

RESPON KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) TERHADAP *Bradyrhizobium japonicum* Strain Hup⁺ PADA TANAH MASAM

THE EFFECT OF *Bradyrhizobium japonicum* Strain Hup⁺ ON THE GROWTH OF SOYBEAN (*Glycine max* L. Merr) IN ACID SOIL

M. Umar Harun dan M. Ammar

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, UNSRI, Palembang

ABSTRACT

Objective of the study was to evaluate several soybean cultivars that inoculated by *Bradyrhizobium japonicum* strain Hup⁺. The experiment was conducted in Bogor Foodcrops Biotechnology Research Institute, from October 1999 to January 2000. Results showed that symbiosis between soybean and *B. japonicum* isolat RIF 6 given the best growth and highest yield of soybean compare to other combinations. Performance of the growth and yield of Selamet cultivar was better than Sumbing, Singgalang, Tidar, Wilis or Kipas Putih. Symbiosis and nodulation ability of *B. japonicum* RIF 6 was better than isolat L10A, L1F, L7A2 or USDA 142.

Keywords : Soybean, *Bradyrhizobium japonicum*, Strain Hup⁺, Acidic Soil.

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk menguji respon berbagai kultivar kedelai determinat yang diinokulasi dengan berbagai isolat *B. japonicum* strain Hup⁺. Penelitian telah dilaksanakan di Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor dari bulan Oktober 1999 sampai Januari 2000. Hasilnya menunjukkan bahwa simbiosis antara kedelai dengan *B. japonicum* isolat RIF 6 memberikan pertumbuhan dan hasil yang paling tinggi dibandingkan dengan simbiosis antara kultivar dengan isolat *B. japonicum* lainnya pada tanah masam (ultisol). Secara mandiri, kultivar Selamet lebih baik pertumbuhan dan hasilnya dibandingkan Sumbing, Singgalang, Tidar, Wilis dan Kipas Putih. Kemampuan nodulasi dan simbiosis *B. japonicum* isolat RIF 6 lebih baik dibandingkan isolat L10A, L1F, L7A2, dan USDA 142.

Kata kunci : Kedelai, *Bradyrhizobium japonicum*, Strain Hup⁺, Tanah Masam

PENDAHULUAN

Pada katalisis reduksi N₂ oleh nitro- enase menjadi NH₃ akan menghasilkan H₂. Gas hidrogen yang diproduksi ini jika tidak diregu-asi di dalam bakteroid maka aliran elek- ron pada nitrogenase akan menurun sampai 60% sehingga sintesis ATP sangat sedikit (Schubert dan Evans, 1976). Fakta ini terjadi pada *Bradyrhizobium japonicum* yang tidak memi-lik sistem regulasi hidrogen saat ni- rogenasenya operasional (Hup⁺). Hal yang sangat kontras terjadi pada bakteroid dengan *B. japoni-cum* yang mampu meregulasi gas hidrogen (Hup⁺) sehingga konsentrasi H₂

manjadi inhi-bitor nitrogenase (Delauney dan Verma, 1996).

Pada bakteroid *B. japonicum* strain Hup⁺, tidak aktifnya nitrogenase akibat O₂ dan H₂ dapat ditanggulangi oleh sistem hidrogenase (Drevon *et al.*, 1982). Di samping itu, H₂ akan diubah menjadi 2H⁺ sehingga melalui fos-orilasi oksidatif akan dihasilkan ATP yang sangat berguna untuk fiksasi N₂ (Albrecht *et al.*, 1979). Karena itu, kedelai yang bersim-iosis dengan *B. japonicum* strain Hup⁺ memi-iki serapan N, bobot kering tanaman, efisiensi fiksasi N₂ relatif, dan kandungan protein bakteroid lebih tinggi dibandingkan dengan

strain Hup- (Schubert *et al.*, 1976; Albrecht *et al.*, 1979), dan begitu pula hasilnya lebih banyak (Hanus *et al.*, 1981; Eisbrenner dan Evans, 1983).

Berdasarkan survey oleh Uratsu *et al.* (1982) pada seratus lokasi sentra produksi kedelai yang berbeda di USA ternyata ditemukan *B. japonicum* strain Hup- sekitar 75%. Fenomena ini dapat dijadikan rujukan bahwa populasi *B. japonicum* strain Hup⁺ yang sangat sedikit, terdistribusi secara luas, dan bahkan pada areal tertentu tidak terdapat sama sekali (Keyser *et al.*, 1984). Karena itu, penambahan populasi strain Hup⁺ sangat diperlukan untuk meningkatkan hasil kedelai.

Berdasarkan seleksi terhadap 28 isolat *B. japonicum* yang telah dianggap unggul dan adaptif yang terdapat di Balitbio Bogor ternyata isolat L10A, L1F, RIF6 dan L7A2 tergolong strain Hup⁺ (Harun dan Ammar, 2000). Karena itu keempat isolat ini diketahui responnya terhadap berbagai kultivar kedelai yang ditanam pada tanah masam.

METODE PENELITIAN

Benih kedelai determinat yang berasal dari kultivar Selamat, Sumbing, Wilis, Singgalang, Kipas Putih dan Tidar direndam secara terpisah dengan etanol 95% (3 menit), lalu dimasukkan ke dalam larutan HgCl₂ 0,1% (5 menit), kemudian dibilas empat kali dengan air steril. Selanjutnya, benih kedelai dikembangkan pada cawan petri yang telah dilapisi kapas basah steril. Kecambah-kecambah ke-

delai diinokulasi dengan inokulan cair (Bergensen) *B. japonicum* asal isolat L10A, L1F1, RIF6, L7A2 dan USDA 142 yang populasi selnya telah diperbanyak menjadi 10⁹ sel per mL yang diatur sedemikian rupa secara faktorial.

Penambahan pupuk nitrogen dan bahan organik tidak dilakukan pada media tanam. Pupuk SP-36 dan KCl diberikan dengan dosis masing-masing 100 kg.ha⁻¹ dan 75 kg.ha⁻¹. Pupuk P dan K diberikan dengan cara mencampur secara homogen dengan tanahnya pada saat sebelum tanam kecambah kedelai.

Tiga kecambah kedelai ditumbuhkan pada tanah ultisol non-steril (pH 5,1) dalam ember plastik (10 L) sampai 7 HST, dan setelah itu dipertahankan hanya dua tanaman yang tumbuh baik. Ember plastik yang telah ditanami ditempatkan di dalam rumah kaca dan disusun secara acak. Jumlah pot yang disusun dalam 3 ulangan adalah dua ember untuk setiap satuan percobaan. Satu tanaman untuk penentuan kemampuan nodulasi, aktivitas hidrogenase (modifikasi tritium-H₂ yang dilepas nodul), aktivitas nitrogenase (ARA), dan serapan N, sedang satu tanaman lainnya untuk penentuan komponen hasil tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum terjadi interaksi antara asal isolat dengan berbagai kultivar kedelai untuk aktivitas nitrogenase, pelepasan hidrogen oleh nodul, dan serapan N. Khusus untuk jumlah biji dan bobot biji dipengaruhi secara nyata oleh kultivar bukan oleh isolat *B. japonicum*.

Tabel 1. Aktivitas nitrogenase berbagai macam kultivar kedelai yang bersimbiosis dengan berbagai macam isolat *B. japonicum*

Isolat Kedelai	Aktivitas nitrogenase (μ mol. g ⁻¹ .jam ⁻¹)				
	USDA 142	RIF 6	LIF1	L7A2	L10A
Sumbing	5.06 a	8.52 c	9.73 e	6.05 ab	11.76 g
Singgalang	11.74 g	8.50 c	12.13 g	7.58 bc	6.85 b
Tidar	9.50 de	4.84 a	7.52 bc	7.16 b	14.09 h

Wilis	8.51	c	8.49	c	7.10	b	7.11	b	7.00	b
Kipas Putih	9.48	de	10.56	f	8.54	d	4.72	a	13.36	h
Selamet	9.75	ef	13.71	h	10.05	ef	9.81	c	8.58	cd

BNT interaksi 0.05 = 1.06

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata.

Aktivitas nitrogenase yang tertinggi terjadi pada simbiosis antara kultivar Tidar dengan isolat L10A, dan terendah terjadi antara kultivar Kipas Putih dengan L7A2 (Tabel 1). Aktivitas nitrogenase yang berlainan ini diduga disebabkan adanya perbedaan aktivitas *gen nif* dari masing-masing bakteroid nodul tanaman yang diinokulasi dari isolat yang berbeda sehingga jumlah nitrogenase yang terakumulasi menjadi tidak sama. Aktivitas nitrogenase yang berlainan ini selanjutnya akan memacu terjadi perbedaan fiksasi N₂.

Pelepasan hidrogen dari nodul merupakan gambaran tentang kemampuan meregulasi H₂

menjadi 2H oleh hidrogenase, dan semakin sedikit H₂ yang dilepas dari menunjukkan semakin banyak sintesis ATP pada bakteroid. Pelepasan H₂ relatif kecil dari nodul kultivar Tidar yang bersimbiosis dengan L10A (Tabel 2). Kondisi ini diduga akibat aktivitas *gen Hup* pada bakteroid kultivar Tidar tergolong tinggi sehingga regulasi H₂ menjadi 2H berlangsung maksimal yang selanjutnya akan menurunkan laju pelepasan gas hidrogen dari nodul. Walaupun demikian, pelepasan H₂ oleh nodul kultivar Kipas Putih yang bersimbiosis dengan L1F1 tergolong tertinggi diduga akibat kurang berfungsinya *gen Hup*.

Tabel 2. Pelepasan hidrogen berbagai macam kultivar kedelai yang bersimbiosis dengan berbagai macam isolat *B. japonicum*

Isolat Kedelai	Pelepasan Hidrogen (μ mol. g ⁻¹ .jam ⁻¹)									
	USDA 142		RIF 6		LIF1		L7A2		L10A	
Sumbing	16.95	f	15.81	f	11.58	de	10.85	c	6.44	ab
Singgalang	7.57	abc	14.38	ef	10.53	cd	9.94	cd	15.94	f
Tidar	19.12	g	17.18	fg	12.33	de	13.24	de	5.91	a
Wilis	15.10	f	9.93	b	17.15	f	12.30	de	8.21	ab
Kipas Putih	15.03	f	14.42	ef	19.96	g	17.25	fg	8.24	ab
Selamet	18.35	fg	8.69	bc	14.65	ef	14.61	f	9.68	bcd

BNT interaksi 0.05 = 2.70

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata.

Serapan N tertinggi terjadi pada kultivar Selamet yang bersimbiosis dengan *B. japonicum* asal isolat RIF6, dan terkecil untuk simbiosis antara Kipas Putih dengan isolat L7A2 (Tabel 3). Serapan N tanaman yang tinggi diduga akibat besarnya laju fiksasi N₂ dan laju fotosintesis tanaman (Keyser dan Li, 1992). Perbedaan serapan N diakibatkan adanya kemampuan simbiosis, fiksasi N dan aktivitas hidrogenase dari masing-masing isolat dengan

kultivar (Tabel 1 dan Tabel 2). Fenomena yang diperoleh ini hampir sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Albrecht *et al.*, (1979).

Polong yang terbentuk pada tanaman akan diisi oleh fotosintat yang selanjutnya akan terbentuk biji, kemudian jumlah biji yang ada sangat ditentukan oleh jumlah polong dan ukuran polongnya. Karena itu, dengan semakin banyaknya polong, maka jumlah biji yang ada

akan semakin banyak. Jumlah biji per tanaman kedelai menunjukkan perbedaan yang nyata dari setiap kultivar (Tabel 4).

Perbedaan kultivar kedelai yang bersimbiosis dengan *B. japonicum* strain Hup⁺ yang berbeda akan menghasilkan bobot biji per tanaman yang berlainan secara nyata (Tabel

Tabel 3. Serapan Nitrogen Berbagai Macam Kultivar Kedelai Yang Bersimbiosis Dengan Berbagai Macam Isolat *B. japonicum*

Isolat Kedelai	(mg.tanaman ⁻¹)				
	USDA 142	RIF 6	LIF1	L7A2	L10A
Sumbing	246.67 c	296.67 e	316.67 ef	260.00 cd	356.67 gh
Singgalang	316.67 ef	310.00 ef	330.00 fg	280.00 cd	246.67 c
Tidar	310.00 ef	203.33 b	296.67 e	200.00 d	406.67 I
Wilis	314.29 ef	290.80 de	295.21 de	180.17 ab	160.00 a
Kipas Putih	363.33 gh	416.67 i	363.30 gh	150.00 a	406.67 i
Selamet	370.00 j	426.67 k	316.67 hg	336.67 hij	303.33 fg

BNT interaksi 0.05 = 32.32

Agka-angka sekolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Tabel 4. Jumlah Biji Dan Bobot Biji Per Tanaman Dari Berbagai Macam Kultivar Kedelai Yang Bersimbiosis Dengan Berbagai Isolat *B. Japonicum*

Kultivar Kedelai	Jumlah Biji (biji.tanaman ⁻¹)	Bobot Biji (g.tanaman ⁻¹)
Sumbing	60.9 b	3.19 b
Singgalang	62.1 b	3.52 b
Tidar	79.1 c	3.57 b
Wilis	61.4 e	3.45 b
Kipas Putih	48.6 a	2.14 a
Selamet	95.7 d	4.25 c
BNT 0.05	10.55	0.66

Agka-angka sekolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata.

dipengaruhinya. Dengan semakin banyaknya jumlah polong dan biji per tanaman maka bobot bijinya akan semakin besar

Berdasarkan fakta dari berbagai variabel respon simbiosis ternyata terdapat konsistensi hubungan fiksasi N, pelepasan hidrogen, dan

4). Macam isolat *B. japonicum* strain Hup⁺ tidak berpengaruh nyata terhadap bobot biji kedelai. Kenyataan ini diduga akibat terja-dinya hubungan antara jumlah polong dengan jumlah biji per tanaman sehingga bobot biji per tanaman akan.

Kultivar Kedelai Yang Bersimbiosis Dengan

serapan N untuk kultivar Selamet yang diinokulasi dengan *B. japonicum* strain Hup⁺ asal isolat RIF6. Kemudian, jumlah biji dan bobot biji yang dihasilkannya lebih tinggi dibandingkan kultivar lainnya.

KESIMPULAN

Simbiosis antara kedelai kultivar Selamat dengan *B. japonicum* strain Hup⁺ asal isolat RIF6 menunjukkan penampilan pertumbuhan dan hasil yang tertinggi dibandingkan dengan simbiosis kultivar dan isolat yang lain pada kondisi tanah masam.

SANWACANA

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DPPM-DIKTI yang telah membiayai penelitian ini dengan kontrak No:6/P21PD/DPPM/IV/1999 tahun anggaran 1999/2000.

DAFTAR PUSTAKA

- Albrrecht, S.L., R.J. Maier., F.J. Hanus., S.A. Russell, D.W. Emerich, and H.J. Evans. 1970. Hydrogenase in *Rhizobium japonicum* increase nitrogen fixation by nodulated soybean. *Science*. 203:1255-1257.
- Delauney, A.J and D.P.S. Verma. 1996. Improvement of soybean for nitrogen fixation: Molecular genetics of nodulation. In. Verma, D.P.S. and R.C. Shoemaker (eds). *Soybean: Genetic, Molecular Biology, and Biotechnology*. CAB International Wallingford, Oxon. Pp.219-247.
- Drevon, J.J., I. Frazier., S.A. Russell., and H.J. Evans. 1982. Respiratory and nitrogenase activities of soybean nodules formed by hydrogen uptake negative (Hup⁻) mutant and revertant strains of *Rhizobium japonicum* characterized by protein patterns. *Plant Physiol*. 70:1341-1346.
- Eisbrenner, G. and H.j. Evans. 1983. Aspects of hydrogen metabolism in nitrogen fixing legumes and other plant micro-associations. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 334:105-136.
- Hanus.F.J., S.L. Albrecht., R.M. Zablutowicz., D.W. Emerich., S.A. Russell., and H.J. Evans. 1981. Yield and nitrogen content of soybean seed as influenced by *R. japonicum* inoculants possessing the hydrogenase characteristics. *Agron. J*.73:368-372.
- Harun, M.U. dan M. Ammar. 2000. Identifikasi aktivitas senyawa hidro-genase *Bradyrhizobium japonicum* dan efektivitas simbiotiknya terhadap berbagai kultivar kedelai (*Glycine max* (L.) Merr). Lembaga Penelitian. Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Keyser, H.H, and F. Li. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. In J.K. Ladha, T. George, and B.B. Bohlool (eds.). *Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Pp 119-136.
- Keyser, H.H., D.F. Weber, and S.L. Uratsu. 1984. *Rhizobium japonicum* serogroup and hydrogenase phenotype distribution in 12 state. *App. Environ. Microbial*.47:613-615.
- Schubert, K.R, and H.J. Evans. 1976. Hydrogen evolution: a major factor affecting the efficiency of nitrogen-fixation in nodulate symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 73:1207-1211.
- Schubert, K.R, J.A. Engelke., S.A. Russell, and H.J.. Evans. 1977. Hydrogen reaction of nodulated leguminous plant: Effect of rhizobial strain and plant age. *Plant Physiol*.61:398-401.

Uratsu, S.I., H.H., Keyser, D.F. Weber, and S.T. Lim. 1982. Hydrogen uptake (Hup) activity of *Bradyrhizobium japonicum* from major U.S. Soybean production areas. *Crops Sci.* 22:600-602.