

## Tanggap Tanaman Kedelai terhadap Inokulasi Rhizobium dan Asam Indol Asetat (IAA) pada Ultisol Darmaga

### *The Response of Soybean on Rhizobium Inoculation and Indole Acetic Acid (IAA) on the Darmaga Ultisols*

Rina D. Ningsih<sup>1\*</sup> dan Iswandi Anas<sup>2</sup>

Diterima 16 Februari 2004/Disetujui 9 Juli 2004

#### ABSTRACT

Some of rhizobacteria have been known to stimulate the growth of some crops through their fitohormon (IAA=indoleacetic acid). Those rhizobacteria can stimulate the development of epidermis cells formation at root hair site and increase the infection sites to increase the nodulation and  $N_2$  fixation. The aims of this study were to study the effect of Rhizobium strains inoculation and indole acetic acid (IAA) application on crop growth, root nodulation, and N, P uptake of soybean on the Ultisols. The greenhouse experiment used Completely Randomize Design (CRD) with four replications. The treatments were : 1) Without inoculation (blank), 2) 100 ppm N application, 3) 0.4 ppm IAA application, 4) Inoculation of Rhizobium 1004 ( $10^6$ ), 5) Inoculation of Rhizobium 1004 ( $10^6$ ) +IAA, 6) Inoculation of Rhizobium RD-20 ( $10^6$ ), 7) Inoculation of Rhizobium RD-20 ( $10^6$ ) +IAA, 8) Inoculation of Rhizobium SNI-2 ( $10^6$ ), 9) Inoculation of Rhizobium SNI-2  $10^6$ +IAA. Result of the experiment indicated that inoculation of Rhizobium and IAA application increased crop growth, nodulation, and nutrient uptake of soybean. Inoculation of Rhizobium 1004( $10^6$ ), RD-20( $10^6$ ), RD-20( $10^6$ ), SNI-2( $10^6$ ), and IAA 0.4 ppm increased dry weight of crop by 33.5%, 37.8, 17.3%, 35.1%, and 3.8% respectively compared to blank. Application of IAA at Rhizobium inoculation treatment of SNI-2( $10^6$ ) and 1004( $10^6$ ) increased dry nodule weight on soybean 40.9% and 55.7% respectively compared to without IAA application.

Key words : Rhizobium, IAA, Soybean, Ultisols

#### PENDAHULUAN

Simbiosis tanaman kacang-kacangan dengan *Rhizobium* merupakan suatu sistem penambat  $N_2$  secara biologis melalui pembentukan bintil akar dalam perakaran kacang-kacangan. Penambatan tersebut berperan penting dalam sistem pertanian karena dapat memperbaiki dan menggantikan sebagian dari penggunaan pupuk N, sehingga dapat menurunkan penggunaan pupuk buatan. Penambatan  $N_2$  dari atmosfer secara biologis oleh bermacam jenis tanaman kacang-kacangan berkisar antara 200-300 kg N/ha per tahun (Peoples dan Craswell, 1992; Peoples *et al.*, 1995). Kemampuan bakteri bintil akar menambat  $N_2$  dalam simbiosis dengan tanaman inang menentukan banyaknya N yang disumbangkan terhadap tanaman inangnya. Jumlah gas  $N_2$  yang ditambat secara biologis sekitar 25-75% dari kebutuhan kedelai (Keyser dan Li, 1992).

Beberapa rhizobia diketahui bermanfaat secara langsung dalam mendorong pertumbuhan dan perkembangan tanaman dengan menghasilkan fitohormon (Hoflich *et al.*, 1995; Noel *et al.*, 1996; Yanni *et al.*,

1997), yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui perbaikan serapan hara (Noel *et al.*, 1996; Yanni *et al.*, 1997; Biswas *et al.*, 2000). Rhizobia yang dapat ataupun tidak membentuk bintil akar mempunyai potensi menghasilkan IAA (Noel *et al.*, 1996; Antoun *et al.*, 1998).

Hasil-hasil penelitian menunjukkan inokulasi mikroba yang menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti auksin atau IAA berpengaruh positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh yang dihasilkan oleh rhizobia dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman dengan merubah status secara fisiologis, dan morfologis dari akar yang diinokulasi (Noel *et al.*, 1996; Yanni *et al.*, 1997; Biswas, 2000), seperti pemanjangan akar (Arshad dan Frankenberger, 1993; Kumar dan Narula, 1999) dan perkembangan akar lateral, sehingga bermanfaat dalam memperbaiki serapan hara. Selain itu juga dapat mempengaruhi perkecambahan biji (Kumar dan Narula, 1999), perkembangan diameter batang (Arshad dan Frankenberger, 1993), pemanjangan batang dan pembentukan bintil akar (Subba Rao, 1994),

1 Staf Peneliti Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Selatan

Jl. P. Batur Barat no.4 Banjarbaru Kalimantan Selatan 70711 Telp. 0511-772346 Fax 0511-781810 (\* Penulis untuk korespondensi)

2 Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian, IPB Bogor

Jl Meranti Kampus IPB Darmaga

Hasil penelitian Chebotar *et al.* (2001) juga menunjukkan inokulasi *Bradyrhizobium japonicum* dengan *Pseudomonas fluorescens* 2137 yang menghasilkan IAA (*Indole Acetic Acid* = Asam Indol Asetat) lebih banyak dapat meningkatkan kolonisasi *B. japonicum* di perakaran kedelai dengan jumlah bintil 3.7 kali dan ARA (*Acetylene Reduction Assay*) 2.1 kali lebih tinggi dibandingkan inokulasi *B. japonicum* secara sendiri. Demikian pula seperti yang dilaporkan oleh Dashty *et al.* (1998), inokulasi *B. japonicum* dengan *Azospirillum* yang menghasilkan IAA dapat meningkatkan nodulasi, aktivitas nitrogenase, serapan total N, dan pertumbuhan tanaman kedelai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan *Rhizobium* dan asam indole asetat (IAA) terhadap pertumbuhan, pembentukan bintil akar dan serapan hara tanaman kedelai pada tanah Ultisol.


### BAHAN DAN METODA

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tanah, Laboratorium Kesuburan Tanah dan Rumah Kaca Departemen Tanah Fakultas Pertanian, Kampus IPB Darmaga Bogor dan Laboratorium Mikrobiologi Tanah Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BALITBIOGEN).

#### Uji kemampuan *Rhizobium* menghasilkan IAA

Untuk mengetahui kemampuan *Rhizobium* yang digunakan dalam menghasilkan IAA dilakukan pengujian di laboratorium. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian triptopan 3 level (0, 50 dan 100 µg l<sup>-1</sup>) dan 3 jenis *Rhizobium* serta diulang 3 kali. *Rhizobium* RD-20 dan 1004 ditumbuhkan pada media tripton ekstrak ragi, SN1-2 pada YEMA (yeast extract manitol

Perlakuan yang diteliti adalah sebagai berikut :

- |                                 |   |   |
|---------------------------------|---|---|
| 1. Blanko                       |  | = tanpa inokulasi   |
| 2. Nitrogen                     |   | = Penambahan 100 ppm N  |
| 3. IAA                          |   | = Penambahan IAA 0,4 ppm  |
| 4. 1004 (10 <sup>6</sup> )      |   | = Inokulasi <i>Rhizobium</i> 1004 sebanyak 10 <sup>6</sup>            |
| 5. 1004 (10 <sup>6</sup> )+IAA  |   | = Inokulasi <i>Rhizobium</i> 1004 sebanyak 10 <sup>6</sup> dengan IAA |
| 6. RD-20 (10 <sup>4</sup> )     |   | = Inokulasi <i>Rhizobium</i> RD-20 sebanyak 10 <sup>4</sup>           |
| 7. RD-20 (10 <sup>6</sup> )     |   | = Inokulasi <i>Rhizobium</i> RD-20 sebanyak 10 <sup>6</sup>           |
| 8. SN1-2 (10 <sup>6</sup> )     |   | = Inokulasi <i>Rhizobium</i> SNI sebanyak 10 <sup>6</sup>             |
| 9. SN1-2 (10 <sup>6</sup> )+IAA |   | = Inokulasi <i>Rhizobium</i> SNI sebanyak 10 <sup>6</sup> dengan IAA  |

*Rhizobium* yang digunakan sebagai inokulan adalah : 1) *Rhizobium* induk galur 1004 (*Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*) yang diisolasi dari tanah beriklim sedang dengan pH 4.1, 2) *Rhizobium* hasil rekayasa genetika galur RD-20, direkayasa untuk menghasilkan IAA yang lebih banyak. Rekayasa

genetika dilakukan di International Institute of Genetics and Biophysics (IIGB), National Research Council (CNR), Naples, Italia, 3) *Bradyrhizobium* lokal galur SN1-2, diisolasi dari tanah gambut pH 3.5 di Kalimantan Barat (Sagiman, 2001).

#### Pengukuran IAA dengan HPLC

Sebanyak 20 ml biakan yang telah berumur 72 jam disentrifugasi dengan kecepatan 7 700 g, suhu 5°C selama 30 menit. Supernatan dipisahkan kemudian pH-nya diatur hingga 2.8 dengan menggunakan HCl 1.0 N untuk memprotonasi dan meningkatkan lipofilisitas gugus karboksil. Larutan kemudian diekstraksi dengan eter pekat sebanyak 3 kali. Fraksi eter yang terbentuk dipindahkan ke gelas piala dan dikeringkan di ruang asam. Setelah eter terevaporasi sempurna, ekstrak dilarutkan kembali dengan etanol 65%, yang selanjutnya digunakan untuk analisis IAA dengan HPLC. Sebelum diinjeksikan ke HPLC, setiap sampel disaring dengan filter membran berukuran 0.45 µm.

Kromatogram HPLC dihasilkan melalui penginjeksian 10 µl ekstrak yang telah disaring ke *reserve phase column* (5c18-AR; ukuran 4.6 I.D x 250 mm, type air, dilengkapi dengan prekolom ukuran 4.6 x 10 mm). HPLC yang digunakan adalah jenis *Shimadzu Liquid Chromatograph* LC-3A dengan *Detector Absorbance Spectrophotometric* pada panjang gelombang 220 nm (Lebuhn dan Hartman, 1993).

#### Percobaan Rumah Kaca

Ada 9 perlakuan yang diuji untuk mengetahui peranan *Rhizobium* dan IAA terhadap tanaman kedelai (varietas Willis). Perlakuan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan diulang 4 kali.

Perlakuan penambahan 100 ppm N sama dengan kebutuhan tanaman kedelai 200 kg N/ha. Perlakuan pemberian IAA menggunakan IAA murni dengan konsentrasi sebesar yang dihasilkan oleh RD-20 (populasi  $10^6$  sel  $ml^{-1}$ ) yaitu  $0.4 \times 10^{-6}$  ppm  $sel^{-1}$ . *Rhizobium* yang akan digunakan sebagai perlakuan ditumbuhkan pada media, dipanen pada fase stationer dengan cara disentrifugasi pada 10.000 rpm, suhu  $4^{\circ}C$  selama 10 menit, dicuci 2x dengan aquades steril. Kultur kemudian diencerkan hingga diperoleh populasi

yang diinginkan yaitu  $10^4$  dan  $10^6$  sel  $ml^{-1}$ , suspensi ini yang digunakan sebagai inokulan.

Tanah yang digunakan sebagai media tanam adalah jenis Ultisol dari Desa Haurbentes, Kecamatan Jasinga, Kabupaten Bogor yang tidak pernah ditanami kacang-kacangan. Tanah yang digunakan tergolong sangat masam dengan kejenuhan Al yang tinggi dan kandungan hara yang tergolong sangat rendah sampai sedang (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik tanah Ultisol yang digunakan dalam penelitian

Jenis analisis	Kadar	Kriteria
pH ( $H_2O$ )	4.2	Sangat masam
C Organik (%)	1.4	Rendah
N total	0.18	Rendah
C/N	7.78	Rendah
P Bray I ( $mg\ kg^{-1}\ P_2O_5$ )	1.1	Sangat rendah
P total ( $mg\ kg^{-1}\ P_2O_5$ )	136.87	Rendah
K total ( $mg\ kg^{-1}\ K_2O$ )	0.5	Sangat rendah
Fe total (ppm)	16.44	
Susunan kation		
Ca ( $cmol\ kg^{-1}$ )	1.61	Sangat rendah
Mg ( $cmol\ kg^{-1}$ )	0.75	Rendah
K ( $cmol\ kg^{-1}$ )	0.25	Sedang
Na ( $cmol\ kg^{-1}$ )	0.2	Rendah
KTK ( $cmol\ kg^{-1}$ )	15.96	Rendah
Kejenuhan basa (%)	17.61	Sangat rendah
Al-dd ( $cmol\ kg^{-1}$ )	3.43	
Kej. Al (%)	54.96	Tinggi
Tekstur :		
Pasir (%)	7.82	
Debu (%)	43.12	Liat berdebu
Liat (%)	49.06	
Populasi <i>Rhizobium</i> (CFU $ml^{-1}$ )	$5.98 \times 10^4$	
Populasi Total Mikroba (CFU $ml^{-1}$ )	$1.69 \times 10^7$	

Bahan tanah dengan ukuran 2 mm, ditimbang 4 kg pot $^{-1}$  berdasarkan berat kering mutlak, dicampur dengan kapur ( $1 \times Al-dd$ ) 2 minggu sebelum tanam. Kadar air tanah dipertahankan sekitar 80% kapasitas lapang. Benih kedelai dengan daya kecambah 95% dipilih yang ukuran dan bentuknya seragam, disterilisasi permukaan dengan alkohol 70%,  $H_2O_2$  5% dan dibilas aquades steril 5x. Setiap pot ditanam 3 benih, sebelum ditutup dengan tanah, diinokulasi *Rhizobium* dan IAA sesuai perlakuan sebanyak 1 ml biji $^{-1}$ . Satu minggu kemudian dijarangkan menjadi 2 tanaman pot $^{-1}$ . Pupuk Urea (100 ppm N) sesuai perlakuan dan pupuk dasar SP-36 (100 ppm  $P_2O_5$ ) dan KCl (100 ppm  $K_2O$ ) diberikan satu hari sebelum tanam, pupuk dicampur rata dengan tanah dalam pot. Tanaman ditumbuhkan sampai umur 6 minggu untuk pengamatan akhir vegetatif.

Beberapa variable yang diamati adalah: tinggi tanaman, bobot kering bagian atas tanaman, bobot

kering akar, jumlah dan bobot kering bintil akar, serapan hara N, P dan K tanaman.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kemampuan *Rhizobium* Menghasilkan IAA

Pemberian tryptopan meningkatkan kemampuan *Rhizobium* yang direkayasa (RD-20), *Rhizobium* induk (1004) dan *Bradyrhizobium* lokal (SN1-2) menghasilkan IAA. Pada pemberian tryptopan hingga  $100\ \mu g\ l^{-1}$ , galur RD-20 menghasilkan IAA lebih banyak dari pada 1004 dan SN1-2 dibandingkan tanpa pemberian tryptopan, peningkatan tersebut masing-masing 76.64%, 70.78% dan 75.27% (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa bila di dalam tanah ada tryptopan baik yang dihasilkan oleh mikroba lain ataupun yang berasal dari eksudat akar, maka galur RD-20 punya kemampuan menghasilkan IAA lebih banyak dari pada galur 1004 dan SN1-2.

Tabel 2. Rata-rata IAA yang dihasilkan *Rhizobium* akibat pemberian triptopan

<i>Rhizobium</i> Strain	Pemberian triptopan ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )		
	0	50	100
	ppm		
RD-20	20.508	54.882	87.785
1004	8.353	20.323	28.592
SN1-2	1.232	2.510	4.982

Lintasan biosintesis IAA selain melalui senyawa prekursor triptopan dapat juga melalui prekursor *indoleacetamide*. *Bradyrhizobium* dan *Rhizobium fredii* mensintesis IAA melalui jalan *indoleacetamide*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Prinsen *et al.* (1993) menunjukkan penambahan *indolacetamide* berlabel dan triptopan berlabel pada media tumbuh *Azospirillum*, ternyata sekitar 90% IAA yang dihasilkan berasal dari triptopan. Begitu juga penelitian Srinivasan *et al.* (1996) menunjukkan pemberian triptopan  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  pada

bakteri *Bacillus* spp dan *Rhizobium etli* (TAL 182) meningkatkan pembentukan IAA oleh bakteri.

Pada awal fase stasioner bakteri dipanen untuk digunakan sebagai inokulan dan pada fase ini pula pengukuran IAA dilakukan. Galur RD-20 menghasilkan IAA tertinggi diikuti 1004 dan SN1-2 yang masing-masing sebesar  $3.91 \times 10^{-7}$  ppm sel<sup>-1</sup>,  $5.84 \times 10^{-9}$  ppm sel<sup>-1</sup>,  $3.37 \times 10^{-10}$  ppm sel<sup>-1</sup>. Galur RD-20 lebih sedikit populasinya tapi lebih banyak menghasilkan IAA (Tabel 3).

Tabel 3. Kemampuan *Rhizobium* menghasilkan IAA

Galur	Produksi IAA (ppm)	Populasi (sel ml <sup>-1</sup> )	Produksi IAA (ppm sel <sup>-1</sup> )
RD-20	20.508	$5.25 \times 10^7$	$3.91 \times 10^{-7}$
1004	8.353	$1.43 \times 10^9$	$5.84 \times 10^{-9}$
SN1-2	1.232	$3.65 \times 10^9$	$3.37 \times 10^{-10}$

**Pertumbuhan Tanaman**

Perlakuan yang diberikan berpengaruh terhadap tinggi, bobot kering akar, bobot kering tanaman kedelai umur 6 minggu setelah tanam (Tabel 4). Tinggi tanaman pada perlakuan pemberian N, IAA dan inokulasi *Rhizobium* pada tanaman kedelai berkisar antara 62.40-

69.9 cm, lebih tinggi dibandingkan tanpa diberi perlakuan (Blanko) yaitu 53.98 cm.

Perlakuan SNI-2( $10^6$ )+IAA menghasilkan bobot kering akar tertinggi ( $1.13 \text{ g pot}^{-1}$ ) dan berbeda nyata dengan blanko ( $0.69 \text{ g pot}^{-1}$ ), sedangkan semua perlakuan lain tidak menunjukkan perbedaan.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap tinggi, bobot kering akar, dan bobot kering tanaman kedelai

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Bobot kering akar ( $\text{g pot}^{-1}$ )	Bobot kering tanaman ( $\text{g pot}^{-1}$ )
Blanko	53.98 b	0.69 bc	1.85 b
Nitrogen	69.90 a	0.83 bc	2.51 a
IAA	64.98 a	0.83 bc	2.42 a
1004 ( $10^6$ )	66.83 a	0.73 bc	2.47 a
1004 ( $10^6$ )+IAA	63.80 a	0.90 b	2.51 a
RD-20 ( $10^4$ )	68.20 a	0.63 c	2.55 a
RD-20 ( $10^6$ )	67.33 a	0.88 b	2.17 ab
SN1-2 ( $10^6$ )	66.23 a	0.87 b	2.50 a
SN1-2 ( $10^6$ )+IAA	62.40 ab	1.13 a	2.53 a
KK (%)	9.19	17.4	14.9

Keterangan : Angka dalam kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji DMRT

Bobot kering tanaman yang disebabkan pemberian N, IAA dan inokulasi *Rhizobium* berkisar antara 2.17 – 2.53 g pot<sup>-1</sup>, lebih berat dibandingkan tanaman tanpa diinokulasi (Blanko) yaitu 1.85 g pot<sup>-1</sup>. Inokulasi *Rhizobium* 1004, RD-20, dan *Bradyrhizobium* SN1-2 tidak menunjukkan perbedaan. Inokulasi *Rhizobium* 1004 (10<sup>6</sup>), RD-20 (10<sup>4</sup>), RD-20 (10<sup>6</sup>), SNI-2 (10<sup>6</sup>), dan IAA 0.4 ppm meningkatkan bobot kering tanaman kedelai berturut-turut 33.5%, 37.8, 17.3%, 35.1%, dan 30.8%

Bobot kering tanaman pada perlakuan tanpa inokulasi (Blanko) lebih rendah dari pada yang mendapat pupuk 100 ppm N. Bobot kering tanaman dan bobot kering akar karena pemberian IAA tidak berbeda dengan pemberian 100 ppm N, hal ini menunjukkan pemberian IAA dapat meningkatkan kemampuan akar dalam menyerap hara sehingga meningkatkan bobot

tanaman yang tidak berbeda dengan pemberian 100 ppm N.

#### Pembentukan Bintil Akar

Jumlah bintil akar dan bobot kering bintil akar kedelai dipengaruhi oleh perlakuan yang diberikan. Inokulasi *Rhizobium* dan IAA mampu membentuk bintil akar, sedangkan perlakuan pupuk N dan blanko tidak menghasilkan bintil akar (Tabel 5).

Diantara tanaman yang diinokulasi *Bradyrhizobium*, SN1-2 (10<sup>6</sup>) menghasilkan bintil akar (20.75 pot<sup>-1</sup>) yang lebih banyak dibandingkan 1004 (10<sup>6</sup>) (10.75 pot<sup>-1</sup>), RD-20 (10<sup>4</sup>) (3.50 pot<sup>-1</sup>) dan RD-20 (10<sup>6</sup>) (8.25 pot<sup>-1</sup>). Penambahan IAA pada kedua jenis inokulan tidak berpengaruh secara nyata terhadap jumlah bintil akar yang terbentuk.

Tabel 5. Pengaruh perlakuan terhadap jumlah bintil akar dan bobot kering bintil tanaman kedelai

Perlakuan	Jumlah bintil akar (pot <sup>-1</sup> )	Bobot bintil akar (mg/pot)
Blanko	0.00 e	0.00 f
Nitrogen	0.00 e	0.00 f
IAA	8.00 c	2.05 de
1004 (10 <sup>6</sup> )	10.75 c	3.23 cde
1004 (10 <sup>6</sup> )+IAA	12.50 bc	5.03 c
RD-20 (10 <sup>4</sup> )	3.50 d	2.00 e
RD-20 (10 <sup>6</sup> )	8.25 c	3.93 cd
SN1-2 (10 <sup>6</sup> )	20.75 a	8.98 b
SN1-2 (10 <sup>6</sup> )+IAA	18.25 ab	12.65 a
KK (%)	22.4	15.6

Keterangan : Angka dalam kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji DMRT

Inokulasi SN1-2 (10<sup>6</sup>) menghasilkan jumlah dan bobot bintil akar yang lebih tinggi dibandingkan *Rhizobium* lainnya. Inokulasi SN1-2 (10<sup>6</sup>) (8.98 mg pot<sup>-1</sup>) menghasilkan bobot bintil akar yang lebih tinggi dibandingkan 1004 (10<sup>6</sup>) (3.23 mg pot<sup>-1</sup>), RD-20 (10<sup>4</sup>) (2.00 mg pot<sup>-1</sup>) dan RD-20 (10<sup>6</sup>) (3.93 mg pot<sup>-1</sup>).

Pemberian IAA menghasilkan bobot kering bintil akar yang tidak berbeda dengan inokulasi *Rhizobium* 1004 dan RD-20, namun penambahan IAA pada inokulasi *Rhizobium* 1004 dan SN1-2 berpengaruh nyata terhadap jumlah bobot kering bintil akar pada tanaman kedelai. Pemberian IAA pada tanah yang diinokulasi SN1-2 (10<sup>6</sup>) dan 1004 (10<sup>6</sup>) meningkatkan bobot bintil akar kedelai berturut-turut 40.9% dan 55.7% dibandingkan tanpa diberi IAA.

Hasil penelitian Yahalom *et al.* (1990) juga menunjukkan inokulasi *Rhizobium* bersama dengan rhizobia lain yang menghasilkan IAA dapat mendorong pembentukan sel epidermis dalam rambut akar dan meningkatkan jumlah lokasi yang potensial untuk

diinfeksi oleh *Rhizobium*, sehingga meningkatkan kemampuan dan keefektifan *Rhizobium* membentuk bintil akar, menambat N<sub>2</sub> dan memperbaiki pertumbuhan tanaman kacang-kacangan, seperti yang telah dilaporkan oleh Chebotar *et al.* (2001) yang menginokulasi *B. japonicum* dengan *P. fluorescens* 2137, dan Dashty *et al.* (1998) dan Molla *et al.* (2001) yang menginokulasi *B. japonicum* dan *Azospirillum*.

Pemberian IAA dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman terutama perakaran tanaman dan pembentukan bintil akar sehingga bobot kering tanaman juga meningkat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Hutabarat (1997) yang juga menunjukkan peningkatan jumlah dan panjang akar semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi IAA sampai 4.5 ppm pada 4 jenis kultivar pisang. Hasil-hasil penelitian lain menunjukkan zat pengatur tumbuh seperti IAA yang dihasilkan oleh rhizobia dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman seperti pemanjangan akar (Arshad dan Frankenberger, 1993;

Kumar dan Narula, 1999) dan perkembangan akar lateral, sehingga bermanfaat dalam memperbaiki serapan hara. Selain itu juga dapat mempengaruhi pembentukan bintil akar (Subba Rao, 1994).

Inokulasi *Rhizobium* SNI-2 atau 1004 menghasilkan jumlah dan bobot bintil akar yang lebih tinggi dibandingkan RD-20. Hal ini diperkirakan berhubungan dengan kemampuan suatu bakteri untuk beradaptasi dengan faktor lingkungannya. Faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap berkembangnya bakteri yang diinokulasikan serta pertumbuhan tanaman (Keyser dan Li, 1992).

Inokulasi *Rhizobium* ke dalam tanah akan dapat membentuk bintil akar bila *Rhizobium* tersebut mampu bersaing dengan *Rhizobium* indigenous tanah dan mampu bersimbiosis dengan tanaman inangnya. *Rhizobium* rekayasa genetika diduga kalah bersaing dengan *Rhizobium* indigenous pada tanah percobaan yang mengandung *Rhizobium*  $5.8 \times 10^4$  CFU ml<sup>-1</sup> (Tabel 1). Selain itu galur 1004 yang merupakan induk dari galur RD-20 diisolasi dari tanah masam subtropika, sedangkan galur SNI-2 diisolasi dari tanah masam tropika. Penelitian Nunung (1986) dan Sagiman (2001) menunjukkan isolat *Rhizobium* asli lebih mudah beradaptasi dengan lingkungan setempat yang berpengaruh dalam pembentukan bintil akar tanaman kedelai. Tanah yang sangat masam seperti pada tanah percobaan dapat menyebabkan rendahnya infektifitas bakteri bintil akar serta menekan pembentukan bintil pada tanaman. Kemasaman tanah sangat mempengaruhi infektifitas dan efektifitas *Rhizobium*, pengaruhnya nyata pada pembintilan dan fiksasi N<sub>2</sub> udara. Pada tanah masam rhizobia dan akar tanaman kacang-kacangan dapat dirugikan oleh unsur-unsur beracun seperti Al<sup>3+</sup>,

Mn<sup>2+</sup> dan H<sup>+</sup>, sama seperti juga dengan rendahnya kadar Ca<sup>++</sup> dan H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> tersedia (Havlin *et al.*, 1999). Kemasaman yang tinggi merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan, kolonisasi dan daya hidup bakteri bintil akar pada kondisi tanpa ataupun dengan tanaman inang. Penelitian Ciptadi (1992) juga menunjukkan pH yang rendah menekan kerapatan populasi *Rhizobium*.

Dari hasil penelitian terlihat pemberian IAA saja tanpa inokulan mampu membentuk bintil akar pada tanaman kedelai, diduga bintil akar tersebut dibentuk oleh *Rhizobium* indigenous yang mampu bersimbiosis dengan tanaman inang karena adanya IAA. Zat pengatur tumbuh yang dihasilkan oleh rhizobia dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman dengan merubah status secara fisiologis, dan morfologis dari akar yang diinokulasi (Noel *et al.*, 1996; Yanni, 1997; Biswas, 2000). Walaupun pemberian IAA pada galur 1004 dan SNI-2 tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah bintil tapi pemberian IAA cenderung meningkatkan bobot kering bintil akar.

*Serapan Hara Tanaman*

Inokulasi *Rhizobium* dan pemberian IAA mampu meningkatkan bobot kering tanaman kedelai dan tidak berbeda dengan pemberian 100 ppm N, hal ini menunjukkan pemberian *Rhizobium* maupun IAA dapat menggantikan atau mengurangi penggunaan pupuk N dengan cara pembentukan bintil akar yang dapat mengikat N dari udara maupun karena perbaikan pertumbuhan akar tanaman (Tabel 4) yang dapat meningkatkan serapan hara lainnya seperti N dan P (Tabel 6). Pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap serapan N, P tanaman kedelai disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh perlakuan terhadap serapan hara tanaman umur 6 MST

Perlakuan	Serapan Hara (mg pot <sup>-1</sup> )	
	N	P
Blanko	68.3 e	4.2 d
Nitrogen	95.0 a	7.3 a
IAA	88.0 b	5.2 cd
1004 (10 <sup>6</sup> )	78.9 d	5.6 bcd
1004 (10 <sup>6</sup> )+IAA	79.4 cd	7.0 ab
RD-20 (10 <sup>4</sup> )	77.0 d	5.7 abcd
RD-20 (10 <sup>6</sup> )	85.3 bc	6.0 abc
SNI-2 (10 <sup>6</sup> )	95.0 a	5.9 abc
SNI-2 (10 <sup>6</sup> )+IAA	84.3 bc	4.6 cd
KK (%)	3.7	13.3

Keterangan : Angka dalam kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji DMRT

Pada Tabel 6 menunjukkan serapan N tertinggi terdapat pada pemberian N dan inokulasi SN1-2, dibandingkan kontrol terjadi peningkatan 39.09%. Inokulasi RD-20 meningkatkan serapan N sebesar 12.7%. Pemberian 100 ppm N dan inokulasi 1004 ( $10^6$ )+IAA memberikan serapan hara P tanaman kedelai yang lebih baik, dibandingkan dengan Blanko terjadi peningkatan serapan P sebesar 73.81% dan 66.67%. Inokulasi RD-20 meningkatkan serapan P pada kedelai sebesar 35.71%.

Dalam penelitian ini serapan N pada perlakuan pemberian 100 ppm N dan inokulasi SN1-2 lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Tingginya serapan N pada pemberian 100 ppm N disebabkan rendahnya kandungan N dalam tanah (Tabel 1), sehingga pemberian N 100 ppm pada tanaman kedelai memberikan pertumbuhan yang baik. Penelitian Sagiman (2001) menunjukkan tanaman kedelai yang diinokulasi SN1-2 pada tanah gambut, serapan N tanaman meningkat dan efektifitas SN1-2 terlihat pula pada bobot kering dan produksi biji yang lebih tinggi dari pada inokulan lainnya.

Perlakuan yang diberikan dapat mempengaruhi serapan P tanaman, walaupun serapan P pada tanaman kedelai pada semua perlakuan cenderung masih rendah. Rendahnya serapan P disebabkan tanah yang masam dengan P tersedia tanah yang rendah dan tingginya kejenuhan Al (54.96%) (Tabel 1), walaupun sudah diberi tambahan pupuk P sebesar 100 ppm P. Pada tanah-tanah masam, kandungan Al dan Fe yang tinggi maupun permukaan mineral yang mempunyai muatan positif dapat berikatan dengan  $H_2PO_4$  dalam bentuk ikatan yang stabil, sehingga P menjadi tidak tersedia untuk tanaman (Havlin *et al.*, 1999).

Fosfat merupakan unsur yang sangat diperlukan oleh tanaman terutama sebagai sumber energi sel (ATP) yang diperlukan dalam metabolisme sel seperti pertumbuhan akar (Havlin *et al.*, 1999). Menurut Subba Rao (1994), unsur P juga dapat meningkatkan jumlah bintil pada perakaran tanaman sehingga serapan N pada tanaman juga akan meningkat. Nitrogen merupakan unsur yang penting untuk pertumbuhan tanaman seperti untuk pembelahan dan pembesaran sel (Gardner *et al.*, 1985).

#### KESIMPULAN

1. Inokulasi *Rhizobium* dan IAA mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman, pembentukan bintil akar dan serapan hara tanaman kedelai.
2. Inokulasi *Rhizobium* 1004 ( $10^6$ ), RD-20 ( $10^4$ ), RD-20 ( $10^6$ ), SNI-2 ( $10^6$ ), dan IAA 0.4 ppm meningkatkan bobot kering tanaman kedelai berturut-turut 33.5%, 37.8, 17.3%, 35.1%, dan 30.8%.

3. Pemberian IAA pada tanah yang diinokulasi *Rhizobium* SN1-2 ( $10^6$ ) dan 1004 ( $10^6$ ) meningkatkan bobot bintil akar kedelai berturut-turut 40.9% dan 55.7% dibandingkan tanpa diberi IAA.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh European Union melalui Proyek Kerjasama Songlines yang diperoleh oleh penulis kedua (Dr Iswandi Anas). Kepada partner kerjasama, Dr Roberto Defez dari IIGB, Naples, Itali diucapkan terima kasih atas bantuannya dalam merencanakan RD-20.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Antoun, H., C. J. Beauchamp, N. Goussard, R. Chabot, R. Lalonde. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant and Soil*. 204 :57-67.
- Arshad, M. W. T. Frankenberger. 1993. Microbial production of plant growth regulator. *In: Metting, F. B.* 1993. *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel-Hongkong. p:307-347.
- Biswas, J. C., J. K. Ladha, F. B. Dazzo. 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:1644-1650.
- Chebotar, V. K., A. A. Constancio, S. Akao. 2001. Production of growth-promoting substance and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. *Biol. Fertil. Soils*. 34:427-432.
- Ciptadi, G. 1992. Infektifitas dan efektifitas beberapa galur *Rhizobium* sp pada *Calopogonium caeruleum* Hemsl. (Disertasi). Program Pasca Sarjana IPB.
- Dashty, N., F. Zhang, R. Hynes, D. L. Smith. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean (*Glycine max* L. Merr.) under short season condition. *Plant Soil*. 200:205-213.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce, R. L. Mitchel. 1985. *Physiology of Crop Plants*. Iowa State University Press. Ames.

- Havlin, J. L., J. D. Beaton, S. L. Tisdale, W. L. Nelson. 1999. Soil Fertility and Fertilizer. Sixth Ed. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. 499 pp.
- Hoflich, G., W. Wiche, C. H. Bucholz. 1995. Rhizosphere colonization of different crops with growth promoting *Pseudomonas* and *Rhizobium* bacteria. *Mirobiol. Res.* 150:139-147.
- Hutabarat, S. S. 1997. Respon beberapa kultivar pisang (Genom BB dan ABB) terhadap BAP dan IAA dalam mikropopagasi. (Skripsi). Jurusan Biologi. FMIPA. IPB. Bogor.
- Keyser, H. H., F. Li. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. p: 119-136. *In: Ladha, JK., T. George and BB. Bohlool.* 1992. Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture. Kluwer Academic Publishers in cooperation with the IRRI. 209 pp.
- Kumar, V., N. Narula. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutans. *Biol. Fertil. Soils.* 28:301-305.
- Lebuhn, M., A. Hartman. 1993. Method for the determination of indole-3 acetic acid and related compounds of L-tryptophan catabolism in soils. *J. Chromatorgr.* 629: 255-266. *In: Gunarto, L.* 1996. Capability of *Azospirillum* to produce indole-acetic acid, to fix N<sub>2</sub> in association with rice plant and using RAPD to fingerprint indigenous *Azospirillum*. Laporan intern. Balitbiogen, Bogor.
- Molla, A. H., Z. H. Shamsuddin, M. S. Halimi, M. Morziah, A. B. Puteh. 2001. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean coinoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. *Soil Biol. Bioch.* 33:457-463.
- Noel, T. C., C. Sheng, C. K. Yost, R. P. Pharis, M. F. Hynes. 1996. *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth-promoting rhizobacterium : direct growth promotion of canola and lettuce. *Can. J. Microbiol.* 42:279-283.
- Nunung, Z. 1986. Isolasi dan seleksi galur unggul bakteri bintil akar kedelai. Masalah Khusus Fakultas MIPA. IPB. Bogor.
- Peoples, M. B., E. T. Craswell. 1992. Biological nitrogen fixation: Investments, expectations and actual contribution to agriculture. *In: Ladha, J. K., T. George and B. B. Bohlool.* 1992. Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture. Kluwer Academic Publishers in cooperation with the IRRI. 209 pp.
- Peoples, M. B., D. F. Herridge, J. K. Ladha. 1995. Biological nitrogen fixation : an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. *Plant and Soil.* 174:3-28.
- Prinsen, E., Costacura, A., Michiels, K., Vanderleyden, J., Van Onckelen, H. 1993. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6:609-615. *In: Patten, C.L. and B.R. Glick.* 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3 acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42:207-220.
- Sagiman, S. 2001. Peningkatan Produksi Kedelai di Tanah Gambut melalui Inokulasi *Bradyrhizobim japonicum* Asal Gambut dan Pemanfaatan Bahan Amelioran (Lumpur dan Kapur). (Disertasi). Pasca Sarjana IPB.
- Srinivasan, M., D.J. Peterson, F.B. Holl. 1996. Influence of indoleacetic-acid-producing *Bacillus* isolates on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gnotobiotic conditions. *Can. J. Microbiol.* 42:1006-1014.
- Subba Rao, N. S. 1994. Soil Microorganism and Plant Growth. Oxford and IBH Publishing Co. London. 353 pp.
- Yanni, Y. G., R. Y. Rizk, V. Corich, A. Squartini, K. Ninke, S. Philip-Hollingsworth, G. Organbidae, F. de Bruijn, J. Stoltzfus, D. Buckley, T. M. Schmidt, P. F. Mateos, J. K. Ladha, F. B. Dazzo. 1997. Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and rice root and assessment of its potential to promote rice growth. *Plant and Soil.* 194:99-114.
- Yahalom, E., Y. Okon, A. Dovrat. 1990. Possible mode of action of *Azospirillum brasiliense* strain Cd on the root morphology and nodule formation in burr medic (*Medicago polymorpha*). *Can. J. Microbiol.* 36:10-14.