

Formulasi Inokulum Mikroba: MA, BPF dan Rhizobium Asal Lahan Bekas Tambang Batubara untuk Bibit *Acacia Crassicarpa* Cunn. Ex-Benth

Formulation of microbes inoculum: AMF, PSB and Rhizobium isolated of ex-coal mining site for *Acacia crassicarpa* Cunn. Ex-benth seedlings

ENNY WIDIYATI

Pusat Litbang Hutan dan Konservasi Alam, Bogor 16118

Diterima: 03 Januari 2007. Disetujui: 04 April 2007.

ABSTRACT

The shoddier succeed land revegetation particularly caused by least adaptability of the seedlings planted on this site. To encourage their growth and survival rate it can be achieved by means do inoculation with the compatible functional microbes such as rhizobium, P-solubilizing bacteria (PSB) and/or arbuscular-mycorrhiza fungus (AMF). This reserach is aimed to formulate the most compatible inoculant to support the growth of *A. crassicarpa* seedlings. Compatibility study is carried out in RCB design with 3 replications, each contain 5 seedlings. Height and biomass are accessed to measure the growth responses of the seedlings. The result showed that the best reponse is given by consortia that consist of the three kinds of these microbes. This increase the shoot biomass (137%) compare to the control. The consortia also improved N 164%, P 335% and K 167% in the plant tissues. While pure AMF improved absorption of N plants 80%, P 383% and K 51% compare to the control. It is suggested that to prepare the *A. crassicarpa* seedlings is better inoculated by consortium of microbes or AMF as a sole inoculant.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: AMF, PSB, Rhizobium, revegetation

PENDAHULUAN

Jenis-jenis tanaman yang banyak dipilih sebagai tanaman revegetasi adalah kelompok akasia. Hal ini karena sebagian besar spesies akasia memiliki banyak keunggulan, yaitu cepat tumbuh, mampu menambat nitrogen, toleran pada kondisi yang buruk, dapat mengkonservasi tanah dan tidak ditemukan bahan beracun pada daun dan eksudat akar (Pinyopusarerk, 1998). Salah satu jenis akasia yang memiliki adaptabilitas dan pertumbuhan yang baik pada kondisi lahan kritis adalah *A. crassicarpa* (Turnbull *et. al*, 1998 *dalam* Pinyopusarerk, 1998). *A. crassicarpa* menunjukkan pertumbuhan yang sangat cepat dan mampu tumbuh pada kondisi lahan yang sangat masam (pH 3,5) serta mempunyai ketahanan terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik (Thompson, 1994 *dalam* Pinyopusarerk, 1998).

Namun demikian, keberhasilan revegetasi lahan sampai saat ini masih belum mencapai tingkat yang memuaskan. Hal ini terutama disebabkan oleh rendahnya kemampuan bibit untuk beradaptasi (*survival rate*) di lapangan. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah menginokulasi bibit dengan mikroba yang membantu pertumbuhan tanaman seperti rhizobia, bakteri pelarut fosfat (BPF) dan atau mikoriza arbuskula (MA).

Rhizobia adalah kelompok mikroba yang mampu menambat N₂ dari udara dan mengubahnya menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman ketika bersimbiosis dengan tanaman legum. BPF dapat mensintesis enzim phytase (Alexander, 1977) dan fosfatase (Premono, 1994), yang berperan dalam hidrolisis P organik (Martinez and Martinez, 2003). Untuk melarutkan P anorganik BPF menghasilkan asam-asam organik yang membantu melepaskan P yang terfiksasi logam (Martinez and Martinez, 2003).

Mikoriza arbuskula (MA) adalah golongan cendawan yang hanya hidup apabila berasosiasi dengan akar tanaman (Brundett *et al*, 1996). Hasil penelitian menunjukkan bahwa MA dapat meningkatkan penyerapan unsur hara akibat meluasnya volume tanah yang dieksplorasi sebagai sumber serapan fosfat melalui perluasan hifa eksternal (Setiadi, 1999) dan akibat aktivitas enzim yang membantu meningkatnya ketersediaan hara melalui pelepasan hara terfiksasi. Hal yang juga penting bagi tanaman untuk bertahan pada lahan terdegradasi adalah masalah kekeringan karena air tidak dapat ditahan oleh tanah. Telah banyak dilaporkan bahwa MA mampu meningkatkan resistensi tanaman terhadap kekeringan (Setiadi, 1999). Hal ini karena hifa MA selain mampu menyerap air juga dapat mempengaruhi tanaman dalam mengatur tekanan osmotis sel sehingga akan mempengaruhi laju transpirasi (Setiadi, 1999).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa MA dapat membantu pertumbuhan tanaman pada tanah yang tercemar logam-logam berat seperti lahan bekas tambang (Linderman and Pflieger, 1994 *dalam* Setiadi, 1999).

▼ Alamat Korespondensi:

Jl. Gunung Batu no. 5 Bogor 16118
Telp.: +62-251-633234, Fax. +62-251-633234
Email : enny_widiyati@yahoo.com

Menurut Khan *et al.* (2000), MA yang berasosiasi dengan tumbuhan yang tumbuh pada tanah-tanah yang terkontaminasi logam berat telah berevolusi menjadi toleran terhadap logam berat. Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa MA dari genus *Glomus* dan *Gigaspora* banyak ditemukan berasosiasi dengan tumbuhan yang tumbuh pada tanah-tanah yang terpolusi logam berat (Khan *et al.*, 2000).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan formula inokulum yang paling efektif untuk memperbaiki pertumbuhan bibit *A. crassicarpa* yang dipersiapkan sebagai bibit untuk revegetasi lahan bekas tambang batubara.

BAHAN DAN METODE

Isolat rhizobia yang digunakan merupakan hasil seleksi yang teridentifikasi dari genus *Rhizobium*, BPF dari genus *Bacillus* dan MA dari genus *Glomus* yang ketiganya diisolasi dari lahan bekas tambang batubara PT. Bukit Asam di Sumatra Selatan (Widyati, 2006). *Rhizobium* dibiakkan pada medium ekstrak khamir (MEK) cair dan BPF dibiakkan pada medium Pikouvskaia cair pada inkubator shaker dengan kecepatan 100 – 125 rpm sampai mencapai kerapatan 10^7 - 10^8 spk / ml. Untuk memecahkan dormansi biji *A. crassicarpa* direndam dalam larutan asam sulfat absolut selama 20 detik. Selanjutnya biji dicuci di bawah air mengalir sampai bersih kemudian direndam dalam air dingin selama 24 jam. Setelah direndam selanjutnya benih ditebar di atas zeolit steril yang dijaga kelembabannya. Setelah bibit berkecambah selanjutnya disapih pada media tanah yang telah disterilkan dengan fumigan berbahan aktif Dazomet 97%.

Perlakuan yang diberikan pada bibit terdiri atas 7 perlakuan yaitu: *Rhizobium*, BPF, MA, *Rhizobium* + BPF, *Rhizobium* + MA, BPF + MA dan *Rhizobium* + MA + BPF, dan tanpa inokulasi sebagai kontrol. *Rhizobium* dan BPF diinokulasikan pada waktu penyapihan sebanyak 1 ml untuk setiap bibit. Sedangkan MA diinokulasikan pada waktu pengecambahan bersama-sama dengan pembawanya. Percobaan dilakukan menurut rancangan acak kelompok lengkap (RAKL), dengan 3 kelompok sebagai ulangan dan masing-masing ulangan terdiri atas 60 tanaman contoh.

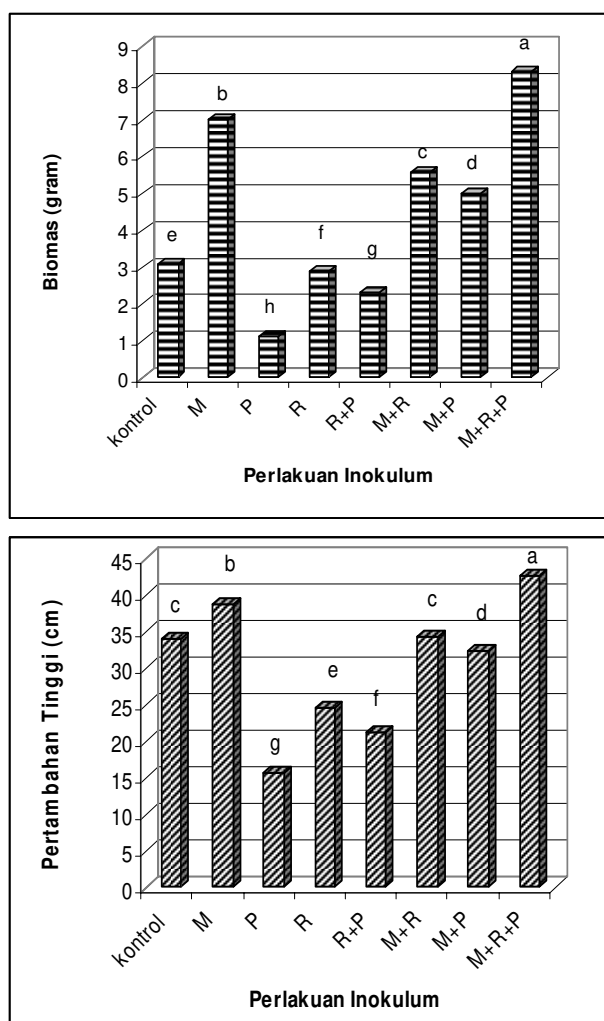
Dari masing-masing ulangan diukur 5 tanaman contoh yang dipilih secara acak untuk mengetahui tinggi bibit setiap bulan selama 4 bulan. Kemudian bibit dipanen dan dihitung biomas dan serapan hara (N, P dan K). Untuk perlakuan dengan MA dihitung persentase akar terinfeksi. Peningkatan pertumbuhan relatif dan peningkatan serapan hara relatif dihitung melalui rumus Widyati (2006):

$$\frac{\text{Perlakuan} - \text{Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pertumbuhan bibit menunjukkan bahwa bibit yang diberi perlakuan dengan BPF saja atau *Rhizobium* saja ternyata mempunyai pertumbuhan yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa BPF dan *Rhizobium* yang diinokulasikan cenderung memberikan dampak negatif sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bibit. Menurut hasil penelitian Bolton *et al.* (1992), ketika mikroba

diinokulasikan ke dalam rhizosfir mereka dapat memberikan dampak positif (*mutualisme* atau *komensalisme*), dampak negatif (*parasitisme*, *kompetisi* atau *amensalisme*) atau tidak memberikan pengaruh apa-apa (*netralisme*).



Gambar 1. Pertumbuhan bibit *A. crassicarpa* 4 bulan setelah inokulasi, biomas (atas) dan pertambahan tinggi (bawah) *Keterangan:* kontrol: tanpa inokulasi; **M:** MA; **P:** BPF; **R:** *Rhizobium*; huruf yang berbeda di atas diagram menunjukkan berbeda nyata.

Menurut Nautiyal (1999), BPF dan rhizobia memerlukan karbohidrat dan protein untuk pertumbuhannya yang diambil dari hasil fotosintat tanaman inangnya. Bagi mikroba tersebut, karbohidrat dan protein digunakan sebagai sumber C, sumber energi dan sumber N (Nautiyal, 1999). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa BPF dan *Rhizobium* yang diinokulasikan mengambil hasil fotosintat, tetapi mereka tidak mampu membantu tanaman dalam mendapatkan unsur hara yang diperlukan. Hal ini terbukti dari serapan unsur hara (N, P dan K) yang lebih rendah dibanding perlakuan kontrol (Tabel 2). Dengan demikian, keberadaan mereka pada rhizosfir dan akar bibit bahkan dapat menjadi parasit yang merugikan tanaman.

Perlakuan inokulasi dengan MA, baik MA tunggal maupun yang digabung dengan mikroba yang lain, ternyata dapat meningkatkan secara signifikan pertumbuhan bibit *A. crassicarpa* 4 bulan setelah inokulasi (Tabel 1). Perlakuan konsorsium (MA, *Rhizobium* dan BPF) meningkatkan tinggi sebesar 26% dan biomas pucuk 91% sedangkan inokulum

tunggal MA meningkatkan tinggi dan biomas pucuk masing-masing sebesar 14% dan 137% dibanding kontrol. Hal ini terjadi karena MA membantu tanaman dalam mendapatkan unsur-unsur hara (Tabel 2) yang diperlukan baik untuk pertumbuhan maupun untuk bersimbiosis dengan mikroba lainnya.

Tabel 1. Peningkatan pertumbuhan relatif (%) dibandingkan kontrol bibit *A. crassica* 4 bulan setelah inokulasi

Perlakuan	Berat kering pucuk	Berat kering akar	Peningkatan tinggi
MA	91	207	114
BPF	-60	30	-46
<i>Rhizobium</i>	-14	-12	-28
<i>Rhizobium</i> + BPF	-40	-36	-37
MA + <i>Rhizobium</i>	51	162	0
MA + BPF	32	152	7
MA + <i>Rhizobium</i> + BPF	137	177	26

Tabel 2. Peningkatan serapan hara relatif dibandingkan kontrol (%) oleh bibit *A. crassica* 4 bulan setelah inokulasi

Perlakuan	N (mg/bibit)	P (mg/bibit)	K (mg/bibit)
MA	80	383	51
BPF	-48	-7	-55
<i>Rhizobium</i>	-21	84	-26
<i>Rhizobium</i> + BPF	-18	68	-19
MA + <i>Rhizobium</i>	36	175	15
MA + BPF	24	221	1
MA + <i>Rhizobium</i> + BPF	164	335	167

Hasil analisis serapan hara pada jaringan tanaman menunjukkan bahwa bibit yang diinokulasi dengan MA baik sebagai inokulum tunggal maupun konsorsium terjadi peningkatan secara signifikan terhadap penyerapan N, P dan K oleh bibit *A. crassica* 4 bulan setelah inokulasi. Bibit yang diinokulasi dengan inokulum MA tunggal terjadi peningkatan penyerapan N sebesar 80%, serapan P sebesar 383% dan serapan K sebesar 51% dibandingkan kontrol. Sedangkan bibit yang diinokulasi dengan inokulum konsorsium BPF, rhizobium dan MA, serapan N meningkat sebesar 164%, serapan P sebesar 334% dan serapan K sebesar 167% dibanding kontrol (Tabel 2). Pada penelitian ini inokulasi bibit dengan rhizobium dan atau BPF ternyata memiliki serapan hara yang lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol. Hal ini merujuk pada Nautiyal (1999) bahwa unsur hara yang diserap selain digunakan untuk pertumbuhan bibit juga diberikan kepada rhizobium atau BPF sehingga hara yang disimpan dalam jaringan menjadi lebih rendah.

Hasil penelitian ini sejalan dengan De La Cruz (1988) dalam Haselwandter and Bowen (1996), bahwa ketika rhizobia diinokulasikan bersama dengan MA terjadi peningkatan serapan P 48 kali lipat dan serapan N 30 kali lipat dibandingkan dengan kontrol. De La Cruz menduga bahwa hal ini terjadi akibat peningkatan serapan P oleh MA yang berdampak pada fiksasi nitrogen. Hasil penelitian serupa yang dilakukan oleh Azcon-Aguilar *et al.* (1979) dalam Quilambo (2003) menunjukkan bahwa inokulasi *G. mossae* dapat meningkatkan aktivitas *R. meliloti* pada tanaman *Medicago sativa*. Hal ini karena MA tersebut dapat memasok P yang diperlukan oleh rhizobia untuk membentuk nodul dan menambat N₂ dari udara.

Hasil penelitian Husin dkk. (1999), juga menunjukkan adanya sinergisme pada perlakuan inokulasi ganda rhizobia dengan MA. Inokulasi rhizobia dan MA pada bibit *A. mangium* menunjukkan bahwa rhizobia dapat

meningkatkan serapan P karena mikroba ini dapat memfiksasi N₂ sehingga dapat meningkatkan fotosintesis. Meningkatnya fotosintesis akan meningkatkan transtalisasi fotosintat dari daun ke arah akar yang sangat diperlukan bagi perkembangan MA (Smith and Smith, 1995 dalam Husin dkk., 1999). Kolonisasi MA akan menyebabkan meningkatnya penyerapan P karena MA menghasilkan enzim fosfatase yang berperan dalam mineralisasi P organik (Damarajan and Mahadevan, 1995 dalam Husin dkk., 1999).

Serapan hara ini sangat penting dalam pertumbuhan tanaman. Sebagai unsur hara makro P berperan sebagai penyusun protein (ensim), kofaktor dan aktivator ensim (Soepardi, 1993). Meningkatnya aktivitas ensim ini antara lain akan membantu meningkatkan serapan unsur hara lain. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada perlakuan yang mempunyai serapan P tinggi maka serapan N dan K juga tinggi dan sebaliknya.

Peranan unsur N pada pertumbuhan tanaman antara lain dapat merangsang perkembangan akar dan pembentukan klorofil yang sangat penting untuk pertumbuhan tanaman (Soepardi, 1993). Pada penelitian ini terbukti bahwa tanaman yang mempunyai serapan N rendah (Tabel 2) ternyata memiliki pertumbuhan yang rendah (Tabel 1).

Unsur K merupakan satu-satunya kation monovalen yang esensial bagi tanaman karena peran utamanya adalah sebagai aktivator dari berbagai macam ensim (Soepardi, 1993). Ensim merupakan biokatalisator yang sangat penting dalam proses metabolisme. Hal ini terbukti pada perlakuan yang mempunyai serapan K rendah (Tabel 2) pertumbuhan tanaman juga rendah (Tabel 1). Diduga karena serapan K yang diperlukan tanaman untuk aktivasi ensim-ensim tidak mencukupi sehingga metabolisme tanaman tidak berjalan lancar akibat ensim-ensim tidak bekerja optimal.

Tabel 3 menunjukkan bahwa nodulasi pada bibit yang diinokulasi dengan *Rhizobium* dan atau BPF sangat rendah. Hal ini menunjukkan bahwa *Rhizobium* yang diinokulasikan ternyata tidak mampu beradaptasi pada media tanam yang diberikan. Menurut O'Hara (2001) rhizobia memerlukan konsentrasi unsur-unsur mineral yang memadai untuk proses metabolismenya agar dapat bertahan (*survive*) baik sebagai saprofit maupun bersimbiosis dengan tanaman legum. Unsur-unsur esensial yang diperlukan secara langsung dalam proses metabolisme rhizobia adalah C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, Ni, Co dan Se (O'Hara, 2001). Rhizobia juga memerlukan suatu unsur yang seperti yang tidak diperlukan secara langsung namun sangat penting dalam proses simbiosis yang efektif dengan tanaman legum yaitu boron (Bo) (O'Hara, 2001). Pada penelitian ini diduga unsur-unsur yang diperlukan oleh *Rhizobium* maupun BPF tidak dapat dipenuhi oleh tanah, karena tanah yang dipergunakan dari jenis latosol yang umum diketahui termasuk tanah kahat unsur hara.

Pada penelitian ini, MA tidak hanya berperan dalam membantu pertumbuhan tanaman tetapi juga membantu asosiasi BPF dan *Rhizobium* dengan tanaman inangnya. Hal ini terbukti dari Tabel 4 bahwa MA membantu tanaman memproduksi nodul baik secara alami maupun hasil inokulasi lebih banyak dibandingkan dengan bibit yang tidak diinokulasi dengan MA. Pada bibit yang tidak diinokulasi MA dapat terbentuk kolonisasi oleh MA akan tetapi infeksi yang terjadi tidak efektif (50%<) sehingga tidak berpengaruh terhadap bibit.

Meningkatnya nodulasi pada bibit yang diinokulasi MA tersebut terutama terjadi karena pada bibit yang diinokulasi MA terjadi peningkatan serapan P (Tabel 3). Khan *et al* (2000) menegaskan bahwa P merupakan unsur utama yang menyusun metabolit sekunder yang sangat penting dalam proses kolonisasi tanaman legum oleh rhizobia yaitu flavonoid. Rhizobia merupakan kelompok bakteri kemotaksis sehingga flavonoid akan menarik mikroba tersebut untuk mendekati akar. Disamping itu, Marschner (1992) dalam Setiadi (1999) menyatakan bahwa MA dapat membantu rhizobia memenuhi unsur hara mikro seperti Cu, Zn dan Bo, di mana Bo merupakan unsur yang diperlukan untuk bersimbiosis dengan tanaman legum. Haselwandter and Bowen (1996) mengacu pada Robson (1983) bahwa mikoriza dapat meningkatkan unsur-unsur yang diperlukan untuk penambatan nitrogen secara biologis seperti P, S, Ca, Zn, Mo, Co dan Cu. Meningkatnya nodulasi akan dapat memperbaiki pertumbuhan bibit. Pertumbuhan bibit yang baik diharapkan dapat meningkatkan *survival rate* bibit di lapangan sehingga akan dapat meningkatkan keberhasilan rehabilitasi lahan.

KESIMPULAN

Formulasi inokulum mikroba yang diisolasi dari lahan bekas tambang batubara yang paling baik untuk bibit *A. crassicarpa* adalah inokulum tunggal MA atau konsorsium rhizobia, MA dan BPF. MA mempunyai peran ganda terhadap tanaman inangnya; meningkatkan pertumbuhan dan meningkatkan optimasi inokulasi rhizobium dan BPF pada bibit *A. crassicarpa* 4 bulan di persemaian. Inokulasi dengan konsorsium mikroba memberikan hasil yang paling baik dalam meningkatkan tinggi (26%), biomas (137%) dan serapan N (164%), P (335%) dan K (167%) dalam tanaman. Inokulasi MA secara murni dapat meningkatkan serapan N tanaman 80%, P 383% serta K 51% dibanding kontrol. Peningkatan serapan hara dengan perlakuan MA murni dapat meningkatkan biomas 91% dan pertambahan tinggi 114% dibanding kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. John Willey and Son. New York.
- Brundett, M., N. Bougher, B. Deale and N. Maladzjuck. 1996. *Mycorrhiza for Forestry and Agriculture*. ACIAR. Canberra.
- Bolton, H., J.K. Fredrickson and L.F. Elliot. 1992. Microbial ecology of the rhizosphere. *Soil Microbial Ecology*. Metting, B (ed). Marcel and Dekker. New York.
- Haselwandter, K. and G.D. Bowen. 1996. Mycorrhizal relations in trees for agro-forestry and land rehabilitation. *Forest Ecology and Management* 81: 1-17.
- Husin, E.F., S. Syafei, M. Kasim dan R. Hartawan. 1999. Respon pertumbuhan bibit mangium di persemaian terhadap mikoriza dan rhizobium. *Prosiding Seminar Mikoriza I*. Setiadi, dkk (editor). *Kerjasama Asosiasi Mikoriza Indonesia, Puslitbang Hutan dan Konservasi Alam*, British Council. Bogor. 15-16 Nopember 1999.
- Khan, A.G., C. Kuek, T.M. Chaudry, C.S. Khoo, and W.J. Hayes. 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 21: 197 – 207
- Martinez, S.M.M. and G.A. Martinez. 2003. Effect of phosphate solubilizing bacteria during the rooting period of sugar cane (*Saccharum officinarum*), Venezuela 5171 variety, on the grower oasis substrate. www.ag.auburn.edu/argentina/pdf.manuscript/martinezpdf [11 Mei 2003]
- Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing bacteria. *FEMS Microbiological Letters*, 170:265-270
- O'Hara, G.W. 2001. Nutritional constraint on root nodule bacteria affecting symbiotic nitrogen fixation: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41: 417-433
- Pinyopusarerk, K. 1998. Acacias for amenity planting and environmental conservation. *Proceeding of 3rd Meeting of The COGREIDA, 28 – 29 June 1994*. Wood, H and Awang, K (Ed). Taipei, Taiwan, ROC.
- Premono, E. 1994. *Jasad Renik Pelarut Fosfat: Pengaruhnya Terhadap P-tanah dan Efisiensi Pemupukan Tanaman Tebu*. *Disertasi*. Fakultas Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Quilambo, O.A. 2003. Review of The vesicular-arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Afr. J. Biotechnol.* 2 (12) : 539 – 546.
- Setiadi, Y. 1999. Status penelitian pemanfaatan cendawan mikoriza arbuskula untuk rehabilitasi lahan terdegradasi. *Prosiding Seminar Mikoriza I*. Setiadi, dkk (editor). Kerjasama Asosiasi Mikoriza Indonesia, Puslitbang Hutan dan Konservasi Alam, British Council. Bogor. 15-16 Nopember 1999.
- Soepardi, G. 1993. *Sifat dan Ciri Tanah*. Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian IPB. Bogor
- Widyati, E. 2006. *Bioremediasi Tanah Bekas Tambang batubara dengan Sludge Industri Kertas untuk Memacu Revegetasi Lahan*. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.