Hayati, Maret 2002, hlm. 1-4 Vol. 9, No. 1
ISSN 0854-8587

Isolasi dan Seleksi Galur *Bradyrhizobium japonicum* Asal Tanah Gambut

Isolation and Selection of Bradyrhizobium japonicum Isolated from Peat Soils

SAERI SAGIMAN‡, ISWANDI ANAS*, GUNAWAN DJAJAKIRANA

Faperta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

Diterima 15 April 2001/Disetujui 29 Oktober 2001

Soybean is a crop requiring high nitrogen for its growth. Part of its requirement could be supplied through symbiotic relationship with nitrogen fixing bacteria i.e. *Bradyrhizobium japonicum*. However, the properties of peat could inhibit the development of bacteria especially if the bacterial inoculants are not adaptive to peat soils. Based on these problems this research was conducted to evaluate the effectiveness of *B. japonicum* isolated from peat soils as inoculation material to increase the growth and yield of soybean. Root nodules of soybean grown in the greenhouse on peat soils collected from nine locations in Districts of Sambas and Pontianak, West Kalimantan Province were used as sources of *B. japonicum* isolates. Soybean cultivation in these locations had never received any *B. japonicum* inoculation treatment. Sixty isolates of *B. japonicum* were isolated and twenty of the isolates were tested for their ability to fix atmospheric nitrogen. Based on nitrogen fixing capacity, the best five isolates were E5, SN1-2, D4, JK3 and BK4. This study showed that some local isolates of *B. japonicum* from peat soil could be developed further as inoculant for soybean production in peat soils.

PENDAHULUAN

Luas tanah gambut di Kalimantan Barat ada sekitar 4.6 juta ha dan mencapai 31.4 persen luas daratan (Soekardi & Hidayat 1994). Sebagian lahan gambut tersebut telah digunakan untuk pemukiman transmigrasi. Sehubungan dengan kebijakan pemerintah untuk meningkatkan produksi kedelai maka lahan gambut dapat dijadikan lokasi pengembangan kedelai.

Penelitian kedelai di tanah gambut sudah dilakukan antara lain oleh Setiadi (1991) dan Sagiman dan Pujianto (1995), namun informasi mengenai pemanfaatan bakteri bintil akar yang diisolasi dari tanah gambut untuk meningkatkan produksi kedelai masih belum memadai. Kedelai merupakan tanaman yang membutuhkan banyak nitrogen. *Bradyrhizobium japonicum* yang efektif dapat memenuhi 50-75% dari kebutuhan N kedelai (Pasaribu *et al.* 1989).

Gambut merupakan tanah yang kaya bahan organik, namun N yang tersedia bagi tanaman masih rendah. Hal ini dicirikan oleh tingginya nisbah C/N. Hambatan penerapan inokulasi *B. japonicum* pada tanah gambut ialah tanah gambut memiliki pH yang rendah sehingga dapat menyebabkan kegagalan inokulasi. Oleh karena itu, upaya mencari *B. japonicum* yang mampu beradaptasi pada tanah gambut penting dilakukan. *B. japonicum* yang tumbuh lambat umumnya memiliki reaksi basa sehingga tahan pada tanah yang masam (Munns & Franco 1981, Somasegaran & Hoben 1994). Keyser dan Li (1992) dan Simanungkalit *et al.* (1995) menyatakan bahwa galur lokal *B. japonicum* lebih mudah beradaptasi dengan kondisi lingkungan di tempat pengambilan galur.

Penelitian dilakukan untuk mendapatkan galur *B. japonicum* asal tanah gambut yang memiliki efektivitas yang tinggi. Galur yang diperoleh diharapkan dapat dijadikan inokulan untuk meningkatkan produksi kedelai di tanah gambut.

BAHAN DAN METODE

Isolasi *Bradyrhizobium japonicum.* Galur *B. japonicum* diisolasi dari 58 contoh tanah yang berasal dari 9 lokasi penanaman kedelai di tanah gambut di Kabupaten Pontianak dan Sambas, Provinsi Kalimantan Barat. Tanah (pH 4.0) ditanami kedelai 'Willis' di rumah kaca dan isolasi langsung dilakukan dari bintil akar yang diperoleh. Dua tanaman per pot dipelihara sampai umur 30 hari setelah tanam (HST) dan perpindahan bakteri bintil akar dari tanah satu ke tanah lainnya diusahakan tidak terjadi. Isolasi bakteri menggunakan metode Somasegaran dan Hoben (1994).

Permukaan bintil akar didesinfeksi dengan Na-hipoklorit dan alkohol 90%, selanjutnya dibilas dengan air steril. Bintil akar yang telah didesinfeksi permukaannya, digerus dalam cawan porselin kemudian digoreskan pada cawan petri yang berisi media *yeast manitol agar* (YMA) dengan merah kongo atau YMA dengan biru bromtimol (BBT) dan diinkubasi pada suhu ruang. Untuk kultur cair digunakan *yeast manitol broth* (YMB) (Somasegaran & Hoben 1994).

‡ Alamat kini: Faperta, Universitas Tanjungpura, Jalan A. Yani, Pontianak 78124.

* Penulis untuk korespondensi, Tel. +62-251-629360, Fax. +62-251-629358, E-mail: aiswandi@indo.net.id

Pengamatan dilakukan setiap hari selama 5-7 hari. *B. japonicum* bereaksi basa (dengan BBT membentuk warna biru). Sebagai pembanding digunakan *B. japonicum* USDA110 dari *American Type Cultures Collection* yang diperoleh dari P. Somasegaran, Curator Niftal Germplasms Service, 1000 Holomua Road, Paia, Hawai 96779, USA.

Uji Autentikasi. Uji ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah galur yang diisolasi merupakan *B. japonicum.* Uji dilakukan menggunakan botol Leonard yang dimodifikasi dari botol Bayclin. Botol Leonard diisi media campuran pasir dan arang dengan perbandingan volume 3:1 dan diberi nutrisi bebas N, kemudian disterilkan (Somasegaran & Hoben 1994). Media ditanami dengan empat benih kedelai 'Wilis' yang telah didesinfeksi permukaannya. Pada hari ke-3 tanaman diseleksi dan hanya dua tanaman terbaik yang dipelihara. Semua galur dan satu kontrol (tanpa inokulasi) dibuat dalam dua ulangan. Inokulasi pada hari ke-3 dilakukan dengan meneteskan 1 ml (10^9 sel) kultur cair *B. japonicum.* Pada umur 30 HST tanaman dipanen dan diamati bintil yang terbentuk. Galur bakteri yang berhasil membentuk bintil akar dinyatakan sebagai *B. japonicum.* Bobot tanaman bagian atas ditimbang. Dua puluh galur yang menghasilkan bobot tanaman tertinggi diuji efektivitasnya.

Uji Efektivitas. Sebanyak 20 galur *B. japonicum* yang terbaik diuji efektivitasnya menggunakan galur USDA110 sebagai pembanding dan dua perlakuan kontrol (tanpa inokulasi), satu perlakuan kontrol dengan N dan satu lainnya tanpa N. Seluruh perlakuan diulang tiga kali menggunakan rancangan acak kelompok. Prosedur uji efektivitas sama seperti uji autentifikasi, namun tanaman dipertahankan sampai umur 35 hari. Tanaman diinokulasi dengan 1 ml media cair berisi galur bakteri (jumlah sel 10^9). Inokulasi dilakukan pada tiga HST.

Pada umur 35 HST tanaman dipanen dan peubah yang diamati ialah jumlah bintil, bobot kering bintil, dan bobot tanaman bagian atas.

Efektivitas simbiosis dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Efektivitas simbiosis} = \frac{(\text{bi-bo})}{\text{bo}} \times 100\%, \text{ dengan}$$

bi = bobot kering tanaman dengan inokulasi i, bo = bobot kering tanaman bagian atas tanpa pupuk N (kontrol).

Kadar dan Serapan N Tanaman. Pada umur 35 HST tanaman dipanen dan dikeringkan dalam oven pada suhu 70^0C selama 48 jam. Bobot kering tanaman bagian atas ditimbang dan serapan N tanaman dianalisis menurut metode Kjeldahl.

HASIL

Isolasi *B. japonicum.* Dari 58 contoh tanah dapat dikoleksi 73 galur bakteri bintil akar dan sebanyak 13 galur merupakan bakteri bintil akar yang memiliki pertumbuhan cepat (2-3 hari), bereaksi masam pada media YMA yang mengandung BBT dengan menghasilkan warna kuning dan 60 galur digolongkan sebagai *B. japonicum* dengan pertumbuhan lambat 5-7 hari, serta memberi reaksi basa (warna biru) pada media YMA dengan BBT (Tabel 1).

Tabel 1. Isolasi *Bradyrhizobium japonicum* dari pertanaman kedelai di lahan gambut Provinsi Kalimantan Barat.

Lokasi asal contoh	Kabupaten	Kecamatan	Jumlah galur *B. japonicum*
Air Putih Blok D	Pontianak	Jangkang	5
Air Putih Blok E	Pontianak	Jangkang	19
Jangkang	Pontianak	Jangkang	5
Sarang Burung Kuala	Sambas	Jawai	3
Pelimpaan	Sambas	Jawai	2
Parit Setia	Sambas	Jawai	6
Bakau	Sambas	Jawai	7
Sungai Nyirih	Sambas	Jawai	9
Semperiuk	Sambas	Jawai	4

Uji Autentikasi. Semua galur dapat membentuk bintil akar pada tanaman kedelai (Tabel 2) dengan rata-rata jumlah bintil berkisar antara 27 sampai 66 bintil akar per tanaman. Pada saat panen, 35 HST, semua galur memiliki bintil akar yang berwarna merah pada bagian dalamnya dan daun tanaman berwarna hijau. Hal ini merupakan petunjuk bahwa galur yang digunakan dapat membentuk simbiosis secara efektif dengan kedelai.

Dari 60 galur yang didapat, dipilih sebanyak 20 galur yang menghasilkan jumlah bintil akar dan bobot kering tanaman yang tinggi (Tabel 2). Galur terpilih mampu membentuk rata-rata 47 bintil akar per tanaman dengan bobot kering tanaman 983 mg. Bintil akar per tanaman terbanyak dihasilkan oleh galur BK3-2 dan terendah oleh galur SBK5-2, sedangkan bobot kering per tanaman tertinggi dihasilkan oleh PS1-1 dan terendah oleh SP3.

Jumlah dan Bobot Kering Bintil Akar. Secara keseluruhan kemampuan galur *B. japonicum* membentuk bintil akar cukup tinggi, terlihat dari penyebaran jumlah bintil akar antara 59-94 bintil akar/tanaman (Tabel 3). Jumlah bintil tertinggi dihasilkan oleh galur JK3 dan terendah oleh JK1-1. Pada pengamatan lima galur yang menghasilkan bobot tanaman tertinggi (E5, JK3, SN1-2, D4, dan USDA110) terlihat juga bahwa JK3 menghasilkan jumlah bintil paling tinggi dan berbeda nyata dengan empat galur lainnya. Inokulasi galur *B. japonicum* nyata meningkatkan bobot kering bintil akar.

Bobot Kering Tanaman. Galur *B. japonicum* asal gambut nyata meningkatkan bobot kering tanaman dibandingkan dengan perlakuan tanpa inokulasi tanpa N (kontrol tanpa N), tetapi semua galur yang diuji tidak menunjukkan perbedaan bobot kering yang nyata, termasuk galur USDA110 dan tanaman yang mendapat pupuk nitrogen (Tabel 3).

Serapan dan Kadar N Tanaman. Semua galur menghasilkan serapan dan kadar N tanaman yang lebih tinggi dari tanaman kontrol tanpa N, namun tidak berbeda dengan serapan dan kadar N tanaman pada perlakuan kontrol dengan penambahan pupuk nitrogen (Tabel 4). Serapan N kedelai yang paling tinggi dihasilkan oleh inokulasi galur E5 dan terendah oleh tanaman kontrol tanpa N.

Pada perlakuan kontrol tanpa N, tanaman berwarna kuning, kerdil, serapan N paling rendah dengan kadar N yang hanya 1%. Serapan N tanaman tertinggi dihasilkan oleh inokulasi galur E5, diikuti oleh galur USDA110, perlakuan kontrol dengan N, JK3, D4, dan SN1-2.

Tabel 2. Uji autentifikasi berbagai galur *Bradyrhizobium japonicum* asal gambut terhadap jumlah bintil akar dan bobot kering tanaman kedelai 'Willis' pada media pasir dan arang dalam botol Leonard pada umur 35 HST per tanaman.

Kode galur	Jumlah bintil akar	Bobot kering tanaman (mg)
SBK5-1	36	875
SBK5-2	27	755
SBK6*	46	945
PL2	54	840
PL4	47	900
PS1-1*	45	1050
PS2-1	45	905
PS2-2	44	925
PS3-1*	43	870
PS3-2	39	975
PS4	53	890
BK1	43	890
BK2-1	48	925
BK 2-2	45	800
BK3-1*	46	1020
BK3-2	66	850
BK4*	41	975
BK5-1*	43	970
SN1-1	62	925
SN1-2*	54	975
SN1-3*	51	975
SN2	50	880
SN3-1	49	780
SN3-2*	35	1025
SN3-3*	56	950
SN3-4	41	910
SN6-2	33	965
SP1	44	785
SP2	42	920
SP3	38	735
SP4	47	800
E1*	56	795
E2	49	945
E3	46	920
E5*	30	995
E6	48	790
E7	51	825
E8	54	815
E9*	53	985
E13	53	925
E15	53	915
E17	43	895
E18*	54	995
E19-3	65	820
E19-1	65	820
E19-2*	55	965
E20-1	57	955
E20-2	57	910
JK1*	37	1040
JK2-1	36	825
JK2-2	59	900
JK2-3*	48	930
JK3*	56	980
D1	41	845
D2	60	915
D3*	58	970
D4*	54	950
D5	37	800
E21	31	995
E22	39	805
N+	0	1055
N-	0	460

*Galur yang dipilih untuk uji efektivitas

Tabel 3. Pengaruh galur *Bradyrhizobium japonicum* terhadap jumlah bintil akar, bobot kering bintil akar, dan bobot kering tanaman kedelai 'Willis' pada media pasir dan arang dalam botol Leonard (umur 35 HST) per tanaman.

Kode galur	Jumlah bintil akar	Bobot kering bintil akar (mg)	Bobot kering tanaman (mg)
D3	83ab	174ab	1685b
D4	64b	180bc	1915b
JK1	59b	180ab	1710b
JK2-3	71ab	174ab	1585b
JK3	94a	194bc	1895b
E1	67b	176ab	1725b
E5	66b	206c	1930b
E9	86ab	174ab	1715b
E 18	68b	176ab	1655b
E19-2	71b	169ab	1660b
SN1-2	64b	156a	1920b
SN1-3	76ab	161a	1830b
SN3-2	66b	171ab	1685b
SN3-3	72ab	170ab	1760b
BK3-1	81ab	168a	1815b
BK4	84ab	180ab	1845b
BK5-1	78ab	171ab	1830b
SBK6	72ab	170ab	1750b
PS1-1	77ab	171ab	1625b
PS3-1	80ab	170ab	1730b
USDA110	61b	150a	1915b
Kontrol +N	-	-	1845b
Kontrol -N	-	-	920a
Koefisien keragaman (%)	16.04	7.37	10.1

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Efektivitas Simbiosis. Efektivitas simbiosis *B. japonicum* tertinggi dicapai oleh galur E5. Lima galur *B. japonicum* yang mempunyai urutan efektivitas simbiosis tertinggi ialah E5, SN1-2, D4, JK3, dan BK4. Efektivitas simbiosis kelimanya tidak berbeda dengan galur USDA110 (Tabel 4).

PEMBAHASAN

Dari semua contoh tanah gambut bekas pertanaman kedelai dapat diperoleh bintil akar. Ini dapat dimengerti karena penanaman kedelai telah dilakukan dalam waktu yang cukup lama rata-rata lebih dari lima tahun, kecuali di lokasi Jangkang. Di Jangkang kedelai baru diusahakan dalam tiga musim tanam. Kedelai yang diusahakan umumnya varietas lokal dan petani belum pernah melakukan inokulasi bakteri bintil akar pada tanaman kedelai.

Peningkatan bobot kering tanaman yang diinokulasi dengan beberapa galur *B. japonicum* memberi petunjuk bahwa galur *B. japonicum* asal gambut memiliki kemampuan menghasilkan pertumbuhan tanaman yang baik. Kenyataan ini merupakan bukti bahwa galur *B. japonicum* asal gambut mampu menambat N_2 dalam jumlah yang sebanding dengan yang dihasilkan oleh galur USDA110. Bobot kering yang paling rendah dihasilkan oleh tanaman kontrol tanpa pupuk N karena suplai N tanaman hanya berasal dari N yang dikandung benih kedelai dan tidak ada tambahan N dari luar.

Tingginya serapan nitrogen pada galur E5 diikuti pula dengan tingginya kadar N tanaman kedelai. Tanaman kedelai

Tabel 4. Pengaruh galur *Bradyrhizobium japonicum* terhadap serapan N, kadar N dan efektivitas simbiosis tanaman kedelai 'Willis' pada media pasir dan arang dalam botol Leonard (umur 35 HST) per tanaman.

Kode	Serapan N (mg)	Kadar N tanaman (%)	Efektivitas simbiosis (%)
D3	37bc	2bc	83ab
D4	46bcde	2bcde	108de
JK1	45bcde	3cde	86ab
JK2-3	39bcd	2cde	72a
JK3	48cde	3cde	106de
E1	41bcd	2bcde	88ab
E5	54e	3e	110e
E9	40bcd	2bcde	86ab
E 18	45bcde	3de	80ab
E19-2	42bcde	3cde	80ab
SN1-2	46bcde	2bcde	109de
SN1-3	35b	2b	99cd
SN3-2	38bcd	2bcd	83ab
SN3-3	39bcd	2bcd	91c
BK3-1	40bcd	2bc	97bcd
BK4	43bcde	2bcde	101cd
BK5-1	37bc	2b	99cd
SBK6	38bcd	2bc	90c
PS1-1	38bc	3bcde	77a
PS3-1	40bcd	2bcde	88b
USDA110	50de	3cde	108de
Kontrol +N	48cde	3cde	-
Kontrol –N	9a	1a	-
Koefisien keragaman (%)	7	10	12

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

sangat memerlukan N, pemberian N pada larutan nutrisi akan meningkatkan pertumbuhan tanaman, demikian pula pada tanaman yang diinokulasi. Tidak ada perbedaan antara serapan N pada tanaman yang diinokulasi dan tanaman yang dipupuk N menunjukkan bahwa inokulasi galur asal gambut mampu mencukupi kebutuhan N tanaman.

Hasil serapan N dan bobot kering tanaman memperlihatkan adanya konsistensi yang baik. Lima galur yang memiliki serapan N tertinggi ternyata menghasilkan bobot kering bintil tertinggi. Semakin berat bobot bintil akar akan semakin tinggi aktivitas penambatan N_2 sehingga serapan N semakin meningkat. Pengujian ini dilakukan pada media campuran pasir dan arang yang sangat mungkin akan berbeda hasilnya bila dilakukan pada media gambut. Efektivitas penambatan N_2 oleh galur-galur yang diperoleh dari tanah gambut perlu diuji lebih lanjut dengan menggunakan media tanah gambut baik di rumah kaca maupun di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari disertasi penulis pertama pada Program Pascasarjana IPB dengan biaya penelitian dari Tim Manajemen Program Doktor/Biaya Pendidikan Program Pascasarjana (TMPD/BPPS) Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

Keyser HH, Li F. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. Di dalam: Ladha JK, George T, Bohlool BB (ed). *Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture*. London: Kluwer Academic. hlm 119-136.

Munns DN, Franco AA. 1981. Soil constraints to legume production. Di dalam: Graham PH, Harris SC (ed). *Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture*. Bogota, Colombia CIAT. hlm 133-152.

Pasaribu D, Sunarlim N, Sumarno, Supriati Y, Saraswati R, Sutjipto P, Karama S. 1989. Penelitian inokulasi *Rhizobium* di Indonesia. Di dalam: Syam, Ruhendri M, Widjono A (ed). *Risalah Lokakarya Penelitian Penambatan Nitrogen Secara Hayati pada Kacang-kacangan*. Bogor, 30-31 Agu 1988. hlm 3-29.

Sagiman S, Pujianto. 1995. Lumpur laut sebagai pembenah gambut untuk produksi tanaman kedelai. *Meristem* 2:33-39.

Setiadi B. 1991. Study on the effect of mixing volcanic ash with peat on the yield of soybean. Di dalam: Proceedings of International Symposium on Tropical Peatland. Kuching, 6-10 Mei 1991. hlm 426-431.

Simanungkalit RDM, Indrasumunar A, Pratiwi E, Hastuti RD, Roughley RJ. 1995. Population dynamic of soybean root nodule bacteria in Latosol soil used for upland and lowland rice/soybean cropping system in West Java. Indonesia. *Soil Biol Biochem* 7:625-628.

Soekardi M, Hidayat A. 1994. Extent, distribution, and potentiality of peat soils of Indonesia. *IARD J* 16:14-18.

Somasegaran P, Hoben HJ. 1994. *Handbook for Rhizobia Methods in Legume-Rhizobium Technology*. New York: Springer-Verlag.