

TEKNOLOGI PUPUK B10 : ISOLASI DAN AUTENTIKASI UNTUK
MENDAPATKAN BIAK *RHIZOBIUM* YANG BERPOTENSI MENAMBAT N₂ UDARA
PADA TANAMAN KACANG-KACANGAN

oleh :

Harmastini, H. Karsono dan S. Saono

Pendahuluan

Upaya mendapatkan biak *Rhizobium* unggul yang mampu menambat N₂ udara secara optimal dalam bersimbiosa dengan beberapa jenis tanaman kacang-kacangan, masih terus dilaksanakan. Sebagian upaya tersebut adalah masih dilakukannya isolasi *Rhizobium* dari bintil akar berbagai galur tanaman kedelai, kemudian diuji kepastiannya bahwa isolat hasil isolasi tersebut adalah benar biak *Rhizobium*. Berikut ini adalah penelitian dan hasil yang diperoleh selama periode 1990-1991.

Bahan dan cara kerja

Bahan berupa bintil akar berasal dari daerah Sleman, (Jateng), Ciamis dan Rangkasbitung, (Jabar) serta berasal dari Klungkung (Bali) dan Sitiung (Sumbar). Sampel tanah berasal dari daerah Sembawa (Sumsel) dan daerah Sitiung. Sembilan galur kedelai, 3 galur dari Balitan, Bogor dan 6 galur dari Batan, Jakarta. Legin berasal dari UGM, Yogyakarta dan *Rhizobium* dari IPB, Bogor.

Isolasi

Isolasi biak *Rhizobium* dari sampel bintil akar dilakukan dengan cara seperti yang dilakukan tahun sebelumnya (Laporan Teknik Bioteknologi, 1990). Isolasi biak *Rhizobium* dari sampel tanah dan dari inokulan Legin dan *Rhizobium* dilakukan dengan metoda Leonard jars (Somasegaran dkk., 1985) dengan menggunakan 9 galur kedelai yang tersedia. Percobaan dilakukan dengan cara merendam kecambah kedelai dalam suspensi tanah dan suspensi inokulan. Kecambah yang telah direndam kemudian ditanam dalam botol-botol yang berisi medium pasir steril. Perlakuan disertai tanaman kontrol, yakni kecambah yang ditanam dalam medium serupa

tetapi tidak diberi/direndam dalam suspensi inokulan atau suspensi tanah. Tiap perlakuan dibuat dua ulangan dan lama percobaan adalah satu bulan. Setelah tanaman percobaan dipanen, bintil akar yang diperoleh dari 9 galur kedelai tersebut diisolasi dengan cara seperti yang diuraikan di atas.

Autentikasi

Uji autentikasi terhadap isolat-isolat hasil isolasi dan kemampuannya membentuk bintil akar pada tanaman *Macroptilium atropurpureum* (siratro) dilakukan dengan metoda tabung tegak seperti yang dilakukan oleh Saono dkk. (1975). Kecambah siratro steril yang berumur dua malam ditanam dalam tabung tegak yang berisi medium semi solid steril. Suspensi isolat *Rhizobium* dibuat dengan cara melarutkan 5 lup (jarum ose) penuh biakan isolat *Rhizobium* kedalam 2 ml aquadest steril. Diambil 0,2 ml larutkan isolat tersebut kemudian diinokulasikan/ditetskan pada kecambah dalam medium semi solid. Perlakuan juga disertai tanaman kontrol, yakni kecambah siratro yang tidak ditetsi suspensi isolat *Rhizobium*. Tiap perlakuan dibuat 2 ulangan dan lama percobaan adalah satu bulan. Pengamatan pembentukan bintil akar dapat dilihat mulai tanaman berumur 2 minggu sampai tanaman dipanen.

Hasil dan pembahasan

Dari sampel bintil akar tanaman kedelai berasal dari Sleman, Ciamis, Rangkasbitung, Klungkung dan Sitiung berhasil diisolasi berturut-turut : 4, 6, 1, 2 dan 13 isolat *Rhizobium*.

Pada percobaan inokulasi dengan metoda Leonard jars 9 galur kedelai yang diinokulasi dengan tanah berasal dari Sitiung dan Sembawa, tidak satupun dari 9 galur kedelai yang mampu membentuk bintil akar. Begitu juga tanaman kontrol yang tidak diinokulasi baik yang tanpa diberi unsur N (K1) maupun yang diberi unsur N (K2) tidak berbintil akar. Untuk itu dari 2 sampel tanah tersebut tidak diperoleh isolat

Rhizobium. Tidak mempunya 9 galur kedelai membentuk bintil akar dapat disebabkan oleh tidak adanya biak *Rhizobium* yang cocok yang terdapat dalam tanah atau karena adanya faktor lain misalnya adanya pH tanah yang sangat masam.

Pada percobaan inokulasi dengan metoda Leonard jars, 9 galur kedelai yang diinokulasi dengan inokulan Legin dan Rhizobin, semua galur kedelai mampu membentuk bintil akar. Sedang tanaman kontrol yang tidak diinokulas baik yang tanpa diberi unsur N (K1) maupun yang diberi unsur N (K2) tidak berbintil akar. Bintil akar dari 9 galur kedelai tersebut kemudian diisolasi dengan cara seperti tersebut di atas dan diperoleh hasil sejumlah 25 isolat *Rhizobium*.

Pada uji autentikasi dengan metoda tabung tegak, dari 42 isolat *Rhizobium* yang diuji, 41 isolat mampu membentuk bintil akar pada tanaman *M. atropurpureum* (siratro) dan satu isolat tidak mampu membentuk bintil akar. Begitu juga tanaman kontrol yang tidak diinokulasi, baik yang tanpa diberi unsur N (K1) maupun yang diberi unsur N (K2) tidak berbintil akar. Ke 41 isolat yang mampu membentuk bintil akar tersebut adalah : 4 isolat berasal dari Sleman, 6 isolat berasal dari Ciamis, 1 isolat dari Rangkasbitung, 1 isolat dari Klungkung, 25 isolat dari 9 galur kedelai dan 4 isolat (sebagai pembanding) berasal dari Wageningen, Belanda. Satu isolat yang tida mampu membentuk bintil akar adalah berasal dari Klungkung, Bali. Ketidakmampuan membentuk bintil akar dapat disebabkan karena isolat tersebut adalah bukan biak *Rhizobium*, atau karena isolat tersebut tidak cocok terhadap tanaman siratro, walaupun itu biak *Rhizobium*. Hal ini masih perlu diuji kembali terhadap tanaman inangnya yaitu galur kedelai Wilis.

Uji autentikasi bebnerapa isolat *Rhizobium* berasal dari tanaman legume tinggi yang tumbuh cepat, yakni 2 isolat berasal dari *Acacia* sp., 2 isolat dari *Albizia* sp. dan 2 isolat berasal dari tanaman *Acacia mangium*. Hasil yang diperoleh adalah : dari 6 isolat yang diuji kemampuannya membentuk bintil akar pada siratro (*Acroptilium atropurpureum*) 3 isolat mampu membentuk bintil akar, yakni 2

isolat berasal dari *Acacia* sp. dan 1 isolat dari *Albizia* sp., sedang 3 isolat lainnya tidak mampu membentuk bintil akar, yakni 1 isolat berasal dari *Albizia* sp. dan 2 isolat dari *A. mangium*.

Daftar Pustaka

- LIPI Laporan Teknik. Bioteknologi untuk meningkatkan nilai tambah Plasma Nutfah & menunjang Pengembangan Agroindustri, 1989-1990.
- SAONO, S., H. KARSONO and S. ABDULKADIR, 1975. Notes on the Nodulation of some edible legumes of Indonesia. *Annales Bogoriences*, VI(1):27-41.
- SOMASEGARAN, P. and H.J. HOBEN, 1985. *Methods in Legume-Rhizobium Technology*. University of Hawaii NIFTAL.