

PAIR/P.259/1988

FIKSASI N SIMBIOTIK BEBERAPA VARIETAS
DAN GALUR MUTAN KEDELAI

Soertini Gandanegara

KP. 588,

FIKSASI N SIMBIOTIK BEBERAPA VARIETAS DAN GALUR MUTAN KEDELAI

Soertini Gandanegara*

ABSTRAK

FIKSASI N SIMBIOTIK BEBERAPA VARIETAS DAN GALUR MUTAN KEDELAI. Serangkaian kegiatan penelitian yang terdiri dari tiga percobaan telah dilakukan untuk menguji kemampuan fiksasi N simbiotik beberapa varietas dan galur mutan kedelai. Dua percobaan pertama merupakan pengujian tentang keefektifan tujuh strain/isolat *Rhizobium* memfiksasi nitrogen dengan kedelai varietas Orba dalam medium steril dan tanah. Tanggapan strain berbeda bergantung pada medium yang dipakai. Pada medium steril, strain *Rhizobium* USDA 110, 136, dan TAL 102 menunjukkan potensi yang tinggi. Pada medium tanah hanya strain *Rhizobium* USDA 110 yang memiliki potensi fiksasi N yang baik dan mempunyai daya saing terhadap strain *Rhizobium* alam. Dalam pengujian daya fiksasi dari beberapa varietas dan galur mutan kedelai digunakan metode pengenceran isotop ^{15}N . Varietas kedelai Guntur memperlihatkan tanggapan yang baik terhadap pemupukan N takaran tinggi tanpa mengganggu kemampuan memfiksasi N. Varietas ini dipandang baik untuk dipakai dalam sistem pertanaman tumpangsari.

ABSTRACT

SYMBIOTIC N FIXATION OF SEVERAL SOYBEAN VARIETIES AND MUTANTS. Research activities comprising of three experiments were carried out to screen several soybean varieties and mutants for symbiotic N fixation potential. The first two experiments involved screening of seven *Rhizobium* strain/isolate for the effectiveness of N fixation. Depend on the medium used, plant response to strains were different. In steril medium, *Rhizobium* strain USDA 110, 136, and TAL 102 showed high nitrogen fixation potential. In soil only *Rhizobium* strain USDA 110 had better performance and proved to have competitive to native strains. ^{15}N isotope dilution method were used to screen nitrogen fixing ability of several soybean varieties and mutants. Guntur variety showed a better response to high dose of N fertilizer without disturbing its N fixing ability. This variety then was considered good for intercropping System.

* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Batan, Jakarta.

PENDAHULUAN

Tanaman legum mampu mengikat N udara untuk kebutuhan hidupnya secara simbiosis dengan bakteri *Rhizobium*. Proses yang melibatkan dua organisme menyebabkan banyak faktor ikut mempengaruhi besarnya N yang difiksasi. Faktor kunci adalah kecocokan antara tanaman inang dan bakteri *Rhizobium* (1). Proses fiksasi nitrogen akan lebih intensif bila bakteri *Rhizobium* masih efektif dan memiliki kemampuan bersaing tinggi sehingga berhasil membentuk bintil akar tanaman inang (2). Karena kemampuannya memfiksasi N dari udara, tanaman legum tidak membutuhkan tambahan N yang banyak dari pemupukan. Pupuk N dosis rendah masih tetap diperlukan sebagai starter sebelum proses fiksasi N berlangsung efektif.

Dalam sistem pertanaman tumpangsari yang melibatkan tanaman sereal dan tanaman legum, kebutuhan pemupukan N tinggi penting untuk mendapatkan hasil optimum tanaman sereal. Akan tetapi pemberian N dalam jumlah banyak kepada sereal diduga akan mempengaruhi fiksasi N oleh tanaman legum.

Penelitian ini ditujukan untuk mencari strain *Rhizobium* yang efektif dan mampu bersaing dengan strain *Rhizobium* alam. Strain pilihan kemudian digunakan untuk melihat galur mutan atau varietas yang tahan terhadap pemupukan N tinggi.

BAHAN DAN METODE

Pengujian Strain Rhizobium yang Efektif Memfiksasi N. Kegiatan ini terdiri dari dua tahanan percobaan, yaitu pengujian strain yang cocok bersimbiosis dengan tanaman kedelai varietas Orba pada medium steril dan pengujian strain yang mampu bersaing dengan strain *Rhizobium*

alam pada medium tanah Pasar Jumat.

Untuk pengujian strain yang pertama digunakan 6 strain tunggal import dan satu strain tunggal lokal (Tabel 1).

Tabel 1, Strain/isolat, *Rhizobium* yang digunakan

Nama strain / isolat	A s a l
NIFTAL 102 377 379	NIFTAL Project and Mircen, Hawaii, melalui Dr. Holthuis
USDA 110 136 142	US Dept. of Agriculture, melalui Prof. Dr. D. N. Munns, UC Davis
Madura	Fak. Mikrobiologi, FMIPA UNPAD, melalui Prof. Dr. Razali Oesman

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode botol Leonard yang dimodifikasi (3). Tiap unit botol terdiri dari sepasang wadah plastik kapasitas satu liter. Wadah bagian atas berisi pasir kasar steril sampai tinggi dua cm dari atas permukaan. Wadah bagian bawah diisi larutan nutrisi bebas-N dengan unsur makro 1/4 unsur makro larutan nutrisi formula Munns yang dimodifikasi (3).

Biji kedelai varietas Orba disterilkan dengan larutan NaOCl 3% selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air suling steril 10 kali. Pada pencucian terakhir biji dibiarkan terendam selama beberapa saat. Lima biji kedelai kemudian ditanam di pasir steril pada wadah bagian atas dan diinokulasi dengan strain *Rhizobium* tertentu dengan konsentrasi 3×10^8 sel/biji. Ada dua perlakuan kontrol, yaitu perlakuan tanpa inokulasi dan perlakuan penambahan nitrogen dalam bentuk KNO_3 ke dalam larutan nutrisi dengan konsentrasi 70 ppm N (4). Wadah bagian atas kemudian ditutup dengan cawan petri. Pada waktu kecambah berumur dua hari cawan petri dibuka dan kerikil steril dituang sehingga

memenuhi permukaan wadah bagian atas. Ketika kecambah berumur seminggu tanaman diperjarang menjadi dua tanaman per wadah.

Unit wadah kemudian dimasukkan ke dalam plant chamber dengan kondisi suhu siang dan malam berturut-turut 28 dan 25°C, kelembaban relatif 50% serta intensitas cahaya 17,5 klux.

Pengujian Strain Rhizobium pada Medium Tanah. Percobaan ditujukan untuk melihat strain *Rhizobium* yang mampu bersaing dengan strain *Rhizobium* alam tanah Pasar Jumat. Sejumlah 2,5 kg tanah kering udara disisakan ke dalam pot tiga liter yang telah diberi pupuk dasar setara dengan 60 kg P_2O_5 /ha dan 50 kg K_2O /ha.

Strain *Rhizobium* yang digunakan dalam percobaan ini sama seperti pada percobaan sebelumnya ditambah dengan satu perlakuan strain *Rhizobium* campuran terdiri dari tiga strain *Rhizobium* terbaik yang dipilih dari percobaan pertama. Seperti pada percobaan sebelumnya ada dua perlakuan kontrol, yaitu tanaman tanpa inokulasi dan perlakuan penambahan nitrogen. Nitrogen diberikan dalam bentuk pupuk urea dengan takaran setara dengan 100 kg N/ha. Sejumlah $\frac{1}{4}$ takaran pemupukan diberikan pada waktu tanam dan sisanya diberikan pada waktu tanaman berumur 3 minggu (4). Setelah tanaman berumur seminggu tanaman diperjarang menjadi dua tanaman per pot.

Pemberian air dilakukan setiap hari dengan jalan mengembalikan berat pot kepada berat pada keadaan lembab tanah 30%. Pemberian air dilakukan melalui dua slang plastik yang dipasang pada tiap pot. Untuk menghindari kontaminasi bakteri antar-pot waktu penyiraman, pasir steril kemudian dituang sehingga menutupi tanah. Tanaman dipanen stadium pembungaan.

Interaksi Galur Mutan/Varietas dengan Strain Rhizobium Pilihan.

Untuk pengujian ini digunakan galur mutan no. 68, varietas Orba, Guntur dan Muria. Pengujian dilaksanakan dengan teknik pengenceran isotop ^{15}N menurut Hardarson (5) dengan tanaman kontrol varietas Chippewa tanpa bintil. Panen dilaksanakan dua kali, yaitu pada stadium pembungaan dan masak panen. Pemeliharaan tanaman dilakukan seperti pada percobaan sebelumnya.

Rancangan Percobaan. Percobaan pengujian strain *Rhizobium* dilaksanakan dengan Rancangan Acak Kelompok. Pengujian laboratorium terdiri dari 36 unit percobaan yaitu tujuh strain *Rhizobium* dan dua perlakuan kontrol dengan empat ulangan.

Percobaan strain *Rhizobium* dengan medium tanah terdiri dari 40 unit percobaan yaitu delapan macam strain *Rhizobium* dan dua perlakuan kontrol dengan empat ulangan.

Pada percobaan pengujian galur mutan dan varietas digunakan 72 unit percobaan dengan empat galur mutan dan varietas, dua perlakuan kontrol, dua perlakuan tarap pemupukan N dengan empat ulangan. Pengamatan dilakukan pada stadium pembungaan dan masak panen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Strain Rhizobium pada Medium Steril. Parameter umum yang digunakan dalam pengujian adalah bobot bintil akar, bobot tanaman dan N total. Data mengenai hal tersebut yang merupakan sifat simbiotik strain *Rhizobium* yang diuji dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat simbiotis strain *Rhizobium* pada kedelai varietas Orba dalam media steril

Perlakuan	Bobot kering bintil akar, mg	Bobot kering tanaman, g	N total, %
Strain TAL 102	115	2,96	2,87
377	101	1,94	2,56
379	121	2,48	2,59
USDA 110	123	2,33	2,59
136	153	2,44	2,83
142	120	1,74	2,64
Madura	111	2,45	2,59
Kontrol ¹	-	1,34	1,04
Kontrol ²	-	1,91	2,85
BNT 5 %	46,70	0,46	0,20
K.K. (%)	33,96	25,64	14,74

Keterangan :

Kontrol 1² = tidak diinokulasi

Kontrol 1² = ditambahkan 70 ppm N

Ada kecenderungan strain *Rhizobium* Tal 102, 379 dan USDA 136 memiliki potensi fiksasi nitrogen yang tinggi sebagaimana ditunjukkan oleh bobot kering tanaman dan bintil akar. Tanaman yang diinokulasi dengan ketiga strain tersebut memiliki bobot kering tanaman maupun bintil akar yang lebih tinggi daripada pada tanaman kontrol yang diberi N mineral.

Hasil analisis N total tanaman memperlihatkan hal yang sedikit, berbeda. Dari ketiga strain tersebut, TAL 102 adalah yang terbaik dibandingkan dengan USDA 110 dan TAL 136. Oleh karena itu dalam percobaan ini penentuan strain unggul dalam kemudian mengikuti pendapat Graham dan Donawa (6), yaitu didasarkan parameter N total. Hal ini karena bobot bintil akar dan bobot tanaman dalam evaluasi pengujian fiksasi N dianggap kurang peka.

Pengujian Strain *Rhizobium* pada Medium Tanah. Hasil pengujian strain *Rhizobium* dengan menggunakan tanah Pasar Jumat disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengujian strain *Rhizobium* pada tanaman kedelai varietas Orba pada percobaan pot

Perlakuan	N total, %	Bobot tanaman g	Bobot bintil akar, mg
Kontrol ²	3,87	3,99	33
strain USDA 110	2,75	4,20	139
Kontrol ¹	2,52	3,88	236
strain USDA 136	2,36	4,64	174
strain USDA 377	2,31	4,14	156
strain USDA 142	2,30	5,10	158
strain Madura	2,25	4,36	179
strain campuran	2,19	4,03	130
strain TAL 379	2,13	4,41	119
strain TAL 102	2,11	4,19	149

Keterangan : Kontrol¹ = tidak diinokulasi
 Kontrol² = dipupuk dengan urea setara dengan 100 kg N/ha

Strain USDA 110 lebih mampu memfiksasi nitrogen dibandingkan dengan strain *Rhizobium* lainnya. Hal ini diduga karena strain tersebut mampu bersaing dengan strain *Rhizobium* alam di tanah Pasar Jumat. Tanaman yang diinokulasi dengan strain tersebut memiliki N total 25% lebih tinggi daripada tanaman kontrol tanpa inokulasi dan tanpa pemberian N (1). Tanaman yang diinokulasi dengan strain *Rhizobium* tunggal lainnya ataupun strain campuran memiliki N total yang lebih rendah (tabel 3). Ketidakmampuan suatu strain untuk bersaing dengan *Rhizobium* alam disebabkan karena sifat interspesifik dari proses simbiosis antara bakteri *Rhizobium* dengan tanaman inang tertentu (7), dalam hal ini kedelai varietas Orba.

Pertumbuhan Tanaman dan N yang Berasal dari Pupuk (% Nbdp).

Tabel 4 menyajikan data pertumbuhan tanaman, N total, dan N yang berasal dari pupuk pada saat pembungaan.

Tabel 4. Pertumbuhan tanaman, N total jaringan tanaman dan N yang berasal dari pupuk beberapa galur mutan dan varietas kedelai pada pemberian pupuk setara 20 dan 100 kg N/ha pada stadium pembungaan.

Galur mutan/ varietas	Bobot kering g	Bobot bintil g	N total, %	Nbdp, %
<u>20 kg N/ha</u>				
68	2,69	0,85	2,10	16,15
Orba	2,47	0,85	1,77	18,32
Guntur	3,51	0,91	1,79	14,45
Muria	2,68	0,86	1,81	18,10
<u>100 kg N/ha</u>				
68	3,44	0,81	2,41	43,75
Orba	3,44	0,78	2,53	47,75
Guntur	4,12	0,88	2,84	37,75
Muria	3,25	0,49	2,41	43,75
BNJ V 5%	0,60	0,37	0,34	3,94
1%	0,76	0,47	t.n.	4,99
BNJ P 5%	0,32	0,20	0,18	2,07
	0,43	t.n.	0,25	2,83
BNJ VXP 5%	t.n.	0,53	t.n.	t.n.
K,K, (%)	13,44	28,55	10,89	9,38

Terlihat adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) pada bobot kering tanaman, bobot bintil akar N dan yang berasal dari pupuk dan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) pada N total tanaman baik pada pemupukan takaran rendah (20 kg N/ha) maupun takaran tinggi (100 kg N/ha).

Tabel 5. Bobot kering N total dan N yang berasal dari pupuk pada biji serta stover galur mutan dan varietas kedelai pada pemberian pupuk setara 20 dan 100 kg N/ha pada masak panen (R₀)

Galur mutan/ varietas	Bobot kering, g		N total, %		N yang berasal dari pupuk, %		
	biji	stover	biji	stover	biji	stover	
68	3,20	4,10	5,59	0,77	3,45	4,12	
	3,95	4,16	5,23	0,61	4,33	5,04	
	2,41	4,10	5,51	0,59	3,35	3,10	
Muria	3,13	4,30	5,89	0,56	3,30	3,22	
<u>20 kg N/ha</u>							
68	4,02	5,20	5,50	0,55	16,75	14,06	
	4,45	5,58	5,46	0,53	14,75	14,21	
	3,39	4,64	6,31	0,52	16,75	10,61	
Muria	3,56	5,53	5,78	0,57	15,50	12,39	
<u>100 kg N/ha</u>							
BNJ P	5%	0,36	0,43	t.n.	t.n.	0,90	0,37
	1%	0,48	0,58	t.n.	t.n.	1,23	0,50
BNJ V	5%	0,67	t.n.	0,57	t.n.	t.n.	1,09
	1%	0,85	t.n.	t.n.	t.n.	t.n.	1,39
K.K. (%)	13,51	12,37	17,26	26,89	12,49	17,76	

Keterangan : t.n. = tidak nyata

Pada pemupukan N takaran rendah, varietas Guntur memperlihatkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik. Bobot bahan kering dan bintil akar varietas tersebut lebih tinggi daripada galur mutan ataupun varietas lainnya. Pada pemupukan N dengan takaran yang tinggi (100 kg N/ha) varietas Guntur kembali memperlihatkan pertumbuhan yang lebih baik. Dari tabel yang sama juga terlihat kenaikan bobot bahan kering, N total, dan penyerapan unsur N. Tetapi dengan bertambahnya kontribusi N dari pupuk pertumbuhan bintil akar menjadi terganggu dan N yang berasal dari fiksasi menurun.

Pada saat masak panen, pemupukan secara nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi bobot kering biji dan stover (bagian tanaman atas selain biji), serta N yang berasal dari pupuk. Perbedaan antar varietas hanya terlihat pada bobot kering biji (Tabel 5). Pada varietas Guntur kenaikan bobot kering biji pada takaran tinggi lebih besar daripada varietas lainnya. Tanggapan varietas Guntur terhadap pemupukan N takaran tinggi terlihat pada nilai %Nbdp, yaitu sekitar 16,75% N biji berasal dari pupuk. Angka tersebut lima kali nilai %Nbdp biji pada pemupukan N takaran rendah.

Estimasi N yang Difiksasi Galur Mutan. Akar tanaman kedelai varietas Chippewa tanpa bintil menjadi berbintil pada saat pembungaan. Tanaman tersebut kemudian tidak dapat digunakan sebagai tanaman kontrol untuk penghitungan N yang difiksasi (% Nbdfik). Hal ini menyebabkan evaluasi kemampuan galur mutan dan varietas pada percobaan ini didasarkan pada penghitungan N yang berasal dari pupuk (%Nbdp). Menurut HARDARSON dkk. (8) setiap parameter isotopik ^{15}N

(baik %N_{bdfik}, maupun % ekse atom ¹⁵N dan %N_{bdp}) dapat digunakan untuk menguji kemampuan fiksasi N, kecuali pada penelitian tertentu. Tetapi dengan tidak adanya tanaman kontrol, nilai %N_{bdfik} yang didapat merupakan nilai relatif. Berdasarkan asumsi ini terdapat urutan N yang berasal dari fiksasi (%N_{bdfik}) seperti tercantum pada Tabel 6.

Tabel 6. Urutan % N_{bdfik} berdasarkan asumsi nilai % N_{bdfik} berbanding terbaik dengan nilai % N_{bdp}

Pemupukan (kg N/ha)	Stadia pengamatan		
	Pembungaan (R ₂)	Biji	Masak panen (R ₈) Stover
20	Guntur Mutan no.68 Muria Orba	Muria Guntur Mutan no.68 Orba	Guntur Muria Mutan no.68 Orba
100	Guntur Mutan no.68 Muria Orba	Orba Muria Guntur Mutan no.68	Guntur Muria Mutan no.68 Orba
Perbedaan antara varietas/ galur mutan	nyata	tidak nyata	nyata

Tabel 6 memperlihatkan bahwa varietas Guntur cenderung memiliki potensi fiksasi N yang tinggi pada stadium pembungaan, baik pada pemupukan N takaran rendah maupun tinggi. Demikian juga pada stadium masak panen. Karena berbagai alasan di atas, varietas Guntur dapat digolongkan pada varietas yang tahan terhadap pemupukan N takaran tinggi tanpa banyak mempengaruhi kemampuannya menfiksasi nitrogen, sehingga varietas ini cocok untuk sistem pertanaman tumpangsari dengan tanaman sereal yang umumnya memerlukan N pupuk banyak. Sifat baik varietas ini harus diteliti lebih lanjut dalam percobaan lapang.

KESIMPULAN

Interaksi varietas atau galur mutan kedelai dengan bakteri *Rhizobium* dalam proses fiksasi N simbiotik bersifat interspesifik. Pada pengujian strain *Rhizobium* dengan varietas Orba pada medium steril, strain USDA 110, 136 dan TAL 102 menunjukkan kemampuan memfiksasi N yang tinggi. Akan tetapi pada medium tanah, hanya strain USDA 110 yang menunjukkan potensi fiksasi N yang paling baik dan mampu bersaing dengan strain *Rhizobium* alam.

Hasil pengujian varietas dan galur mutan kedelai dengan strain *Rhizobium* USDA 110 memperlihatkan varietas Guntur bersifat lebih tanggap terhadap pemupukan N takaran tinggi (100 kg N/ha) tanpa mengganggu kemampuan memfiksasi N udara. Oleh karena itu varietas Guntur dianggap sesuai untuk sistem pertanaman tumpangsari dengan tanaman sereal yang memerlukan pupuk N dalam jumlah banyak. Walaupun demikian, penelitian lanjutan di lapangan perlu dilakukan untuk membuktikan kebenaran pendapat di atas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami tujukan kepada Sdr. Sudono Slamet, Sdr Suparno dan Yuliasti yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. VINCENT, J.M., A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria, International Biologica Handbook No. 15. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh (1970).
2. HARDARSON, G., HEICHEL, G.H., VANCE, C.P., and BARNES, D., K., Evaluation of alfalfa and *Rhizobium meliloti* of Compatibility in Nodulation and Nodule Effectiveness, *Corp Sci.* 21 (1981) 562.

3. WEAVER, R. W., and FREDERICK, L. R., "Rhizobium", Methods of Soil Analysis, (PAGE, A. D., MILLER, R. H., and KEENEY, D.R.eds), Agronomy no. 9, Academic Press, New York (1982) 1043.
4. SOMASEGARAN, P., HOBEN, H., and HALLIDAY, J., The Nifal Manual for Methods in Legume-Rhizobium Technology, University of Hawaii, College of Tropical Agriculture and Human Resources, US Agency for International Dep. (1983).
5. HARDARSON, G., Biological Nitrogen Fixation of Grain Legumes. The use of N methodology to assess N fixation and guidelines for improvement of N fixation in grain legumes, FAO/IAEA Agricultural Biotechnology Laboratory, Seibersdorf (1985).
6. GRAHAM, R. A., and DONAWA, A. L., Greenhouse and field evaluation of Rhizobium strains nodulating groundnut (*Arachis hypogea* L), Trop. Agric. (Trinidad) 59 (1982) 254.
7. ISRAEL, D. W., Cultivar and Rhizobium strain effects on Nitrogen Fixation and Remobilization by Soybean, Agron. J. 73 (1981) 254.
8. HARDARSON, G., ZAPATA, F., and DANSO, S. K. A., Field evaluation of Symbiotic nitrogen fixation by rhizobial strain using ^{15}N methodology, Plant and Soil 82 (1984) 369.