

Ulas Balik

Teknologi Pupuk Mikrob Multiguna Menunjang Keberlanjutan Sistem Produksi Kedelai

(Technology of Multipurpose Microbial Fertilizer Supporting Sustainable System of Soybean Production)

RASTI SARASWATI

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan
Jln. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111; Tel. 062-251-337975 pes. 224; Faks. 062-251-338820

ABSTRACT

Multipurpose microbial fertilizer (MPMF) has been developed to increase fertilization efficiency to support sustainable soybean production system. Multipurpose microbial fertilizer can supply a substantial portion of nitrogen and phosphorous which is required by soybean through their symbiotic relationship with rhizobia and phosphate dissolving capability, and thus save the use of anorganic fertilizer. Results of the demonstration plot using MPMF in farmer fields showed accordingly that MPMF can increase soybean yield approximately up to 242 kg/ha, and decrease use of nitrogen fertilizer up to 100% and phosphate fertilizer up to 50% from the recommendation dosage.

Key word: microbial fertilizer, inoculant, soybean

Pengembangan areal pertanian ke lahan bukaan baru dan usaha intensifikasi dalam upaya peningkatan produksi menunjang swasembada kedelai mengakibatkan kebutuhan pupuk kimia meningkat setiap tahunnya, padahal penggunaan pupuk kimia yang berlebihan dan terus-menerus membawa dampak negatif terhadap kondisi tanah dan lingkungan. Hasil penelitian sampai sekarang ini cenderung menunjukkan bahwa aplikasi pupuk kimia dalam dosis tinggi hanya bertujuan untuk meningkatkan produksi dan produktivitas tanaman tanpa banyak mepedulikan lingkungan sehingga penggunaannya menjadi tidak efisien dan mengganggu lingkungan.

Sesuai dengan sasaran Pembangunan Jangka Panjang II perihal Pengembangan Pertanian berwawasan lingkungan dengan pendekatan produksi mengarah kepeningkatan pendapatan petani telah dikembangkan suatu teknologi berwawasan lingkungan yang dapat menghemat biaya, menekan kebutuhan pupuk, meningkatkan pendapatan usaha tani kedelai, dan aman terhadap lingkungan. Penerapan pupuk mikrob multiguna (PMMG) pada kedelai dapat menghemat penggunaan pupuk urea sampai 100% dan pupuk P sampai 50% dari dosis yang direkomendasikan sehingga efisiensi penggunaan pupuk tersebut sangat bermanfaat dalam usaha memperbesar keuntungan usaha tani pada tingkat petani (Saraswati *et al.* 1998).

Artikel ini akan menguraikan pengembangan penelitian teknologi PMMG yang dapat menunjang peningkatan produktivitas tanaman kedelai.

PUPUK MIKROB MULTIGUNA

Pupuk mikrob adalah mikrob yang dipakai untuk perbaikan kesuburan tanah, antara lain rizobium, mikrob pelarut fosfat, azospirillum, dan cendawan mikoriza. Inokulasi mikrob pada rizosfer tanaman merupakan suatu hal yang rumit. Dalam banyak hal hasil tidak konsisten. Berbagai metode aplikasi dan efisiensi yang tidak pasti merupakan faktor penyebabnya. Dalam upaya mengatasi keragaman keefektifan, mutu inokulan rizobium harus ditingkatkan (Zdor & Pueppke 1988, 1990). Sistem teknologi produksi yang kurang efisien, di antaranya formulasi mikrob dan bahan pembawa mempengaruhi keefektifan produksi sehingga mengakibatkan rendahnya kualitas inokulan.

Pupuk mikrob multiguna merupakan pupuk yang mengandung campuran beberapa jenis bakteri penyubur tanah multiguna yang bersifat komplementer. Suatu jenis pupuk mikrob multiguna yang telah kami kembangkan, yaitu Rhizo-plus. Pupuk ini merupakan campuran bakteri bintil akar (*Bradyrhizobium japonicum* dan *Shinorhizobium japonicum*) dan bakteri pelarut fosfat (*Micrococcus* spp. dan *Bacillus* spp.) yang efektif, hasil seleksi intensif terhadap kemampuannya menambat N udara dan melarutkan P-tidak tersedia menjadi P-tersedia yang bersifat komplementer. Pupuk ini dilengkapi bahan pembawa yang mengandung formulasi unsur hara mikro yang dibutuhkan oleh mikrob dan tanaman.

Mikrob. *Bradyrhizobium japonicum* dan *Shinorhizobium japonicum* adalah bakteri bintil akar yang dapat mengikat nitrogen bebas dari udara dan melalui simbiosisnya dengan tanaman kedelai (*Glycine max*) dapat menyediakan nitrogen siap pakai oleh tanaman. *Bradyrhizobium* sebagai mikrob kemoorganotrof pada dasarnya dapat menggunakan berbagai karbohidrat, garam mineral dan asam organik (Allen & Allen 1981). Pembentukan lendir polisakarida ekstraseluler dalam jumlah yang cukup banyak pada pertumbuhan *Shinorhizobium* dapat meningkatkan ketahanan hidup dalam kondisi tercekam seperti kekeringan dan kemasaman-Al. Beberapa galur *Bradyrhizobium japonicum* toleran masam asal Indonesia (pH 4.5, 5 μ M P, 100 μ M Al) (Asanuma & Saraswati 1988) dapat bertahan hidup di tanah masam Lampung dengan dosis pengapuran rendah 0.5 x Al₂O₃ (pH 5.1, Al₂O₃ 2.6 me/100g, Mn 216.2 ppm) dengan keefektifan simbiotiknya rata-rata di atas 100% (Saraswati *et al.* 1989). Galur *B. japonicum* terpilih bahkan dapat bertahan hidup dan memperbanyak diri dalam keadaan tergenang pada rizosfer padi (Simanungkalit *et al.* 1995).

Beberapa mikrob berpotensi tinggi dalam melarutkan fosfat (Asea *et al.* 1988, Illmer & Schinner 1992, Goenadi & Saraswati 1993, Goenadi *et al.* 1993). Mikrob yang dapat menguraikan fosfat seperti *Aspergillus*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Fusarium*, *Micrococcus*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, dan *Sclerotium* (Alexander, 1977) dapat menguraikan jenis kompleks hidroksida Ca-, Fe-, Al-, Mn-, dan Mg-. Banik dan Dey (1982), Goenadi dan Saraswati (1993), serta Goenadi, *et al.* (1993) mengemukakan bahwa cendawan lebih mampu melarutkan P dalam bentuk AlPO₄ (pada tanah masam-Al), sedangkan bakteri lebih efektif melarutkan fosfat dalam bentuk Ca₃PO₄ pada tanah alkali. Cendawan pelarut fosfat yang dominan ditemukan di tanah masam Indonesia ialah *Aspergillus niger* dan *Penicillium* (Goenadi *et al.* 1993). Mekanisme pelarutan fosfat dari bahan yang sukar larut banyak dikaitkan aktivitas mikrob yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim fosfatase, fitase (Alexander 1977), dan asam organik hasil metabolisme seperti asam asetat, propionat, glikolat, fumarat, oksalat, suksinat, tartrat (Banik & Dey, 1982), sitrat, laktat, dan ketoglutarat (Illmer & Schinner 1992). Asam organik yang dihasilkan oleh mikrob tersebut berinteraksi dengan senyawa fosfat sukar larut menghasilkan senyawa fosfat yang tersedia untuk tanaman (Basyaruddin 1982).

Beberapa bakteri mampu berasosiasi dalam pembentukan bintil akar (Singh & Rao 1979, Nishijima *et al.* 1988, Young *et al.* 1988, Saraswati & Kobayashi 1992, Saraswati *et al.* 1993). Asosiasi *Rhizobium* dengan bakteri pelarut P dapat meningkatkan inisiasi *Bradyrhizobium* dalam membentuk bintil akar dan meningkatkan kelarutan P di tanah masam (Nishijima *et al.* 1988, Saraswati *et al.* 1993). Pembentukan bintil akar, pertumbuhan tanaman, dan serapan N dan P meningkat apabila tanaman diinokulasi oleh pupuk mikrob yang terdiri atas *Bradyrhizobium japonicum*, *Micrococcus* spp. dan *Azospirillum lipoferum*

(Syamsu & Saraswati 1996, Hastuti *et al.* 1998). Penambahan *Micrococcus* dan *Azospirillum* mampu meningkatkan ketersediaan hara P dalam tanah dan memacu pertumbuhan akar sehingga penyerapan hara N dan P meningkat. Asosiasi *Rhizobium* dan cendawan mikoriza arbuskula (CMA) dapat meningkatkan pertumbuhan, serapan N dan P tanaman, serta hasil kedelai (Harley & Smith 1983, Picinii *et al.* 1988). Inokulasi ganda *Rhizobium* dan CMA dapat menggantikan pupuk N sebesar 40 kg N/ha (Young *et al.* 1988).

Bahan Pembawa. Beberapa penelitian yang menyangkut aplikasi mikrob sebagai inokulum untuk meningkatkan efisiensi serapan hara tanaman menunjukkan hasil yang tidak konsisten. Survei yang dilakukan di India menunjukkan bahwa dari 430 contoh yang diuji, 38% bermutu di bawah standar (Alam 1994) dan diduga dua hal penyebabnya ialah mutu galur mikrob dan/atau ketidaksesuaian bahan pembawanya (Taha *et al.* 1969). Kenyataan ini selanjutnya telah mendorong para peneliti untuk melakukan studi tentang pengaruh bahan pembawa, khususnya yang menyangkut formula produk inokulan mikrob. Jenis formula bahan pembawa yang dilaporkan terdiri atas bahan sintetik seperti Na-alginat (Saraswati & Kobayashi 1992), atau bahan alami seperti gambut (Stephenson 1996, komunikasi pribadi) dan campurannya dengan beberapa jenis mineral liat (Premono *et al.* 1991, Goenadi *et al.* 1994, 1995). Dasar pemikiran dari para peneliti tersebut pada prinsipnya sama, yaitu bahwa bahan pembawa harus mampu berfungsi sebagai sumber energi dan tempat tinggal mikrob dalam suatu jangka waktu tertentu. Jangka waktu ini sangat penting artinya bagi nilai ekonomi suatu produk inokulan mikrob. Khusus untuk *Rhizobium*, bahan pembawa yang umum digunakan ialah gambut (India, Indonesia, dan Kanada), lignit (India), dan arang (India). Kecuali dua faktor penentu keefektifan bahan pembawa inokulan mikrob yang disebutkan di atas, faktor lain yang penting ialah kemampuan kompetisi mikrob inokulan dengan mikrob asli di dalam tanah, toleransinya terhadap faktor abiotik, dan teknik aplikasi (Alam 1994).

Tanah Gambut. Dalam sistem Taksonomi Tanah, tanah gambut dikelompokkan ke dalam ordo Histosols yang atas dasar tingkat perkembangannya digolongkan ke dalam Fibrists, Hemists, dan Saprists, dengan urutan yang paling muda hingga tua. Gambut muda hasil endapan rawa atau danau seperti yang ditemukan di Rawa Pening, Salatiga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembawa mikrob. Kelebihan gambut sebagai bahan pembawa mikrob ialah gambut merupakan bahan organik yang telah melapuk sehingga mengandung asam humat yang mengandung C dan N-organik berupa asam-asam amino yang dapat meningkatkan pertumbuhan mikrob maupun tanaman (Goenadi & Mariska-Sudharma 1995).

Mineral Liat. Telah banyak dipahami bahwa interaksi antara mikrob dan mineral liat di dalam tanah berlangsung sangat intensif, khususnya dalam kaitannya dengan koloid organik. Dalam kaitannya dengan bahan pembawa inokulan mikrob, mineral liat digunakan sebagai campuran gambut

atau bahan organik lain untuk memberikan satu kondisi aerasi yang optimum. Atas pertimbangan ini, pemilihan jenis mineral liat yang sesuai lebih banyak didasarkan pada kemampuan mineral liat yang bersangkutan dalam mempertahankan kelembaban. Jenis mineral liat yang potensial untuk digunakan yaitu mineral alumino-silikat seperti kaolin, bentonit, dan zeolit. Kaolin adalah mineral liat tipe 1:1 dengan nilai KTK sekitar 10 me/100 g liat, sedangkan bentonit adalah tipe 2:1 mengembang dengan nilai KTK sekitar 80 me/100 g liat (Tan 1992). Zeolit adalah mineral dengan kisi-kisi internal dengan nilai KTK sekitar 100 me/100 g liat (Ming & Mumpton 1989).

Formula Bahan Pembawa. Pemanfaatan gambut sebagai bahan pembawa mikroba, khususnya *Rhizobium* sp., telah dilaporkan hasilnya cukup baik dalam arti populasi bakteri yang viabel tetap tinggi dengan masa penyimpanan beberapa bulan (Saraswati *et al.* 1995, Suharyanto, 1995). Produk *Rhizobium* komersial seperti Legin dan Rhizogin menggunakan gambut muda endapan rawa, sedangkan *Selstick* dari Kanada menggunakan *peatmoss*. Hasil penelitian Goenadi *et al.* (1995) menunjukkan bahwa kaolin dan zeolit lebih baik daripada bentonit sebagai campuran bahan pembawa bakteri penambat N bukan pensimbiosis, mikroba pelarut fosfat, dan pemantap agregat. Di pihak lain, sebagai bahan tambang alami, mutu kaolin dan zeolit sangat ditentukan oleh lokasi depositnya. Goenadi (1995) melaporkan bahwa kaolin Belitung dan zeolit Bayah mempunyai kesesuaian dengan inokulan mikroba lebih baik daripada yang berasal dari lokasi utama lain di Indonesia. Berdasarkan hasil penelitian Goenadi *et al.* (1995) kaolin lebih sesuai bagi pertumbuhan bakteri penambat N bukan pensimbiosis, pelarut fosfat dan pemantap agregat daripada zeolit, sedangkan zeolit lebih sesuai untuk cendawan pelarut fosfat. Menurut Premono & Widyastuti (1991) campuran zeolit 10% dengan kompos menghasilkan pertumbuhan bakteri pelarut fosfat yang cukup memadai. Demikian pula halnya dengan zeolit Tasikmalaya yang diperkaya dengan bahan humat 2.5% (v/w) mampu menyediakan lingkungan pertumbuhan yang optimum bagi *Rhizobium* (Suharyanto 1995, komunikasi pribadi). Sembilan formula bahan pembawa dicoba sebagai *carrier* PMMG Rhizo-plus (Saraswati *et al.* 1996). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bahan perekat gum arabic, tapioka atau mineral liat kaolin dapat meningkatkan jumlah mikroba, bobot kering, serta serapan N dan P tanaman kedelai.

TEKNIK PRODUKSI

Suatu sistem teknik produksi yang unggul diperlukan untuk menghasilkan pupuk mikroba yang bermutu unggul sesuai perannya yang sangat penting bagi sistem pertanian yang berkelanjutan. Sistem teknik produksi yang unggul dan ekonomis dapat diperoleh dengan menggunakan galur mikroba yang efektif dengan formula bahan pembawa yang sesuai melalui proses produksi yang sederhana. Teknik produksi yang selama ini dilakukan lebih banyak bersifat skala kecil yang dibesarkan, bukan skala besar yang

sebenarnya. Pengalaman di India menunjukkan bahwa di awal 1980-an, inokulan *Rhizobium* dihasilkan dari dalam labu kocok sehingga jumlah dan mutu hasilnya sangat buruk. Di tahun 1990-an, produksi *Rhizobium* dilakukan dalam skala besar yang berorientasi pada pemilihan galur yang sesuai. Untuk tahap ini digunakan fermentor ukuran 2000 liter untuk penyiapan inokulum (Alam 1994). Hal yang sama juga dilakukan di Kanada (Stephens, komunikasi pribadi) pada tahun 1994 dengan fermentor ukuran 400 liter. Namun, karena mutu produknya masih tetap bervariasi dan sulit menurunkan tingkat kontaminasi maka produksinya diubah dengan menggunakan fermentor yang lebih kecil (20 liter). Hal penting lainnya yang perlu diperhatikan adalah mutu bahan pembawa, teknik inokulasi, dan mutu air. Teknik produksi skala industri adalah ujung akhir dari satu rangkaian pengembangan paket teknologi yang dimulai dari laboratorium. Pada tingkat skala ini, berbagai pertanyaan yang berkaitan dengan mutu produk yang dihasilkan sudah tidak ada lagi, yang ada ialah pengaturan alur produksi untuk mencapai target volume produksi yang ekonomis. Untuk menjawab pertanyaan yang masih ada, seperti sistem inokulasi ke dalam bahan pembawa dan bentuk kemasan, tahap skala pilot perlu dilalui. Pada prinsipnya, teknik skala pilot adalah perbesaran skala proses produksi dari skala laboratorium ke skala dengan volume produksi yang lebih besar. Menurut Damardjati *et al.* (1992) untuk melakukan perbesaran skala memerlukan data yang akurat dari berbagai sumber, seperti hasil penelitian, pustaka, dan perhitungan empiris. Hal lain yang membedakan teknik produksi skala komersial dengan tahap sebelumnya adalah penilaian efisiensi yang lebih terinci. Pada tahap ini faktor-faktor yang tidak begitu diperhatikan sebelumnya, seperti konsumsi energi, jumlah kehilangan yang diperbolehkan, dan pengaturan tenaga kerja sangat menentukan. Pada akhirnya, teknik produksi skala komersial adalah satu teknologi proses yang mampu menghasilkan suatu produk yang secara ekonomis layak.

Produksi pupuk mikroba multiguna (PMMG) skala besar memerlukan teknologi produksi massal mikroba. Melalui teknologi bioproses, produksi inokulan yang efisien dengan produktivitas yang tinggi dapat diperoleh. Pada skala laboratorium, hasil perbanyakan sel *Rhizobium* dalam labu kocok dengan media manitol dua fase (bifase) menghasilkan biomassa, laju pertumbuhan spesifik, dan efisiensi penggunaan substrat oleh sel tertinggi (Syamsu & Saraswati 1996). Media padat dalam media bifase mampu memberikan suplai tambahan zat makanan untuk memperpanjang fase eksponensial pertumbuhan mikroba. Namun, bila dikembangkan pada skala yang lebih besar, metode kultivasi dengan media bifase akan sangat menyulitkan persiapan media di dalam fermentor. Oleh karena itu, pada penggandaan skala (*scaling up*) teknologi produksi PMMG dikembangkan metode yang lebih praktis untuk menjamin kesinambungan proses, baik dengan kultivasi sistem *batch* maupun *fed batch*.

Kultivasi Multigalur Bakteri. Pemakaian *Bradyrhizobium japonicum* (*Rhizobium* tumbuh lambat) dan

Sinorhizobium fredii (Rhizobium tumbuh cepat) secara bersamaan pada pembuatan pupuk mikrob multiguna sangat menguntungkan, karena keduanya mempunyai sifat yang saling mendukung dalam pemakaiannya di lapangan. *Bradyrhizobium japonicum* yang digunakan adalah hasil seleksi intensif terhadap ketahanannya pada kondisi masam-AI, sedangkan *Sinorhizobium fredii* banyak menghasilkan eksopolisakarida yang berfungsi melindungi sel bakteri dari kondisi masam-AI (Yuliar, 1995). Menurut Cunningham dan Munns (1984) eksopolisakarida berfungsi mengkelat ion Al^{3+} dan Mn^{2+} dan melindungi bakteri dari kekeringan serta mengendapkan ion-ion logam berat seperti Fe^{3+} , Th^{4+} , dan Sn^{2+} . Teknik produksi inokulan yang dilakukan adalah pembiakan tahap ganda yaitu pembiakan inokulum sampai beberapa kali sehingga diperoleh jumlah inokulan ± 5 persen dari volume media pada tahap kultivasi akhir. Biakan tahap ganda ini dapat dilakukan di dalam labu kocok, cara ini cukup mudah penanganannya dan murah biayanya.

Dari perbandingan kultivasi bakteri baik dengan sistem *batch* maupun *fed batch*, tampaknya fenomena yang terjadi pada kultivasi *fed batch* merupakan penemuan yang dapat dimanfaatkan untuk keefektifan produksi sel bakteri pada skala industri. Dengan menggunakan metode ini panen dapat dilakukan pada saat populasi sel mencapai tingkat populasi sel 10^9 sel/ml (Somasegaran & Hoben 1994, Saraswati *et al.* 1998) dan tingkat populasi ini dapat diperoleh lebih dari satu kali dalam setiap periode produksi. Walaupun pencapaian jumlah maksimum sel kedua metode kultivasi berbeda, namun secara umum panen inokulum dapat dilakukan setelah kultur berumur 24 jam. Kecepatan dalam melampaui fase adaptasi dan mencapai tingkat populasi maksimum merupakan salah satu kriteria dalam menentukan metode atau teknik terbaik, terutama bagi industri yang terkait dengan masalah efisiensi. Dari kedua metode kultivasi, jumlah maksimum sel tertinggi diperoleh pada metode kultivasi dalam fermentor *fed batch*, yaitu sebesar 0.135/jam dan *batch* sebesar 0.151/jam. Nilai μ berbanding lurus dengan peningkatan jumlah mikrob yang dihasilkan dalam kurun waktu tertentu. Semakin tinggi peningkatan jumlah sel, maka semakin tinggi pula μ -nya.

SISTEM PENGAWASAN MUTU

Keberhasilan inokulasi pupuk hayati dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan ditentukan oleh mutu inokulan. Mutu inokulan ditentukan oleh karakter galur mutu PMMG Rhizo-plus ditentukan oleh keefektifan dan keefisienan galur dalam kemampuannya membentuk bintil pada tanaman dan melarutkan hara tanah, serta jumlah populasi mikrob yang membentuk bintil akar dan melarutkan hara secara efektif.

Di Indonesia mutu standar inokulum *Rhizobium* ditetapkan dengan SK Dirjen Pertanian Tanaman Pangan, No. SK I.A.5.84.5 tertanggal 17 Januari 1984. Keputusan ini menetapkan antara lain inokulan mengandung bakteri *Rhizobium* spp. yang dapat membentuk bintil akar efektif

pada tanaman kedelai dalam jumlah 10^8 sel per gram atau per ml inokulan pada akhir masa berlakunya; masa berlaku minimum tiga bulan untuk kemasan dari bahan polietilena kedap cahaya, dan minimum enam bulan untuk kemasan dari bahan *aluminium foil*. Surat Keputusan ini merupakan dasar untuk pengawasan mutu inokulan *Rhizobium* yang dilaksanakan oleh Laboratorium Benih Pusat dan Laboratorium Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih di daerah. Mengingat keterbatasan yang ada baik tenaga maupun fasilitas, fungsi pengawasan ini belum seperti yang diharapkan (Simanungkalit 1989).

Di Australia pengendalian mutu inokulan *Rhizobium* dilakukan oleh *Australian Inoculants Research and Control Service* (AIRCS). Supaya satu *batch* inokulan dapat dipasarkan, produsen mengirimkan tujuh kantong contoh inokulan dari *batch* tersebut untuk diuji jumlah mikrob yang dikandungnya. Lima kantong diuji dan dua sisanya akan diuji apabila salah satu dari kelima kantong contoh terdahulu terkontaminasi atau jumlah bakterinya rendah. Satu *batch* inokulan baru lulus, bila kelima kantong memenuhi syarat-syarat berikut: (i) Jumlah bakteri 10^8 sel/g bahan pembawa lembap pada penghitungan cawan, khusus untuk *Lotononis 2.10^8* sel/g bahan pembawa lembap; (ii) Sel-sel bakteri ialah gram negatif dan secara serologi reaktif dengan antiserum yang sesuai; (iii) Cawan pada pengenceran 10^{-6} bebas dari kontaminan; (iv) Bintil akar terbentuk pada akar tanaman pada pengenceran 10^{-7} dan 10^{-8} ; (v) Kelembapan lebih besar dari 45% (RH 3.79) per kantong. Bila dua dari kelima kantong pertama terkontaminasi atau penghitungan jumlah rhizobium kurang dari 10^8 sel/g bahan pembawa lembap, maka *batch* tadi tidak lulus. Bila satu paket terkontaminasi atau rhizobiumnya kurang dari 10^8 /g bahan pembawa lembap, pengujian terhadap jumlah rhizobium diulang. Bila standar mutu dipenuhi pada pengujian kedua, maka *batch* tersebut lulus uji dan dapat dipasarkan, tetapi bila gagal memenuhi syarat standar mutu, maka kedua kantong tambahan tadi harus diuji. Kalau salah satu dari kedua kantong ini gagal memenuhi standar karena jumlah rhizobium rendah atau terkontaminasi, maka *batch* bersangkutan ditolak (Roughley *et al.* 1984).

Pengendalian mutu di Kanada (pabrik inokulan *Rhizobium*, MicroBio Rhizo-Gen, Saskatoon) dilakukan mulai dari pemeriksaan bahan gambut hingga barang sebelum dikirim, yang jumlahnya mencapai 14 titik pengawasan. Beberapa titik pengendalian mutu yang penting ialah populasi mikrob harus mencapai minimum 10^8 sel/g bahan pembawa setelah lima hari masa pemantapan. Bagian lain yang penting ialah pengujian secara acak efikasi produk dari setiap *batch*. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan tanaman uji *lentil*, *pea*, dan *canola* yang spesifik sesuai dengan formula produk. Peubah uji yang diamati ialah ada/tidaknya bintil akar yang terbentuk setelah 21 hari persemaian (Stephen, komunikasi pribadi).

Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah sel rhizobium secara nyata, di antaranya yaitu sifat dari bahan pembawa (gambut) itu sendiri, metode penyiapan gambut

termasuk sterilisasi, kadar akhir kelembapan gambut (Roughley & Vincent, 1967), bahan pembungkus (Roughley 1968), dan suhu penyimpanan inokulan (Roughley 1982). Faktor-faktor tersebut saling berinteraksi. Potensial kelembapan inokulum berpengaruh langsung terhadap jumlah sel rhizobium setelah inokulasi dan pada penyimpanan (Griffith & Roughley 1992).

Dari hasil penelitian yang dilakukan di Indonesia dan Australia tentang pengaruh suhu selama transportasi inokulan ke berbagai lokasi di kedua negara tersebut menunjukkan bahwa reinkubasi dari inokulan pada suhu 25°C di lokasi-lokasi tujuan dianjurkan bila suhu dalam kemasan inokulan melebihi 35°C selama tujuh hari (Roughley *et al.* 1995). Pengawasan mutu PMMG Rhizo-plus dilakukan selama proses produksi terhadap ada atau tidaknya kontaminasi dan jumlah populasi penyimpanan mulai dari *batch* inokulan sampai produk akhir yaitu saat pengiriman ke lokasi pemakaian Rhizo-plus. Pengujian terhadap produk akhir dilakukan secara acak terhadap lima dari 10,000 *sachet* pupuk mikrob dari setiap *batch* untuk analisis kandungan mikrob. Sistem pengawasan mutu Rhizo-plus dilakukan melalui (i) pengawasan mutu internal (dilakukan oleh PT Hobson Interbuana Indonesia) dan (ii) pengawasan mutu eksternal (dilakukan oleh Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan). Sertifikat mutu PMMG Rhizo-plus akan diberikan apabila produk tersebut memenuhi syarat: (i) kultur murni inokulan berasal dari kultur segar hasil biakan murni Balitbio dan (ii) telah melalui pengawasan mutu internal. Rhizo-plus yang siap didistribusikan ke petani mengandung masing-masing bakteri *Rhizobium* dan bakteri pelarut fosfat yang berjumlah 109 sel/g setelah satu minggu masa inkubasi.

INOKULASI DAN PEMUPUKAN

Pada umumnya tanah pertanian di Indonesia mempunyai kandungan N rendah. Pada lahan masam simbiosis *Rhizobium*-tanaman kekacangan sering terhambat oleh kondisi tanah yang tidak subur, terutama yang berkaitan dengan pH yang rendah, keracunan Al dan Mn, serta Ca dan P yang rendah (Alva *et al.* 1987). Namun, pada lahan agak masam yang baru pertama kali ditanami kedelai, inokulasi *Rhizobium* sering memberikan tanggapan hasil yang positif (Pasaribu & McIntosh 1985). Menurut Sunarlim (1986) kedelai yang ditanam pada lahan baru, baik di lahan kering maupun lahan sawah, perlu diinokulasi *Rhizobium*, demikian pula pada daerah yang pembintilan dan fiksasi N-nya kurang efektif. Pada tanah Podsolik Merah Kuning yang dikapur 2 ton/ha dan dipupuk 69 kg P₂O₅ dan 50 kg K₂O/ha banyaknya N yang difiksasi ialah 63.2 kg/ha atau 45.4% dari keseluruhan N yang dibutuhkan tanaman (Sunarlim *et al.* (1993). Brangkas kedelai yang dikembalikan ke dalam tanah dan kemudian ditanami jagung menghasilkan jagung yang setara dengan pemberian pupuk N sebesar 45 kg/ha.

Penggunaan galur *Rhizobium* tahan masam telah dicoba di tanah Podsolik Merah Kuning oleh Saraswati *et*

al. (1989), Brotonegoro *et al.* (1993), dan Simanungkalit *et al.* (1996). *Rhizobium* tahan masam dapat bertahan hidup di tanah masam Lampung dengan dosis pengapuran rendah yaitu 0.5 x Al₂O₃ (pH 5.1, Al₂O₃ 2.6 me/100g, Mn 216.2 ppm) dengan keefektifan simbiotik masam di atas 100% (Saraswati *et al.* 1989). Penggunaan galur yang tidak tahan masam (N 20C) dan tahan masam (TKG 4B) dengan pengapuran 1.5 x Al₂O₃ menghasilkan pertumbuhan, serapan N, dan hasil biji kering tertinggi dibandingkan dengan perlakuan pengapuran lainnya (Brotonegoro *et al.* 1993). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan galur *Rhizobium* tahan masam tidak mutlak diperlukan apabila kedelai ditumbuhkan di lahan masam yang dikapur. Inokulasi galur *Bradyrhizobium* tahan masam pada lahan masam (pH 4.6) di Taman Bogo (Lampung) yang sebelumnya ditanami padi sawah terus-menerus meningkatkan hasil kedelai sampai 63% pada tanaman yang diinokulasi (Simanungkalit *et al.* 1996). Inokulasi dengan *Bradyrhizobium* tahan masam pada pemberian 50 kg N/ha tidak memberikan pengaruh lagi terhadap hasil kedelai.

Pada lahan sawah di Yogyakarta dengan pola tanam padi-padi-kedelai, kombinasi pemberian pupuk N dan inokulasi *Rhizobium* memberikan hasil yang tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Sunarlim *et al.* 1986). Di Indramayu inokulasi *Rhizobium* pada kedelai hanya meningkatkan banyaknya polong isi dan bobot biji. Takaran inokulan yang tinggi (15 g/kg benih) meningkatkan banyaknya polong isi sebesar 9.4%, bobot biji setiap tanaman 9.0%, dan bobot bintil akar tidak dipengaruhi oleh pupuk N. Sedangkan pada percobaan rumah kaca, bobot bintil akar menurun secara nyata dengan penambahan pupuk N, setiap penambahan pupuk N 10 kg/ha mengurangi bobot bintil akar 4.86 mg/tanaman (Sunarlim & Achlan 1994). Eaglesham (1989) melaporkan bahwa penghambatan inokulasi oleh pupuk N terutama oleh adanya NO₃⁻, yang berpengaruh secara lokal pada perakaran, bukan karena penyerapan N ke dalam tajuk sudah cukup. Dengan demikian, walaupun N tanah berasal dari pupuk cukup, ada kemungkinan tanaman kekurangan N, bila *Rhizobium* tidak efektif.

Inokulasi Pupuk Mikrob Multiguna. Inokulasi mikrob pelarut fosfat pada kedelai yang diinokulasi *Rhizobium* di tanah Podsolik Merah Kuning (pH 4.7, Al 8.1 me/100g) dan dipupuk dengan fosfat alam dapat meningkatkan ketersediaan P dalam tanah, pertumbuhan, serapan N dan P tanaman (Tabel 1). Inokulasi bakteri pelarut P *Micrococcus* dapat meningkatkan ketersediaan P dalam tanah dari 0.17 mg P menjadi 0.44 mg P (2.6 kalinya), serapan P tanaman dari 3.00 mg P menjadi 4.40 mg P/pot (1.5 kalinya), dan serapan N tanaman dari 65.80 mg N menjadi 87.86 mg N/pot (1.3 kalinya). Sedangkan inokulasi cendawan pelarut P, *Aspergillus* sp. dapat meningkatkan ketersediaan P dalam tanah dari 0.17 mg P menjadi 0.58 mg P (3.4 kalinya) dan serapan P tanaman dari 3.00 mg P menjadi 3.30 mg P per pot (1.1 kalinya) dan serapan N dari 65.40 menjadi 65.80 mg N per pot (1.0 kalinya).

Tabel 1. Pengaruh inokulasi *Micrococcus* dan *Aspergillus* pada kedelai yang diinokulasi *Bradyrhizobium japonicum* di tanah masam Podsolik Merah Kuning, Lampung

Perlakuan	P-tersedia dalam tanah (mg P)	Bobot kering (g/pot)	Serapan tanaman	
			P (mg P/pot)	N (mg N/pot)
<i>B. japonicum</i>	0.17	1.51	3.00	65.40
<i>B. japonicum</i> + <i>Aspergillus</i>	0.58	1.52	3.30	65.80
<i>B. japonicum</i> + <i>Micrococcus</i>	0.44	1.92	4.40	87.86

Pada lahan masam-A1 di Kabupaten Lebak dengan kendala N dan P tersedia rendah (tanah marginal, tanpa pengapuran) penggunaan PMMG Rhizo-plus yang mengandung bakteri bintil akar *Bradyrhizobium japonicum*, bakteri pelarut fosfat *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, dan bakteri pemacu tumbuh *Azospirillum* dapat meningkatkan penyediaan N dan P tanah dan tanaman. Pupuk mikroba ini cukup efektif dan efisien, artinya mempunyai efek yang setara dengan pupuk anorganik Urea dan TSP/SSP. Hal ini merupakan suatu langkah penghematan dalam biaya produksi kedelai (Supriati & Saraswati 1996). Formula PMMG berpengaruh sangat baik pada pertumbuhan tanaman dan hasil biji kering per hektar. Bila dibandingkan dengan kontrol, PMMG setara dengan perlakuan tanpa Urea dengan 50 kg P₂O₅/ha (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh inokulasi pupuk mikroba multiguna, pemupukan N dan P terhadap pembintilan, pertumbuhan tanaman, serapan N dan P tanaman, dan hasil biji kering di lahan masam marginal (tanpa kapur) di Kabupaten Lebak (musim hujan tahun 1995/1996)

Perlakuan	Bobot bintil akar (mg/tan)	Bobot kering (g/tan)	Serapan tanaman (mg/tan)		Hasil biji kering (kg/ha)
			N	P	
Kontrol	0.2	2.41	133.27	1.45	398
25 kg N/ha	0.2	2.67	124.16	1.60	278
50 kg P ₂ O ₅	6.8	3.47	140.88	3.12	785
25 kg N/ha+ 50 kg P ₂ O ₅	6.6	3.62	155.29	4.34	823
Rhizo-plus	9.8	4.39	200.62	6.59	737
Rhizogen	3.2	1.87	86.39	0.90	302

Hasil pengujian produk melalui evaluasi multilokasi untuk analisis pengaruh faktor penentu keberlanjutan pengembangan PMMG dilakukan sesuai prosedur pelaksanaan, strategi dan program penelitian pengembangan, seperti: (i) proyeksi kebijaksanaan ekonomi, (ii) dukungan eksternal (penyuluhan, peranan KUD, dan lembaga pelayanan lainnya), (iii) inovasi dan partisipasi petani, dan (iv) konsistensi teknologi yang dikembangkan dalam skala ekonomi (Adnyana & Manwan 1993). Menurut Calhoun (1978) suatu teknologi akan mempengaruhi setiap aspek kemasyarakatan, perubahan teknologi, dan dampak terhadap naiknya penghasilan dan aspirasi masyarakat. Komunikasi

dipandang sebagai usaha yang bertanggung jawab untuk meningkatkan kualitas kehidupan masyarakat (Middleton 1980).

Alih Teknologi PMMG di Lahan Petani. Guna mempercepat proses adopsi teknologi oleh pengguna dilakukan demonstrasi yang berkelanjutan. Dalam alih teknologi aplikasi sangat diperhatikan ciri-ciri produk, kemudahan aplikasi dan kebiasaan petani dalam mengaplikasikan produk tersebut. Idealnya suatu produk pupuk mikroba harus unggul secara teknis, mudah diaplikasikan, memberikan insentif sosial ekonomi, dan tidak asing dengan kebiasaan petani. Pengujian keefektifan dan efisiensi produk dilakukan di lahan pertanian kedelai dengan cara aplikasi terpilih, dan bekerja sama dengan instansi terkait. Percobaan lapangan dilakukan di lahan kering masam-A1 di Lampung (lahan bukaan baru dan sudah pernah ditanami kedelai) dan lahan sawah di Jawa Timur (pola tanam padi-kedelai-kedelai). Pemantapan teknologi aplikasi dilakukan dengan membandingkan penggunaan PMMG pada pertanian kedelai dengan pertanian kedelai di lahan petani tanpa PMMG dengan pupuk anorganik dosis rekomendasi sesuai lokasi.

Penelitian di Kecamatan Bangunrejo (Desa Sidorejo dan Sidoluhur) Lampung Tengah dilakukan di lahan kering masam pada musim tanam kedua dengan pola tanam jagung/kedelai-jagung/kedelai. Penanaman kedelai dengan dipupuk PMMG dilakukan pada lahan seluas seluas 2.75 ha: (i) di Desa Sidorejo seluas 1.0 ha (0.75 ha kultivar Lumajang Bewok dan 0.25 ha kultivar Wilis), dan (iii) di Desa Sidoluhur seluas 1.75 ha (kultivar Malabar). Sebagai pembandingan ialah 0.75 ha tanpa penggunaan PMMG (teknologi petani). Penanaman kedelai di Desa Sidoluhur lebih lambat daripada penanaman di Desa Sidorejo. Jumlah curah hujan di Desa Sidorejo (347 mm) lebih tinggi daripada Desa Sidoluhur (287 mm). Selain curah hujan, serangan hama (penggerek polong) di Desa Sidoluhur lebih banyak daripada Desa Sidorejo. Hal ini menyebabkan hasil di Desa Sidoluhur lebih rendah daripada hasil di Desa Sidorejo. Meskipun tertimpa kekeringan dan terserang hama, tanaman yang di pupuk PMMG masih menghasilkan biji 500 kg. Tampaknya pemberian PMMG dapat meningkatkan ketahanan hidup tanaman. Di Desa Sidorejo pemberian PMMG menaikkan rata-rata hasil biji kering sebesar 131 kg/ha (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil biji kering kedelai tanpa dan dengan pemberian pupuk mikroba multiguna yang ditanam petani di Kecamatan Bangunrejo pada musim hujan tahun 1996/1997

Lokasi*	Rata-rata hasil biji kering (kg/ha)	
	Tanpa MMG	Dengan MMG
Desa Sidorejo	587	988
Desa Sidoluhur	-	500

Penelitian di Kecamatan Kraton (Desa Ngabar dan Plinggisan) Pasuruan dilakukan pada lahan sawah dengan pola tanam padi-padi-kedelai, masing-masing seluas 3 ha: 2.5 ha kedelai kultivar Wilis, 0.25 ha kedelai kultivar

Mancuria, dan 0.25 ha kedelai kultivar Putrimulyo. Sebagai pembandingan (tidak menggunakan PMMG, 50 kg pupuk Urea dan 100 kg SP 36/ha) diamati 2.0 ha tanaman kedelai di dua desa tersebut. Dari hasil pengamatan terlihat bahwa tinggi tanaman saat berbunga dan panen serta jumlah polong/tanaman tidak berbeda antara penggunaan dan tanpa PMMG. Sebaliknya, jumlah bintil akar dan hasil biji kering kedelai yang menggunakan PMMG lebih tinggi daripada tanpa penggunaan PMMG (Tabel 4). Kedelai kultivar Wilis memberikan respons yang paling positif terhadap penggunaan PMMG, kenaikan hasil biji keringnya tertinggi dibandingkan kedelai kultivar lainnya (Tabel 5).

Tabel 4. Tinggi tanaman, jumlah bintil akar, jumlah polong, dan hasil biji kering kedelai yang ditanam petani tanpa dan dengan penggunaan pupuk mikrob multiguna di Kecamatan Kraton, Pasuruan, musim kering tahun 1996/97.

Peubah	Tanpa MMG	Dengan MMG
Tinggi tanaman saat berbunga (cm)	50.1a	50.7a
Tinggi tanaman saat panen (cm)	56.7a	56.9a
Jumlah bintil akar/ tanaman	27.5b	47.3a
Jumlah polong/tanaman	34.0a	34.9a
Hasil biji kering (kg/ha)	1 177.0b	1246.0a

Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Tabel 5. Hasil biji kering beberapa varietas kedelai yang ditanam petani dengan dan tanpa penggunaan pupuk mikrob multiguna di Kecamatan Kraton, Pasuruan, musim kering tahun 1997.

Kedelai kultivar	Rata-rata hasil biji kering (kg/ha)	
	Tanpa MMG	Dengan MMG
Wilis	1 703	1 829
Mancuria	1 891	1 994
Putri Mulyo	1 449	1 519

Didasari dari respons yang paling positif dan kedelai yang terluas ditanam di Kecamatan Kraton maka hasil biji kering kedelai kultivar Wilis diambil sebagai dasar perhitungan analisis usaha tani penggunaan PMMG di lahan sawah. Dari hasil analisis (data sebelum krisis moneter) didapatkan bahwa penggunaan PMMG dapat memberikan keuntungan sebesar Rp. 147 500,-/ha dibandingkan tanpa penggunaan PMMG (Tabel 6) dan Rp. 831 000,-/ha (pekiraan perhitungan setelah krisis moneter).

Dari hasil demonstrasi plot pemberian PMMG pada tanaman kedelai di delapan lokasi pertanaman kedelai di Jawa dan Lampung pada musim kering 1995/96 sampai dengan Musim Kering 1997/98 menunjukkan hasil yang positif. Pemberian PMMG dapat menekan kebutuhan Urea sampai 100% dan SP-36 sampai 50% dari dosis rekomendasi untuk kedelai dengan peningkatan hasil kedelai rata-rata sampai 242.5 kg/ha kedelai (Tabel 7).

Tabel 6. Analisis usaha tani tanpa dan dengan penggunaan Rhizo-plus di Kabupaten Pasuruan musim kering tahun 1997 (perhitungan sebelum krisis moneter).

	Nilai ekonomi/ha (Rp)	
	Dengan Rhizo-plus	Tanpa Rhizo-plus
Sarana Produksi		
Benih	60 000	60 000
Pupuk		
Urea	-	17 500
SP-36	31 000	62 000
KCI	30 000	30 000
Rhizo-plus	20 000	-
Pestisida	72 500	72 500
Jumlah	213 500	242 000
Tenaga Kerja		
Persiapan lahan		
Tanam	37 500	37 500
Penyiapan	87 500	87 500
Pemupukan	96 000	96 000
Proteksi tanaman	20 000	20 000
Pengairan	35 000	35 000
Panen	25 000	25 000
	127 000	120 000
Total biaya produksi	428 000	421 000
Penerimaan		
Hasil bij kering (kg/ha)	1 820	1 700
Nilai jual (Rp. 1000/kg)	1 820 000	1 700 000
Pendapatan	1 178 500	1 037 000
Keuntungan	141 500	-

Pendekatan Tekno-Sosio-Ekonomi. Satu produk dapat diterima oleh konsumen jika dapat memenuhi beberapa aspek kebutuhan konsumen yang bersangkutan, yaitu teknologi, sosial, dan ekonomi (Kotler 1991). Produk inokulan *Rhizobium* yang dihasilkan di India tidak mampu berkembang karena salah satu faktor tersebut tidak optimum. Secara teknis dan sosial, produk yang dihasilkan cukup baik, tetapi pasar yang tersedia (aspek ekonomi) sangat terbatas. Kapasitas produksi 14,460 ton pada tahun 2000 yang dapat diserap oleh pasar hanya 1.7 %. Dengan kata lain, satu produk hasil rakitan teknologi hanya akan dapat diterima di pasar jika secara teknis telah teruji manfaatnya secara langsung, tidak menimbulkan perubahan pola kerja yang drastis, dan secara ekonomi dapat langsung dinikmati oleh pihak-pihak yang terlibat (produsen-konsumen).

Berdasarkan analisis sosial-ekonomi (Susetyo 1998) dari persamaan struktural produktivitas kedelai, penggunaan PMMG mencerminkan adanya introduksi teknologi untuk mengurangi kebergantungan pada penggunaan pupuk disamping mampu menambah produktivitas kedelai. Selanjutnya berdasarkan analisis tekno-ekonomi (Djumali *et al.* 1996) dari kriteria investasi dinyatakan bahwa industri PMMG tersebut layak untuk direalisasikan.

Tabel 7. Rata-rata kenaikan produksi kedelai (kg/ha) dari hasil pengujian PMMG di lahan petani di delapan lokasi pertanaman kedelai di Jawa dan Lampung pada musim kering 1995/96 sampai dengan musim kering 1997/98.

Lokasi	Produksi (kg/ha)		Selisih kenaikan produksi (kg/ha)
	Tanpa PMMG 25N-100P-100K	Dengan PMMG ON-50P-100K	
Lahan sawah, Muktihardjo, Pati (1995/96)	1 096	1 412	316
Lahan masam, Seputih Banyak, Lampung (1995/96)	837	1 060	223
Desa Damaraja, Kab. Banyumas (1996/97)	1 550	1 791	241
Desa Carikan, Kab. Magetan (1996/97)	2 930	3 100	170
Desa Ciranjang Kab. Cianjur (1996/97)	1 630	1 670	40
Pasuruan, Lokasi I (1997/98)	1 700	1 820	120
Pasuruan, Lokasi II (1997/98)	1 890	1 990	100
Desa Bojen Kec. Penimbing Kab. Pandeglang (1997/98)	1 270	2 000	730
Selang	837-2 930	1 060-3 100	40-730
Rata-rata produksi			242.5

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyana, M. O. & I. Manwan. 1993. Prosedur pelaksanaan, strategi, dan program penelitian pengembangan, 1-12. *Risalah Penelitian Pengembangan Sistem Produksi Pertanian*. Jakarta: Badan Litbang Pertanian.
- Alam, G. 1994. Biotechnology and sustainable agriculture: Lessons from India. Tech. Paper No. 103. Paris: OECD Dev. Ctr.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. New York: John Wiley and Sons.
- Allen, O.N. & E.A. Allen. 1981. *The Leguminosae. A source book of characteristic, uses and nodulation*. Wisconsin: The University of Wisconsin Press.
- Alva, A. K., D. G. Edwards, C. J. Asher & S. Suthipradit. 1987. Effect of acid soil infertility factors on growth and nodulation of soybean. *Agron. J.* 79: 302-306.
- Asanuma, S. & R. Saraswati. 1988. Expectation and potential for improved production: Use of *Rhizobium* in soybean production in Indonesia. *Food Legumes - Coarse Grains Newsletter* 5:6-7, 21, 23.
- Asea, P.E.A., R.M.N. Kucey & J.W.B. Stewart. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil. Biol. Biochem.* 20:459-464
- Banik, S. & B.K. Dey. 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing microorganisms. *Plant and Soil* 69:353-364.
- Berreur, J.H. 1992. Morphological Methods for Industrial Development. Brussel: European Business Network.
- Brotonegoro, S., B. Santosa & R. D. Hastuti. 1993. Growth responses and yields of soybean plants inoculated with different strains of *Bradyrhizobium japonicum* in acid podsolic soil amended with or without lime. Workshop on Biological Nitrogen Fixation by soybean in acid soils. Information. Bogor: LIPI.
- Calhoun, D. W. 1978. *Social Science in an Age of Change*. New York: Harper & Row Publisher.
- Cunningham, D. S. & D.N. Munns. 1984. Effect of Rhizobial Extracellular Polysaccharides on pH and Aluminum Activity. *Soil. Sci. Soc. Biochem.* 48:1276-1279.
- Damardjati, D. S., E. Y. Purwani & K. D. Meihira. 1992. *Pengembangan model agro-industri tepung beras kaya protein (BKP). I. Analisis prospektif produksi tepung beras kaya protein secara scale-up*. Sukamandi: Badan Litbang Pertanian.
- de Garmo, D.E., W.G. Sullivan & G.R. Canada. 1984. *Engineering economy*. New York: McMillan Publ. Co.
- Djumali, M., R. Saraswati & Tubagus Hiqmat. 1996. Analisis tekno-ekonomi pengembangan pupuk hayati Rhizo-plus untuk tanaman kedelai pada skala industri. *J. Teknol. Industri Pertanian*. 6:133-185.
- Goenadi, D. H. & R. Saraswati. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat fungi pelarut fosfat. *Menara Perkebunan* 61:61-66.
- Goenadi, D. H., R. Saraswati & Y. Lestari. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat bakteri asal tanah dan pupuk kandang sapi. *Menara Perkebunan* 61:44-49.
- Goenadi, D. H. & I. M. Sudharma. 1995. Shoot initiation by humic acids of selected tropical crops grown in tissue culture. *Plant Cell Rep.* 15:59-62.
- Griffith, S.W. & R.J. Roughley. 1992. The effect of moisture potential on growth and survival of root nodule bacteria in peat culture and on seed. *J. Appl. Bacteriol.* 73:7-13.
- Harley, J.L. & S.E. Smith. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press.
- Illmer, P. & F. Schinner. 1992. Solubilization of inorganic phosphorus microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 24:389-395.
- Kotler, P. 1991. Sixth Ed. *Marketing management. Analysis, Planning, Implementation, and Control*. New Jersey: Prentice Hall.
- Middleton, J. 1980. *Approaches to Communication Planning*. Paris: Unesco.
- Ming, D.W. & F.A. Mumpton. 1989. Zeolite in Soils. In: J.B. Dixon & S. B. Weed (Co-ed.). 2nd Ed. *Minerals in Soil Environments*. Madison: Soil Sci. Soc. Am. Inc.
- Nishijima, F., W. R. Evans & S. J. Vesper. 1988. Enhanced nodulation of soybean by *Bradyrhizobium* in the presence of *Pseudomonas fluorescens*. *Plant and Soil* 111:149-150.
- Pasaribu, D. & D. L. McIntosh. 1985. Increasing tropical soybean production with improved Cropping Systems as management. Di dalam: S. Shanmugasundaram & E. W. Sulzberger (ed.). *Soybean in Tropical and Subtropical Cropping Systems*. Proceedings of a Symposium Tsukuba, Japan, 26 September - 1 Oktober 1983. Taiwan: AVRDC.
- Premono, M. E., R. Widyastuti & I. Anas. 1991. Pengaruh bakteri pelarut fosfat terhadap senyawa P sukar larut, ketersediaan P tanah, dan pertumbuhan jagung pada tanah Podsolik Merah Kuning (Ultisols), abstr. A33, hlm. 33. *Abstrak Pertemuan Ilmiah Tahunan 1991*. Bogor: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Premono, M. E., R. Widyastuti & I. Anas. 1993. Stabilitas *Pseudomonas putida* dalam beberapa bahan pembawa dan peranannya sebagai pupuk hayati. *Abstrak Pertemuan Ilmiah Tahunan 1993*. Surabaya: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Roughley, R.J., G.W. Griffith & L.G. Gemell. 1984. *AIRCS Procedures*. Gosford: The Australian Inoculants Research and Control Service.
- Roughley, R.J., R.D.M. Simanungkalit, L.G. Gemell, E.J. Hartley & P. Cain. 1995. Growth and survival of root nodule bacteria in legume inoculants stored at high temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 27:707-712.
- Roughley, R.J. & J.M. Vincent. 1967. Growth and survival of *Rhizobium* spp. in peat culture. *J. Appl. Bacteriol.* 30:362-376.
- Roughley, R.J. & J.M. Vincent. 1968. Some factors influencing the growth and survival of root nodule bacteria in peat culture. *J. Appl. Bacteriol.* 31:259-265.
- Roughley, R.J. & J.M. Vincent. 1982. The storage, quality control, and use of legume seed inoculants, hlm. 115-126. Di dalam: P.H. Graham & S.C.Harris (ed.) *Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture*. Colombo: CIAT.

- Saraswati, R. & M. Kobayashi. 1992. Symbiotic relationship between *Bradyrhizobium japonicum* and *Rhodospseudomonas capsulata*. *Soil Microorganisms* 38:29-33.
- Saraswati, R. & M. Kobayashi. 1992. Alginate beads as synthetic inoculant carriers for bradyrhizobia. *Soil Microorganisms* 40:3-8.
- Saraswati, R., Z. Nunung & H. Inoue. 1989. Evaluation of *Rhizobium* acid-Al tolerant to red yellow podzolic soil. him. 285-291. *Buletin Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan*. 13-14 Februari 1989. Bogor: Balittan.
- Schuler, M.L. & F. Kargi. 1992. *Broproses engineering basic concepts*. New Jersey: Prentice Hall.
- Simanungkalit, R.D.M., A. Indrasumunar, E. Pratiwi, R.D. Hastuti & R.J. Roughley. 1996. Inoculation of soybean with selected strains of *Bradyrhizobium japonicum* can increase yield on acid soils in Indonesia. *Soil Biol. Biochem.* 28:257-259.
- Simanungkalit, R.D.M., A. Indrasumunar, E. Pratiwi, R.D. Hastuti & R.J. Roughley. *Inpress*.
- Soil Survey Staffs. 1993. *Keys to Soil Taxonomy*. New York: Soil Conserv. Serv. U. S. Dept. Agric.
- Somasegaran, P. & H.J. Hoben. 1985. *Methods in Legume-Rhizobium Technology*. USAID.
- Sunarlim, N. & M. Achlan. 1994. Kajian manfaat pupuk N dan inokulasi *Rhizobium* pada kedelai yang ditanam setelah padi sawah. *Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan* 3:149-157.
- Sunarlim, N. & M. Achlan. 1997. Perbaikan teknik budidaya tanaman kedelai. *Bul. Agrobio*. 1:21-29.
- Sunarlim, N., J. McDonagh & K.E. Giller. 1993. Residual N benefit of soybean to a following corn plant in acid soil. Di dalam: *Workshop on Biological nitrogen Fixation by Soybean in Acid Soil*. 27-30 September 1993. Bogor: Balittan.
- Sunarlim, N., D. Pasaribu & W. Gunawan. 1986. *Pengaruh Pengolahan Tanah, Mulsa, Inokulasi, dan Pemupukan Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kedelai. Penelitian Agronomi Kacang-Kacangan* No. 7. Bogor: Balittan.
- Sunarlim, N., D. Pasaribu & W. Gunawan. 1992. Effect of nitrogen and *rhizobium* inoculation on growth and yield of soybean in red-yellow podzolic soil. *Penelitian Pertanian* 12:116-118.
- Taha, S.M., S.A.Z. Mahmoud, A.H. El-damaty & A.M. Abd. El-Hafez. 1969. Activity of phosphate-dissolving bacteria in Egyptian soils. *Plant and Soil* 30:149-161.
- Tan, K.H. 1993. 2nd Ed *Principles of Soil Chemistry*. Ed. ke-2. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Young, C. C., T.C. Juang & C.C. Chao. 1988. Effect of *rhizobium* and vesicular arbuscular mycorrhizae inoculation on nodulation, symbiotic nitrogen fixation, and soybean yield in subtropical field. *Biol. Fertil. Soils* 6:165-169.
- Yuliar. 1995. Telaah eksopolisakarida galur-galur *Bradyrhizobium japonicum* toleran masam-asam-Al. *Skripsi*. Bogor: FMIPA IPB.
- Zdor, R.E. & S.G. Puepke. 1988. Early injection and competition for nodulation of soybean by *Bradyrhizobium japonicum* 123 and 138. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:1996-2002.
- Zdor, R.E. & S.G. Puepke. 1990. Competition for nodulation of soybean 123 in soil maintaining indigenous rhizobia. *Soil Biol. Biochem.* 22:607-613.