,11	0,22	0,17	1,05	0,77
C/N	5	7	8	39	6
P Olsen (mg/kg)	6	25	72	403	70
N. NH_4^+ (mg/kg)	8,4	8,4	8,4	-	-
N. NO_3 (mg/kg)	50,4	71,4	92,4	-	-
K (Me/100g)	0,19	0,51	0,55	2,33	0,49
Na (Me/100g)	0,42	0,90	0,82	5,4	1,67
Ca (Me/100g)	6,65	5,93	8,84	9,31	2,08
Mg (Me/100g)	4,95	3,30	4,40	3,79	0,64
KTK (Me/100g)	13,81	14,73	14,81	98,50	85
Basa (Me/100g)	12,21	10,64	14,63	20,83	14,88
KB (%)	88	72	99	21	100
Kadar Air	3,09	9,89	5,26		
<i>Tekstur</i>					
Pasir	23	23	24		
Debu	23	58	19		
Liat	31	19	19		
Klas	Lempung berliat	Lempung berdebu	Lempung berdebu		
Suhu udara (°C)	26,87	22,00	21,47		
Kelembaban (%)	74,67	77,33	84,07		
Intensitas cahaya (kal./cm ² /menit)	416,37	296,94	253,45		

Lampiran 10: Sidik Ragam Kapasitas Biofertilisasi Nitrogen

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F	P
<u>Bobot Kering Tanaman</u>					
Strain	7	34.86	4.980	2.97*	0.034
Error	16	26.87	1.679		
Total	23	61.73	2.684		
<u>Jumlah Nodul</u>					
Strain	7	1480.6	211.52	4.67**	0.005
Error	16	725.3	45.33		
Total	23	2206.0	95.91		
<u>Bobot Nodul</u>					
Strain	7	467.6	66.80	5.47**	0.002
Error	16	195.3	12.21		
Total	23	663.0	28.82		
<u>Kandungan N Total</u>					
Strain	7	49.30	7.0435	10.09**	0.000
Error	16	11.17	0.6978		
Total	23	60.47	2.6291		

Lampiran 11: Sidik Ragam Keragaan Tanaman Kedelai

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F	P
<u>Hasil Biji per Tanaman</u>					
Strain	6	33.10	5.5168	6.38**	0.000
Varietas	2	12.45	6.2261	7.20**	0.002
Interaksi	12	18.48	1.5398	1.78 ^{ns}	0.084
Error	42	36.31	0.8645		
Total	62	100.34	1.6184		
<u>N Total per Tanaman</u>					
Strain	6	17.442	2.9070	16.84**	0.000
Varietas	2	10.276	5.1382	29.76**	0.000
Interaksi	12	4.165	0.3470	2.01*	0.048
Error	42	7.252	0.1727		
Total	62	39.135	0.6312		
<u>Bobot Nodul per Tanaman</u>					
Strain	6	19498	3249.7	19.69**	0.000
Varietas	2	4638	2319.0	14.05**	0.000
Interaksi	12	2073	172.8	1.05 ^{ns}	0.427
Error	42	6933	165.1		
Total	62	33143	534.6		
<u>Jumlah Nodul per Tanaman</u>					
Strain	6	10832.4	1805.41	55.70**	0.000
Varietas	2	427.8	213.92	6.60**	0.003
Interaks	12	201.3	16.77	0.52 ^{ns}	0.891
Error	42	1361.3	32.41		
Total	62	12822.9	206.82		
<u>Bobot Kering Total Tanaman</u>					
Strain	6	8.6463	1.44105	12.50	0.000
Varietas	2	3.1274	1.56370	13.56	0.000
Interaksi	12	0.6817	0.05681	0.49	0.907
Error	42	4.8421	0.11529		
Total	62	17.2975	0.27899		

Lampiran 12: Sidik Ragam Kompatibilitas pada Tanaman Kedelai di Dataran Rendah

Sumber Keman db	JK	KT	F	P	
<u>Hasil Bijer Tanaman</u>					
Strain	6	20.193	3.3655	18.39**	0.000
Varietas	2	8.813	4.4067	24.08**	0.000
Interaksi	12	1.896	0.1580	0.86 ^{ns}	0.588
Error	42	7.685	0.1830		
Total	62	38.588	0.6224		
<u>Hasil Biji per Hektar</u>					
Strain	6	1.8847	0.31412	7.02**	0.000
Varietas	2	0.7592	0.37962	8.48**	0.001
Interaksi	12	0.5514	0.04595	1.03 ^{ns}	0.444
Error	42	1.8802	0.04477		
Total	62	5.0755	0.08186		
<u>Tinggi Tanaman</u>					
Strain	6	445.8	74.30	4.71**	0.001
Varietas	2	1242.4	621.21	39.36**	0.000
Interaksi	12	566.4	47.20	2.99**	0.004
Error	42	662.9	15.78		
Total	62	2917.6	47.06		
<u>Jumlah Daun</u>					
Strain	6	55.97	9.328	6.12**	0.000
Varietas	2	14.51	7.254	4.76*	0.014
Interaksi	12	23.94	1.995	1.31 ^{ns}	0.250
Error	42	64.00	1.524		
Total	62	158.41	2.555		
<u>Bobot Kering Total Tanaman</u>					
Strain	6	11.608	1.9347	3.45**	0.007
Varietas	2	4.264	2.1320	3.80*	0.030
Interaksi	12	2.897	0.2414	0.43 ^{ns}	0.942
Error	42	23.566	0.5611		
Total	62	42.335	0.6828		
<u>Bobot Nodul per Tanaman</u>					
Strain	6	1036.22	172.704	12.04**	0.000
Varietas	2	8.51	4.254	0.30 ^{ns}	0.745
Interaksi	12	31.49	2.624	0.18 ^{ns}	0.999
Error	42	602.67	14.349		
Total	62	1678.89	27.079		

Jumlah Nodul per Tanaman

Strain	6	1036.22	172.704	12.04**	0.000
Varietas	2	8.51	4.254	0.30 ^{ns}	0.745
Interaksi	12	31.49	2.624	0.18 ^{ns}	0.999
Error	42	602.67	14.349		
Total	62	1678.89	27.079		

Kandungan N Total

Strain	6	27.964	4.6607	15.41**	0.000
Varietas	2	6.811	3.4056	11.26**	0.000
Interaksi	12	1.682	0.1402	0.46 ^{ns}	0.925
Error	42	12.699	0.3024		
Total	62	49.157	0.7929		

Lampiran 13: Sidik Ragam Kompatibilitas pada Tanaman Kedelai di Dataran Menengah

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F	P
<u>Hasil Biji per Tanaman</u>					
Strain	6	11.037	1.8395	6.49**	0.000
Varietas	2	1.457	0.7286	2.57*	0.089
Interaksi	12	1.766	0.1472	0.52 ^{ns}	0.890
Error	42	11.907	0.2835		
Total	62	26.167	0.4221		
<u>Hasil Biji per Hektar</u>					
Strain	6	1.3186	0.21977	7.09**	0.000
Varietas	2	0.1332	0.06662	2.15 ^{ns}	0.129
Interaksi	12	0.2932	0.02443	0.79 ^{ns}	0.660
Error	42	1.3027	0.03102		
Total	62	3.0477	0.04916		
<u>Kandungan N Total per Tanaman</u>					
Strain	6	28.489	4.7482	12.64**	0.000
Varietas	2	1.537	0.7683	2.05 ^{ns}	0.142
Interaksi	12	1.286	0.1071	0.29 ^{ns}	0.989
Error	42	15.775	0.3756		
Total	62	47.086	0.7595		
<u>Jumlah Daun per Tanaman</u>					
Strain	6	77.65	12.942	3.69**	0.005
Varietas	2	74.67	37.333	10.64**	0.000
Interaksi	12	57.78	4.815	1.37 ^{ns}	0.217
Error	42	147.33	3.508		
Total	62	357.43	5.765		
<u>Tinggi Tanaman</u>					
Strain	6	391.21	65.202	10.01**	0.000
Varietas	2	48.28	24.141	3.70*	0.033
Interaksi	12	640.82	53.401	8.20**	0.000
Error	42	273.68	6.516		
Total	62	1353.99	21.839		
<u>Bobot Kering Total Tanaman</u>					
Strain	6	78.81	13.136	8.07**	0.000
Varietas	2	11.12	5.560	3.42*	0.042
Interaksi	12	18.83	1.569	0.96 ^{ns}	0.497
Error	42	68.37	1.628		
Total	62	177.13	2.857		

Bobot Nodul per Tanaman

Strain	6	5153	858.8	5.67**	0.000
Varietas	2	4174	2087.0	13.77**	0.000
Interaksi	12	1269	105.8	0.70 ^{ns}	0.744
Error	42	6366	151.6		
Total	62	16962	273.6		

Jumlah Nodul per Tanaman

Strain	6	5550.5	925.09	27.37**	0.000
Varietas	2	1317.7	658.87	19.50**	0.000
Interaksi	12	736.7	61.39	1.82 ^{ns}	0.077
Error	42	1419.3	33.79		
Total	62	9024.3	145.55		

Lampiran 14. Sidik Ragam Kompatibilitas pada Tanaman Kedelai di Dataran Tinggi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F	P
<u>Hasil Biji per Tanaman</u>					
Strain	6	10.387	1.7312	5.52**	0.000
Varietas	2	6.976	3.4879	11.12**	0.000
Interaksi	12	1.983	0.1653	0.53 ^{ns}	0.885
Error	42	13.172	0.3136		
Total	62	32.518	0.5245		
<u>Hasil Biji per Hektar</u>					
Strain	6	1.2581	0.20969	5.73**	0.000
Varietas	2	0.9040	0.45201	12.34**	0.000
Interaksi	12	0.3793	0.03161	0.86 ^{ns}	0.589
Error	42	1.5381	0.03662		
Total	62	4.0795	0.06580		
<u>Tinggi Tanaman</u>					
Strain	6	306.01	51.001	5.46**	0.000
Varietas	2	10.09	5.046	0.54 ^{ns}	0.587
Interaksi	12	175.29	14.607	1.56 ^{ns}	0.140
Error	42	392.19	9.338		
Total	62	883.58	14.251		
<u>Jumlah Daun per Tanaman</u>					
Strain	6	117.21	19.534	4.70**	0.001
Varietas	2	85.46	42.730	10.27**	0.000
Interaksi	12	64.32	5.360	1.29 ^{ns}	0.261
Error	42	174.67	4.159		
Total	62	441.65	7.123		
<u>Bobot Kering Total Tanaman</u>					
Strain	6	134.521	22.4201	15.65**	0.000
Varietas	2	29.588	14.7941	10.33**	0.000
Interaksi	12	4.683	0.3903	0.27 ^{ns}	0.991
Error	42	60.152	1.4322		
Total	62	228.944	3.6926		
<u>Bobot Nodul per Tanaman</u>					
Strain	6	5136	855.94	6.28**	0.000
Varietas	2	3754	1877.19	13.78**	0.000
Interaksi	12	1017	84.78	0.62 ^{ns}	0.811
Error	42	5722	136.24		
Total	62	15629	252.09		

<u>Jumlah Nodul per Tanaman</u>					
Strain	6	3772.8	628.79	14.83**	0.000
Varietas	2	305.3	152.63	3.60*	0.036
Interaksi	12	565.0	47.08	1.11 ^{ns}	0.377
Error	42	1780.7	42.40		
Total	62	6423.7	103.61		

<u>Kandungan N Total per Tanaman</u>					
Strain	6	47.303	7.8839	16.16**	0.000
Varietas	2	8.964	4.4818	9.19**	0.000
Interaksi	12	7.958	0.6631	1.36 ^{ns}	0.224
Error	42	20.490	0.4879		
Total	62	84.715	1.3664		

Lampiran 15: Sidik Ragam Regresi Kemampuan Hidup Bakteri Rhizobium (Transformasi Logaritma)

GAMBUS

Sumber keragaman db		JK	KT	F	P
Strain 1					
Regresi	1	11,721	11,721	53,52**	0,005
Error	3	0,657	0,219		
Total	4	12,378			
Strain 2					
Regresi	1	9,8794	9,8794	808,32**	0,000
Error	3	0,0367	0,0122		
Total	4	9,9160			
Strain 3					
Regresi	1	14,153	14,153	160,10**	0,001
Error	3	0,265	0,088		
Total	4	14,419			
Strain 4					
Regresi	1	13,288	13,288	292,84**	0,000
Error	3	0,136	0,045		
Total	4	13,364			
KOMPOS					
Sumber keragaman db		JK	KT	F	P
Strain 1					
Regresi	1	11,087	11,087	88,65**	0,003
Error	3	0,400	0,133		
Total	4	12,207			
Strain 2					
Regresi	1	10,641	10,641	1244,73**	0,000
Error	3	0,026	0,009		
Total	4	10,666			
Strain 3					
Regresi	1	14,058	14,058	99,07**	0,002
Error	3	0,426	0,142		
Total	4	14,484			
Strain 4					
Regresi	1	12,755	12,755	559,07**	0,000
Error	3	0,068	0,023		
Total	4	12,824			

ARANG

Sumber keragaman db		JK	KT	F	P
Strain 1					
Regresi	1	16,241	16,241	120,42**	0,002
Error	3	0,405	0,135		
Total	4	16,645			
Strain 2					
Regresi	1	14,508	14,508	68,14**	0,004
Error	3	0,639	0,213		
Total	4	15,147			
Strain 3					
Regresi	1	15,887	15,887	70,49**	0,004
Error	3	0,676	0,255		
Total	4	16,563			
Strain 4					
Regresi	1	17,936	17,936	96,26**	0,002
Error	3	0,559	0,146		
Total	4	18,495			

Lampiran 16: Data Jumlah Bakteri per Volume

Macam Strain/ Waktu Pengamatan (hari)	Jenis Media Pembawa		
	Gambut	Kompos	Arang
<u>0 hari</u>			
G ₁	1,2x10 ⁸	1,2x10 ⁸	1,2x10 ⁸
G ₂	7,3x10 ⁷	7,3x10 ⁷	7,3x10 ⁷
G ₄	1,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸
G ₅	2,4x10 ⁷	2,4x10 ⁷	2,4x10 ⁷
<u>14 hari</u>			
G ₁	3,1x10 ⁶	3,3x10 ⁶	2,0x10 ⁶
G ₂	2,7x10 ⁶	3,1x10 ⁶	2,1x10 ⁶
G ₄	2,5x10 ⁶	2,8x10 ⁶	1,8x10 ⁶
G ₆	3,0x10 ⁶	3,2x10 ⁶	1,5x10 ⁶
<u>24 hari</u>			
G ₁	2,0x10 ⁵	7,5x10 ⁵	5,0x10 ⁴
G ₂	6,0x10 ⁵	5,0x10 ⁵	5,0x10 ⁴
G ₄	1,5x10 ⁵	2,0x10 ⁵	2,4x10 ⁴
G ₆	6,5x10 ⁵	7,0x10 ⁴	3,0x10 ⁴
<u>34 hari</u>			
G ₁	1,9x10 ⁵	1,3x10 ⁴	2,5x10 ⁴
G ₂	5,0x10 ⁴	3,4x10 ⁴	4,5x10 ⁴
G ₄	4,0x10 ⁴	4,0x10 ⁴	1,5x10 ⁴
G ₆	1,7x10 ⁴	4,5x10 ⁴	3,5x10 ⁴
<u>44 hari</u>			
G ₁	2,0x10 ³	7,5x10 ³	5,0x10 ³
G ₂	6,0x10 ³	5,0x10 ³	5,0x10 ³
G ₄	2,0x10 ³	2,0x10 ³	2,4x10 ³
G ₆	6,5x10 ³	7,0x10 ³	3,0x10 ³