

## Respon Inokulasi Strain Mutan Rhizobia pada *Calliandra calothyrsus*

N.D. PURWANTARI dan E. SUTEDI

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

(Diterima dewan redaksi 18 April 2005)

### ABSTRACT

PURWANTARI, N.D. and E. SUTEDI. 2005. Response of *Calliandra calothyrsus* to inoculation of mutant strain of rhizobia. *JITV* 10(3): 182-189.

Rifampicin mutants of rhizobial strain CB3171rif50 and CB3090rif100 were the most effective nitrogen fixing strain of rhizobia selected under axenic condition. An experiment was conducted to evaluate the symbiotic response of *C. calothyrsus* inoculated by CB3171rif50 or CB3090rif100 grown in the field, on latosol soil with pH 5.2. Plants were either (1) inoculated with mutant strain CB3171rif50, (2) inoculated with mutant strain mutant CB3090rif100 (3) uninoculated and without nitrogen addition or (4) uninoculated and with nitrogen fertilizer as a basal fertilizer. Treatments were replicated four times and arranged in Randomized Complete Block Design. Parameters measured were plant height at early stage of the growth, leaf weight, stem weight, nodule number and weight, proportion of nodule formed by inoculant, N and P content of leaf. Results shows that *C. calothyrsus* was responded to *Rhizobium* inoculation. The rate of regrowth was faster for the inoculated plant than that of uninoculated and no nitrogen addition. CB3171rif50 produced significantly ( $P<0.05$ ) the highest leaf fresh and dry weight. At the first harvest (10 month-old of plant) it produced 2106 g/tree that equivalent to 18.72 ton/ha. The lowest was achieved by uninoculated plant which was 556 g/tree that equivalent to 4.94 ton/ha. The production of shoot was increased at the subsequent harvests. CB3171rif50 was out yielded in all harvest, except for the second harvest. The highest total production of leaf fresh weight was obtained by plant inoculated with strain mutan CB3171rif50 which was 50.62 ton ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>, followed by CB3090rif100, which was 39.75 ton ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> and the lowest was obtained by uninoculated plant, in a range of 29.64–30.62 ton ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>. Nodule recovery shows that nodule samples from uninoculated plant were not resistant to 50 ppm and 100 ppm rifampicin antibiotic that means not producing mutant strain, indicating that those nodules were from the native rhizobial strains. Recovery of nodules showed that proportion of nodules infected by strain mutant CB3171rif50 was 61.3% from nodules tested and nodules infected by CB3090rif100 was 20%. Both mutant strains inoculation have increased the plant production and re-inoculation was not necessary till 19 month-old of the plant. Re-inoculation should be considered after this period.

**Key Words:** *Calliandra calothyrsus*, *Rhizobium*, Mutan, Inoculation

### ABSTRAK

PURWANTARI, N.D. dan E. SUTEDI. 2005. Respon inokulasi strain mutan rhizobia pada *Calliandra calothyrsus*. *JITV* 10(3): 182-189.

Strain *Rhizobium* mutan CB3171rif50 dan CB3090rif100 menghasilkan strain yang efektif mengikat N<sub>2</sub> pada kondisi steril. Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi respon *C. calothyrsus* terhadap strain mutan CB3171rif50 dan CB3090rif100 sebagai inokulan pada kondisi lapang. Tanaman ditumbuhkan di rumah kaca sebelum dipindah ke lapang. Lokasi penelitian mempunyai jenis tanah latosol dengan pH 5,2. Perlakuan yang diberikan (1) inokulasi dengan strain mutan CB3171rif50, (2) inokulasi dengan strain mutan CB3090rif100 (3) tanpa inokulasi, tanpa pupuk nitrogen atau (4) tanpa inokulasi, ditambah pupuk nitrogen sebagai pupuk dasar. Perlakuan diulang 4 kali. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok. Parameter yang diukur adalah tinggi tanaman pada awal pertumbuhan, produksi hijauan, jumlah dan bobot bintil akar, proporsi bintil akar yang terbentuk dari inokulan yang diberikan dan kandungan N dan P daun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada semua umur pengukuran, pertambahan tinggi tanaman yang diinokulasi lebih cepat dibandingkan dengan yang tanpa inokulasi dan tanpa penambahan nitrogen. Inokulasi dengan strain mutan CB3171rif50 meningkatkan produksi hijauan pada panen pertama sampai panen ke-4, kecuali panen ke-2. Pada panen pertama (umur tanaman 10 bulan) strain mutan CB3171rif50 menghasilkan produksi hijauan segar tertinggi secara nyata ( $P<0,05$ ) yaitu 2106 g/pohon yang setara 18,72 ton/ha, sedang terendah dicapai oleh tanaman tanpa inokulasi tanpa pupuk urea yaitu 556 g/pohon setara 4,94 ton/ha. Total produksi hijauan segar tertinggi selama 1 tahun dicapai oleh tanaman yang diinokulasi dengan strain mutan CB3171rif50 yaitu 50,62 ton/ha, diikuti oleh CB3090rif100 yaitu 39,75 ton/ha dan terendah dicapai oleh tanaman yang tidak diinokulasi yaitu berkisar antara 29,64-30,62 ton/ha. *Nodule recovery* menunjukkan bahwa dari nodul yang diambil dari tanaman pada plot perlakuan tanpa inokulasi ternyata tidak resisten terhadap antibiotika baik pada 50 ppm maupun 100 ppm. Ini menunjukkan bahwa nodul tersebut merupakan rhizobia alami. Proporsi bintil akar yang diinfeksi inokulan strain mutan CB3171rif50 mencapai 61,3% dari bintil akar yang diuji sedangkan yang diinfeksi strain mutan CB3090rif100 adalah 20%. Inokulasi dengan kedua strain mutan yang digunakan dapat meningkatkan produksi tanaman dan sampai tanaman umur 19 bulan reinokulasi belum diperlukan. Reinokulasi perlu dipertimbangkan setelah periode ini.

**Kata Kunci:** *Calliandra calothyrsus*, *Rhizobium*, Mutan, Inokulasi

## PENDAHULUAN

Rehabilitasi dan mempertahankan kesuburan tanah adalah suatu problem dasar yang perlu mendapat perhatian, terutama di daerah tropis, yang kebanyakan tanahnya miskin unsur hara dan bahan organik. Penggunaan leguminosa pohon seperti *Calliandra calothyrsus*, *Leucaena* spp., *Acacia mangium*, *Flemingia congesta* untuk memperbaiki dan menjaga kesuburan tanah telah banyak dilakukan, yang relatif lebih ramah lingkungan bila dibandingkan dengan penggunaan pupuk kimia. Hal tersebut dilakukan karena leguminosa dapat mengikat nitrogen udara secara biologis, sebagai pupuk hijau dan membantu pengendalian erosi.

*C. calothyrsus* adalah leguminosa perdu yang berasal dari Amerika Tengah dan Mexico. Masuk ke Indonesia sekitar tahun 1936, terutama untuk tanaman kehutanan dan pelindung tanaman kopi di Jawa. Kaliandra merupakan jenis tanaman pionir yang baik, terutama di lahan-lahan kritis. Seperti tanaman leguminosa perdu lain, jenis ini mempunyai banyak fungsi antara lain sebagai sumber pupuk hijau, batangnya sebagai kayu bakar, dan kontrol erosi. Tanaman ini menghasilkan cukup banyak bunga dan nectar (calon madu) hampir sepanjang tahun dan madu yang dihasilkan dapat mencapai 1 ton per tahun per 1 ha kebun *C. calothyrsus* (SILA, 1996). Kebun-kebun *C. calothyrsus* di Sulawesi Selatan, tepatnya di Lembah Pintulung merupakan sumber kayu bakar utama industri rumah tangga untuk pembuatan gula aren. Petani lebih menyukai kayu bakar dari batang kaliandra karena daya bakarnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan kayu bakar lainnya (TY *et al.*, 2001). Energi yang dihasilkan kayu bakar dari batang kaliandra adalah sebesar 4500-4750 Kkal/kg dari kayu yang kering (NAS, 1983).

Sebagai sumber hijauan pakan ternak, kaliandra mengandung protein kasar yang tinggi, yaitu sekitar 22%. Namun adanya kandungan tanin pekat (*condensed tannin*) yang cukup tinggi menyebabkan daun kaliandra mempunyai daya cerna yang rendah sehingga membatasi penggunaannya untuk pakan ruminansia. Beberapa provenances *C. calothyrsus* telah dilaporkan mengandung tannin pekat yang relatif rendah antara lain provenances Flores, Cisarua, Santa Maria, San Antonio, Patulul (PALMER dan IBRAHIM, 1996).

*C. calothyrsus* mempunyai sifat seperti pada umumnya tanaman leguminosa, yaitu mempunyai kemampuan berasosiasi dengan bakteri tanah rhizobia, dengan cara membentuk bintil akar. Asosiasi ini mempunyai kemampuan mengikat gas nitrogen ( $N_2$ ) di udara yang merupakan bentuk unsur nitrogen yang tidak tersedia untuk tanaman. Keberhasilan asosiasi sangat ditentukan oleh faktor biotik dan faktor lingkungan. Faktor biotik dimaksud adalah kombinasi antara bakteri dan tanaman, yang bervariasi dari yang

tidak spesifik sampai sangat spesifik dan keberadaan rhizobia alam di dalam tanah. Sedangkan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap asosiasi tersebut antara lain pH tanah, temperatur dan status kandungan hara tanah. Kebanyakan tanah di daerah tropis, keberadaan populasi rhizobia yang tidak efisien akan menghambat pengikatan  $N_2$  (SINGLETON *et al.*, 1992). Inokulasi tanaman leguminosa dengan strain rhizobia yang tepat akan menjamin terbentuknya bintil akar yang efektif mengikat  $N_2$  udara. Sehubungan dengan itu, dalam penelitian ini diamati respon inokulasi pada *C. calothyrsus* dan dicoba untuk menelusuri nasib inokulan yang diberikan.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di kebun percobaan Balai Penelitian Ternak di Kaum Pandak, Bogor. Penelitian dilakukan selama 2 tahun. Jenis tanaman *C. calothyrsus* lokal dan mutan strain CB3171rif50 (mutan pada 50 ppm antibiotika rifampisin), mutan CB3090rif100 (mutan pada 100 ppm rifampisin) telah digunakan dalam penelitian. Penggunaan strain mutan adalah sebagai pecri yang digunakan untuk studi ekologi dari inokulan yang diberikan. Sebelum ditanam di lapang biji disemaikan dalam kantong plastik dan dibiarkan tumbuh selama 2 bulan. Tanah yang dipergunakan sebagai media tanam diperoleh dari Kaum Pandak. Setelah tumbuh dilakukan inokulasi pada tanaman sesuai perlakuan. Strain rhizobia yang digunakan ditumbuhkan dalam media cair *Yeast Mannitol Broth* (YMB). Media YMB terdiri atas Mannitol 10,0 g;  $K_2HPO_4$  0,5 g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,2 g; NaCl 0,1 g; *Yeast extract* 0,4 g dan air distilasi 1 L. Inokulan diberikan dalam bentuk cair dalam YMB dan diberikan setelah tanaman tumbuh di persemaian. Ukuran plot 4 x 5 m dengan jarak antar plot 2 m. Jarak larikan di dalam plot 1,5 m dan jarak tanam dalam larikan 0,75 m. Tinggi potong 1 m dari permukaan tanah dan interval potong 3 bulan. Perlakuan (1) inokulasi dengan mutan CB3171rif50; (2) inokulasi dengan mutan CB3090rif100; (3). tanpa inokulasi, dengan penambahan pupuk urea sebagai pupuk dasar; dan (4) tanpa inokulasi, tanpa penambahan unsur N (pupuk N). Informasi mengenai asal, tanaman inang induk strain *Rhizobium* CB 3171 maupun CB 3090 bisa dilihat pada Tabel 1. Panen pertama dilakukan setelah tanaman berumur 10 bulan (dimana tanaman sudah *established*) dan selanjutnya dilakukan dengan interval 3 bulan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok dan tiap perlakuan diulang 4 kali. Untuk *nodule recovery* pengambilan sampel bintil akar dilakukan pada saat yang bersamaan dengan panen pertama dan ke-3. Sampel diambil dari tiap plot sebanyak 4 tanaman dari plot yang tidak diambil parameter produksi hijauan. Parameter yang diukur

antara lain adalah pertumbuhan tanaman (tinggi), produksi hijauan, analisa kandungan nitrogen dan fosfor hijauan, jumlah bintil akar, dan proporsi bintil akar yang berasal dari inokulan yang diberikan.

**Tabel 1.** Asal strain Rhizobia yang digunakan dalam penelitian

Kode	Tanaman inang	Negara	Kecepatan tumbuh
3171	<i>C. calothyrsus</i>	Nicaragua	Cepat
CB3090	<i>G. sepium</i>	Sri Lanka	Cepat

### Nodule recovery

Uji bintil akar (*nodule*) dilakukan di laboratorium Agrostologi, Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor. Media *Yeast Manitol Agar* (YMA) baik yang mengandung antibiotika rifampisin 50 ppm dan 100 ppm maupun tidak mengandung rifampisin (sebagai kontrol) telah digunakan dalam uji ini. Susunan media YMA adalah YMB ditambah 1,5 g agar untuk tiap 1 L YMB. Sampel bintil akar yang telah diambil dari lapangan diisolasi dan ditumbuhkan pada kedua jenis media YMA tersebut. Kemudian diamati pertumbuhannya. Kalau isolat tidak menghasilkan mutan artinya bakteri rhizobia yang membentuk bintil akar adalah rhizobia alam, sedangkan kalau menghasilkan mutan, rhizobia berasal dari inokulan yang diberikan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Tinggi tanaman

Tinggi tanaman pada saat berumur 2, 7, 8 dan 9 bulan tertera pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rataan tinggi tanaman pada masa pertumbuhan

Perlakuan	Tinggi di persemaian (cm)	Tinggi tanaman (cm) di lapang				
		Umur (bulan)				
		2 bulan	5	6	7	8
Inokulasi mutan CB3171rif50	14,2	22,4	60,1	131,1	177,8	231,5
Inokulasi mutan CB3090rif100	12,4	20,1	53,7	116,1	167,0	226,0
Tanpa inokulasi, tambah N*	-	22,7	55,2	102,8	179,6	232,3
Tanpa inokulasi, tanpa N	19,5	26,6	57,0	117,1	167,3	212,7

\* Belum ada perlakuan penambahan N (pemupukan N) pada saat di persemaian

Dari hasil pengukuran tinggi tanaman di persemaian umur 2 bulan, terlihat tanaman yang tidak diinokulasi lebih tinggi (Tabel 2) namun secara visual warna daun lebih hijau pada tanaman yang diinokulasi. Pertumbuhan terlihat lambat pada awal pertumbuhan tanaman dan makin cepat pada fase selanjutnya. Pertumbuhan awal tanaman leguminosa perdu biasanya lambat dan keadaan tersebut menjadi lebih parah bila kondisi lingkungan tidak mendukung, seperti kekurangan air, miskin hara dan keasaman tanah yang relatif tinggi. Kondisi tersebut akan membawa konsekuensi yang berakibat kegagalan pada periode *establishment* yang untuk selanjutnya akan mempengaruhi pertumbuhan pada fase berikutnya (SIMPSON, 1989). Pertumbuhan *C. calothyrsus* dari hasil penelitian ini relatif lambat bila dibandingkan dengan hasil sebelumnya yang dilaporkan oleh DUGUMA dan MOLLET (1996), dimana tinggi tanaman dari berbagai *provenances* pada umur 9 bulan berkisar 2,40-3,52 m kecuali *provenance* Santa Maria yang hanya mencapai 2,12 m. Pertumbuhan *C. calothyrsus* lebih cepat dibandingkan dengan *Acacia aneura* yang memerlukan waktu 6-8 bulan untuk mencapai tinggi tanaman 20 cm di persemaian (KUBE disitasi oleh NFTA, 1990).

### Produksi hijauan

Panen pertama dilakukan pada saat umur tanaman 10 bulan. Pada panen pertama telah terlihat adanya respon inokulasi bakteri terhadap produksi hijauan (Tabel 3). Strain mutan CB3171rif50 menghasilkan hijauan segar paling tinggi secara nyata dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu 2106 g/pohon setara dengan 18,72 ton/ha sedangkan CB3090rif100 menghasilkan hijauan 1147 g/pohon setara dengan 10,20 ton/ha. Produksi hijauan terendah dihasilkan pada perlakuan tanpa inokulasi tanpa tambahan unsur N, yaitu 556 g/pohon setara dengan 4,94 ton/ha.

Terjadi penurunan produksi pada panen kedua baik pada tanaman yang diinokulasi maupun yang tidak (Tabel 4). Penurunan ini terjadi dikarenakan bersamaan dengan musim kemarau, yang menyebabkan pertumbuhan kembali menjadi melambat. Pada dasarnya semua tanaman memerlukan air yang cukup untuk hidupnya, antara lain untuk proses fotosintesis yang merupakan proses pembentukan karbohidrat sebagai sumber energi yang dengan proses respirasi, karbohidrat dipecah dan membebaskan energi tinggi yang disebut *Adenosin Tri Phosphate* (ATP). Energi ini digunakan oleh tanaman untuk semua aktivitas tumbuhnya dan berfungsinya enzim-enzim.

Produksi hijauan mengalami kenaikan lagi pada panen ke tiga (tanaman berumur 16 bulan), dan kenaikan ini terjadi pada semua perlakuan. Strain mutan CB3171rif50 kembali memberikan produksi hijauan tertinggi dan berbeda nyata ( $P<0,05$ ) dibandingkan dengan tanpa inokulasi (Tabel 5).

Pada panen ke-3 dan 4, tanaman yang diberi pupuk dasar urea menghasilkan hijauan lebih sedikit dibandingkan dengan produksi yang dihasilkan tanaman yang diinokulasi. Kemungkinan pupuk urea telah digunakan oleh tanaman pada awal pertumbuhannya dan tanaman mulai kekurangan unsur nitrogen pada fase berikutnya sehingga pertumbuhannya mulai lambat. Tanaman yang diinokulasi dengan kedua strain sebagai perlakuan menunjukkan produksi yang makin meningkat. Ini mengindikasikan bahwa asosiasi tanaman dan bakteri bekerja makin efektif dalam mengikat nitrogen udara ( $N_2$ ).

Panen ke-4 yang bertepatan dengan umur tanaman 19 bulan, terjadi sedikit penurunan produksi, dan produksi segar maupun kering daun tertinggi tetap dihasilkan oleh strain mutan CB3171rif50 yaitu bobot segar hijauan 1436,97 g/pohon yang setara dengan 12,77 ton/ha dan terendah dicapai oleh tanaman yang

**Tabel 3.** Bobot segar dan kering daun *C. calothyrsus* pada umur 10 bulan

Perlakuan	Bobot segar (g/pohon)	Bobot segar (ton/ha)*	Bobot kering (g/pohon)	Bobot kering (ton/ha)
CB3171rif50	2106,0 <sup>c</sup>	18,72	710,3 <sup>b</sup>	6,31
CB3090rif100	1147,0 <sup>b</sup>	10,20	406,1 <sup>a</sup>	3,61
Tanpa inokulasi, tambah N	781,0 <sup>ab</sup>	6,94	289,6 <sup>a</sup>	2,57
Tanpa inokulasi, tanpa N	556,0 <sup>a</sup>	4,94	201,9 <sup>a</sup>	1,79

Huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P<0,05$ )

\* Konversi per ha didasarkan populasi tanaman dengan jarak tanam 1,5 x 0,75 m (8889 tanaman)

**Tabel 4.** Bobot segar dan kering daun *C. calothyrsus* pada umur 13 bulan

Perlakuan	Bobot segar (g/pohon)	Bobot segar (ton/ha)	Bobot kering (g/pohon)	Bobot kering (ton/ha)
CB3171rif50	664,4	5,91	225,5	2,00
CB3090rif100	772,9	6,87	268,3	2,38
Tanpa inokulasi, tambah N	607,0	5,39	224,5	1,99
Tanpa inokulasi, tanpa N	688,7	6,12	245,4	2,18

**Tabel 5.** Rataan bobot segar dan kering daun *C. calothyrsus* umur 16 bulan

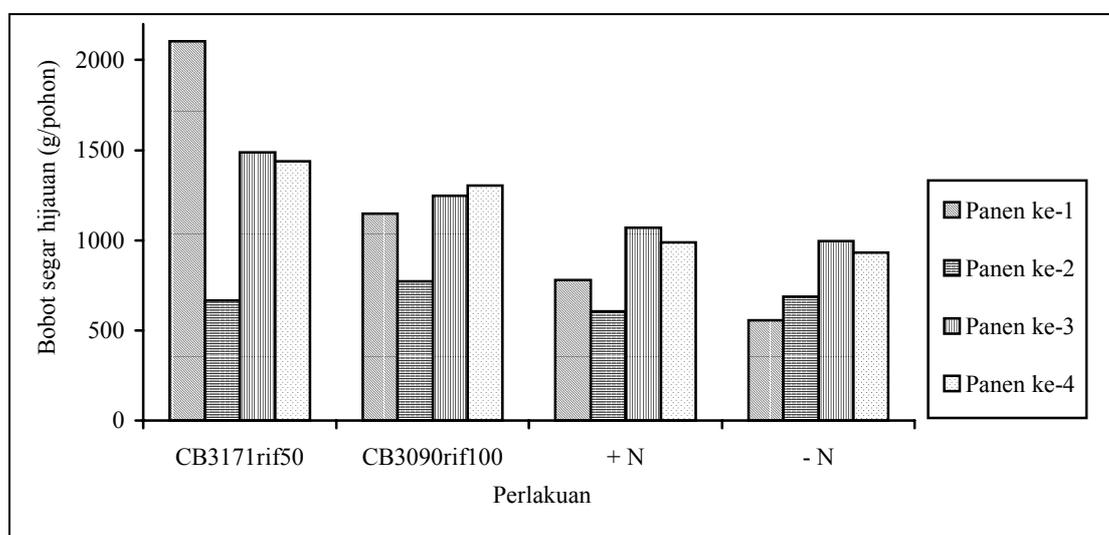
Perlakuan	Bobot segar (g/pohon)	Bobot segar (ton/ha)	Bobot kering (g/pohon)	Bobot kering (ton/ha)
CB3171rif50	1487,0 <sup>b</sup>	13,22	425,1 <sup>b</sup>	3,78
CB3090rif100	1247,0 <sup>ab</sup>	11,08	311,6 <sup>ab</sup>	2,77
Tanpa inokulasi, tambah N	1070,0 <sup>a</sup>	9,51	274,3 <sup>ab</sup>	2,44
Tanpa inokulasi, tanpa N	996,7 <sup>a</sup>	8,96	257,1 <sup>a</sup>	2,28

Huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P<0,05$ )

tidak diinokulasi yaitu 987,50 g/pohon yang setara dengan 8,78 ton/ha. Total produksi hijauan tertinggi selama 1 tahun (4 kali panen) dicapai oleh tanaman yang diinokulasi dengan strain CB3171rif50, yaitu 50,62 ton/ha yang diikuti oleh 39,75 ton/ha strain mutan CB3090rif100, sedangkan tanaman yang tidak diinokulasi produksi hijauannya mencapai 39,75 ton/ha. Sementara itu, kontrol (tanaman yang tidak diinokulasi) produksi hijauannya lebih rendah antara 29,64-30,62 ton/ha. Keadaan ini sangat dimungkinkan karena CB3171rif50 diisolasi dari tanaman *C. calothyrsus* sedangkan CB3090rif100 berasal dari tanaman *G. sepium*, artinya kompatibilitasnya antara strain CB3171 dan *C. calothyrsus* lebih tinggi dibandingkan dengan CB3090.

### Kandungan nitrogen dan fosfor

Persentase kandungan nitrogen dan fosfor bagian atas tanaman (daun) terlihat tidak berbeda nyata (Tabel 6 dan 7). Kandungan nitrogen daun *C. calothyrsus* dari panen pertama dan ke-3 berkisar 2,75-3,40%, setara dengan kandungan protein kasar 16,5-21,25%. Hasil ini relatif lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil analisa N pada berbagai *provenance C. calothyrsus* yang dilaporkan oleh DUGUMA dan MOLLET (1996) yakni berkisar 2,25-2,78. Sementara itu, kandungan fosfornya berkisar 0,19-0,24%.



Gambar 1. Produksi hijauan *C. calothyrsus* panen ke-1 sampai ke-4

Tabel 6. Rataan kandungan nitrogen (% bahan kering) daun *C. calothyrsus* pada umur tanaman 10, 13 dan 16 bulan

Perlakuan	Umur 10 bulan	Umur 13 bulan	Umur 16 bulan
CB3171rif-50	3,122	3,292	2,847
CB3090rif-100	3,062	3,107	2,907
Tanpa inokulasi, tambah N	3,400	2,995	3,035
Tanpa inokulasi, tanpa N	3,025	2,752	2,877

Tabel 7. Rataan kandungan fosfor (% bahan kering) daun *C. calothyrsus* pada tanaman umur 10, 13 dan 16 bulan

Perlakuan	Umur 10 bulan	Umur 13 bulan	Umur 16 bulan
CB3171rif-50	0,210	0,210	0,227
CB3090rif-100	0,205	0,195	0,240
Tanpa inokulasi, tambah N	0,222	0,192	0,236
Tanpa inokulasi, tanpa N	0,217	0,215	0,237

### Produksi batang

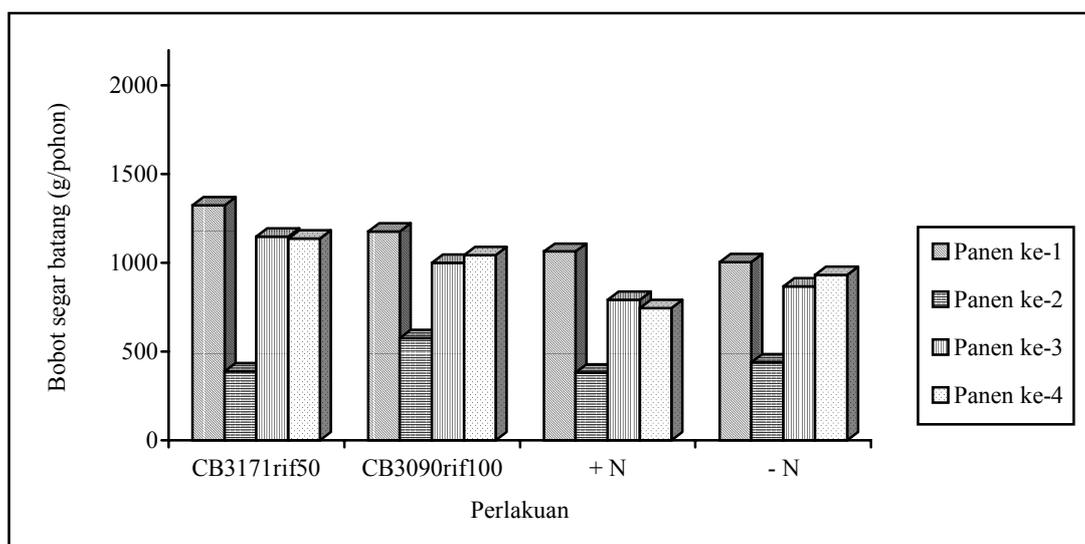
Batang *C. calothyrsus* dapat digunakan untuk kayu bakar. Namun dalam penelitian ini hanya diukur produksi dalam gram per pohon (Gambar 2). Produksi tertinggi batang secara nyata dicapai pada tanaman yang diinokulasi dengan CB3171rif50 dan terendah dicapai pada tanaman yang tidak diinokulasi. Sehingga dari segi kegunaan batang tanaman terutama sebagai kayu bakar inokulasi dengan strain *Rhizobium* akan menguntungkan yaitu dengan meningkatnya produksi.

### Bintil akar

Bintil akar merupakan salah satu indikator terbentuknya asosiasi antara bakteri dengan tanaman. Dari Tabel 8 terlihat bahwa tanaman yang diinokulasi dengan CB3171rif50 menghasilkan jumlah dan bobot segar bintil akar paling tinggi, sedangkan yang terendah terjadi pada tanaman tanpa inokulasi. Terbentuknya bintil akar pada tanaman yang tidak diinokulasi ini sangat dimungkinkan karena adanya rhizobia yang sudah ada di tanah sebelumnya, biasa disebut rhizobia alam.

Untuk mengetahui kebenaran informasi tersebut perlu dikaji lebih lanjut. Pada uji yang telah dilakukan

sebelumnya, populasi rhizobia alam dari lokasi yang digunakan adalah rendah dan tidak ada rhizobia yang resisten maupun mutan yang terbentuk pada media dengan 50 ppm antibiotika rifampisin dan 100 ppm rifampisin (PURWANTARI *et al.*, 2001). Oleh karena itu mutan strain yang digunakan bisa merupakan peciri untuk *nodule recovery* yaitu untuk mengetahui bintil akar yang terbentuk, apakah berasal dari inokulan yang diberikan atau dari rhizobia alam. *Nodule recovery* sangat penting untuk melihat perjalanan dan nasib inokulan yang diberikan dalam tanah/tanaman. Dengan demikian dapat diketahui apakah inokulasi cukup diberikan sekali selama masa tumbuhnya atau perlu beberapa kali untuk menjaga asosiasi bakteri inokulan dan tanaman tetap dapat mengikat N<sub>2</sub> udara secara optimal sepanjang pertumbuhannya atau inokulan tidak dapat berkompetisi dengan rhizobia alam dalam menginfeksi akar. Bila inokulan tidak dapat berkompetisi dengan rhizobia alam maka yang harus dilakukan selanjutnya adalah mengisolasi strain rhizobia alam yang dominan di lokasi tersebut, kemudian dilakukan seleksi terhadap strain yang paling efektif dalam mengikat N<sub>2</sub> udara atau dicoba menaikkan jumlah inokulan. Dari inokulan yang diberikan tersebut hanya menginfeksi sebagian kecil dari bintil akar yang diuji, tetapi mampu meningkatkan produksi hijauan.



Gambar 2. Produksi batang *C. calothyrsus* panen ke-1 sampai ke-4

Tabel 8. Rataan bintil akar, bobot segar bintil akar *C. calothyrsus* diambil pada umur tanaman 10 dan 16 bulan

Perlakuan	Jumlah bintil akar per plot		Bobot bintil akar (g/plot)	
	Umur 10 bulan	Umur 16 bulan	Umur 10 bulan	Umur 16 bulan
CB3171rif50	54	73	2,10	0,82
CB3090rif100	30	50	0,50	0,16
Tanpa inokulasi, tambah N	31	29	0,26	0,02
Tanpa inokulasi, tanpa N	16	11	0,26	0,05

**Tabel 9.** Recovery strain mutan CB3171rif50 dan mutan CB3090rif100 dari bintil akar *C. calothyrsus* yang ditanam di lapang

Umur tanaman	Strain	Tanaman yang tidak diinokulasi		Tanaman yang diinokulasi	
		Jumlah bintil akar yang diuji	% inokulan	Jumlah bintil akar yang diuji	% inokulan
16 bulan	CB3171rif50	37	0	31	61,3 (19)*
	CB3090rif100	37	0	15	20 (3)

\* Angka dalam kurung menunjukkan jumlah bintil akar yang diinfeksi oleh inokulan

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *C. calothyrsus* mempunyai variasi kebutuhan rhizobia sedang atau dimasukkan dalam grup spesifik (LESUEUR *et al.*, 1996). PURWANTARI *et al.* (1996) melaporkan bahwa *C. calothyrsus* mampu membentuk bintil akar, baik dengan *fast growing* rhizobia maupun *slow growing* rhizobia, namun efektivitasnya sangat bervariasi. Dari 13 strain yang digunakan hanya 4 strain yang efektif dan dari 4 yang efektif tersebut hanya 1 strain yang *slow growing*. PEOPLES *et al.* (1989) menemukan bahwa *C. calothyrsus* membentuk bintil akar dengan *bradyrhizobia* (strain yang pertumbuhannya lambat, *slow growing* rhizobia). Namun hasil yang berbeda dilaporkan oleh TURK dan KEYSER (1992), bahwa *C. calothyrsus* dapat membentuk bintil akar dan membentuk simbiosis yang efektif dengan *Rhizobium* (strain yang pertumbuhannya cepat, *fast growing* rhizobia). Dilaporkan juga bahwa spesies ini membentuk bintil akar yang efektif dengan strain *Rhizobium* yang diisolasi dari *Leucaena leucocephala* maupun *Gliricidia sepium* (HALLIDAY dan SOMASEGARAN, 1984). Di lapang spesies ini bisa membentuk bintil akar dengan rhizobia alam tapi mungkin asosiasi tersebut tidak efektif dalam mengikat N<sub>2</sub> udara, sehingga pertumbuhan tanaman tidak menjadi lebih baik. Oleh sebab itu inokulasi sangat disarankan.

#### **Nodule recovery**

*Nodule recovery* hanya dilakukan pada saat tanaman berumur 16 bulan saja (Tabel 9). Dari Tabel 9 terlihat bahwa persentase proporsi bintil akar yang diinfeksi oleh inokulan berbeda di antara 2 strain yang digunakan. Strain CB3171rif50 menginfeksi akar lebih banyak dibandingkan dengan strain CB3090rif100. Dari tanaman yang tidak diinokulasi, baik yang diberi pupuk N sebagai pupuk dasar maupun yang tanpa pupuk N, tidak satupun bintil akar yang diuji tumbuh pada media dengan 50 ppm rifampisin atau 100 ppm rifampisin. Ini menunjukkan bahwa bintil akar yang terbentuk pada tanaman yang tidak diinokulasi tersebut berasal dari rhizobia alam yang telah ada di dalam tanah.

#### **KESIMPULAN**

Inokulasi *Calliandra calothyrsus* dengan strain mutan CB3171rif50 maupun CB3090rif100 meningkatkan produksi hijauan. Proporsi bintil akar yang diinfeksi oleh inokulan yang diberikan berkisar 20-60%, dan sampai umur tanaman 19 bulan inokulasi masih memberikan pengaruh pada produksi hijauan. Namun *nodule recovery* perlu dilakukan untuk masa yang akan datang sehingga dapat diketahui sampai berapa lama inokulan masih dapat bertahan di *rhizosphere* maupun kemampuannya menginfeksi akar dan kapan reinokulasi perlu dilakukan.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- DUGUMA, B. and M. MOLLET. 1996. Provenance evaluation of *Calliandra calothyrsus* in the humid lowlands of Cameroon. Proc. International Workshop on Genus *Calliandra*. Winrock International Institute for Agricultural Development. Cisarua, Bogor, 23-27 Januari 1996. pp. 147-163.
- HALLIDAY, J. and P. SOMASEGAREA. 1984. The rhizobium germplasm resource at NifTAL; catalog of strains. University of Hawaii, USA.
- LESUEUR, D., J. TASSIN, M.P. ENILORAC, J.M. SARRAILH and R. PELTIER. 1996. Study of the *Calliandra calothyrsus*-*Rhizobium* nitrogen fixing symbiosis. Proc. International Workshop on Genus *Calliandra*. Winrock International Institute for Agricultural Development. Cisarua, Bogor, 23-27 Januari 1996. pp. 62-75.
- NAS. 1983. *Calliandra*: A Versatile Small Tree for The Humid Tropics. National Academy of Science. National Academy Press, Washington, D.C. USA.
- NFTA (Nitrogen Fixing Tree Association). 1990. *Acacia aneura*. A Dessert Fodder Tree. NFT highlights. NFTA pp. 90-93.
- PALMER, B and T. IBRAHIM. 1996. *Calliandra calothyrsus* forage for the tropics-a current assessment. Proc. International Workshop on Genus *Calliandra*. Winrock International Institute for Agricultural Development. Cisarua, Bogor, 23-27 Januari 1996. pp. 183-194

- PEOPLES, M.B., D.M. HEBB, A.H. GIBSON and D.F. HERRIDGE. 1989. Development of the xylem ureide assay for the measurement of nitrogen fixation by pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). *J. Exp. Bot.* 40: 535-542.
- PURWANTARI, N.D., P.J. DART and R.A. DATE. 1996. Nodulation and nitrogen fixation by *Calliandra calothyrsus*. Proc. International Workshop on the Genus *Calliandra*. Winrock International Inst. Agric. Development. Cisarua, Bogor, 23-27 Januari 1996. pp. 77-82.
- PURWANTARI, N.D., B.R. PRAWIRADIPUTRA, S. YUHAENI, E. SUTEDI dan SAJIMIN. 2001. Uji resistensi native rhizobia dari beberapa tanah terhadap antibiotika. Laporan Tahunan, Balai Penelitian Ternak. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Indonesia.
- SILA, M. 1996. *Calliandra* for community development in Sulawesi. In: International Workshop on Genus *Calliandra*. Forest, Farm and Community Tree Research Reports (Special issue). D.O. EVANS (Ed.) Winrock International. Morrilton, Arkansas, USA. pp. 134-136.
- SINGLETON, P.W., B.B. BOHLOOL and P.L. NAKAO. 1992. Legume response to rhizobial inoculation in the tropics: Myths and realities. In: Myths and Science of Soils in the Tropics. R. LAL and P.A. SANCHEZ (Eds.) American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp. 135-155.
- SIMPSON, 1989. Tools for timely farming in the development of Timorese agriculture. *DAP Project Bulletin* 10: 8-17.
- TURK, D. and H.H. KEYSER. 1992. Rhizobia that nodulate tree legumes: Specificity of the host for nodulation and effectiveness. *Can. J. Microbiol.* 38: 451-460.
- TY H.X., HERMAWAN, E., M. DE. S. LIYANAGE, M. SILA, H. RAMDAN, A. NG. GINTINGS, Y. HIDAYAT, ADJI SETJOPRODJO, R. ROTHART, R. ARIS dan MACQUEEN. 2001. Produksi dan Pemanfaatan *Kaliandra* (*Calliandra calothyrsus*). Pedoman Lapang. Winrock International Institute for Agricultural Development.