

## Penetapan penambatan N<sub>2</sub> *Rhizobacterium* secara kuantitatif dengan teknik isotop <sup>15</sup>N

*Quantitative assessment of N<sub>2</sub> fixing Rhizobacterium using the isotope <sup>15</sup>N technique*

Laksmi Prima SANTI\*)

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Jl. Taman Kencana No.1, Bogor 16128, Indonesia

Diterima tgl 8 April 2013/Disetujui tgl 12 Juni 2013

### Abstract

*The ability to quantify the amounts of N<sub>2</sub> fixed in agricultural and crop plantation is critical to manage the N cycle for optimal food and crop production. Isotope and related nuclear technique such as <sup>15</sup>N isotope dilution technique has played a significant role in nutrient management analysis for quantify of biological N<sub>2</sub> fixation. The largest pool of N in the environment is atmospheric N<sub>2</sub> and it has a constant natural abundance of 0.3663 % atom <sup>15</sup>N. <sup>15</sup>N is a stable isotope of N and used as a unique tracer to evaluate the potential of N<sub>2</sub> fixing bacteria, especially symbiotic and non-symbiotic Rhizobacterium. Our field experiment has been initiated at IBRIEC to assess the N<sub>2</sub> fixing capacity of rhizobacterium isolated from sandy textured soil at Central Kalimantan and evaluate the potential of N<sub>2</sub> fixing bacteria on corn (*Zea mays*). Field experiment has been conducted at Ciomas Research Station, IBRIEC-Bogor for four months period. The field experiment has been organized according to the method of Randomized Complete Blocks Design with six treatments and three replicates respectively. The results of this study suggested that the method is reliable for estimation of % Ndfa as well as quantitative analysis of the amount of N fixed. The proportion of N<sub>2</sub> uptake that was derived from the atmosphere was estimated as 32% on the leaf, stem, and root plant basis. This fixed N<sub>2</sub> was equivalent to approximately 5.9 kg N/ha. The inoculation process increased the dry matter of the corn leaflets and root significantly.*

[Keywords: <sup>15</sup>N isotope, Rhizobacterium, *Zea mays*, N<sub>2</sub> fixation]

### Abstrak

Penetapan jumlah N<sub>2</sub> yang dapat ditambah secara kuantitatif merupakan suatu hal yang penting untuk mengatur siklus N sebagai upaya mencapai tingkat produktivitas yang optimal di bidang pangan dan perkebunan. Teknik isotop atau yang berhubungan dengan teknologi nuklir seperti isotop <sup>15</sup>N memiliki peran signifikan di dalam manajemen kebun berbasis nutrisi untuk mengkuantifikasi penambatan N<sub>2</sub> secara biologi. Cadangan N terbesar di dalam lingkungan adalah N<sub>2</sub> atmosfer. Cadangan ini memiliki kelimpahan alami yang stabil pada 0,3663 % atom <sup>15</sup>N. <sup>15</sup>N merupakan isotop yang stabil dan digunakan sebagai *tracer* yang bersifat spesifik untuk mengevaluasi bakteri penambat N<sub>2</sub> potensial, khususnya bakteri di daerah perakaran, baik yang bersifat simbiotik ataupun non simbiotik. Penelitian terkait dengan uraian di atas telah dilakukan di Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI) dengan tujuan untuk menetapkan kemampuan menambat nitrogen dari

*Rhizobacterium* yang diisolasi dari tanah tekstur berpasir asal Kalimantan Tengah serta mengevaluasi potensi bakteri dalam menambat N<sub>2</sub> pada tanaman jagung (*Zea mays*). Percobaan lapang dilakukan di Kebun Percobaan Ciomas, BPBPI selama empat bulan. Kegiatan di lapang didesain dalam Rancangan Acak Kelompok dengan enam perlakuan dan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode isotop <sup>15</sup>N dapat diaplikasikan untuk memperkirakan persentase N<sub>2</sub> yang ditambah dari atmosfer (Ndfa). Proporsi N yang diambil dari atmosfer diperkirakan sebesar 32% dari bagian daun, batang, dan akar tanaman jagung. Jumlah penambatan N<sub>2</sub> oleh inokulan *Rhizobacterium* ini setara dengan 5,9 kg N/ha. Perlakuan inokulasi dengan *Rhizobacterium* meningkatkan bobot kering daun dan akar jagung secara signifikan.

[Kata kunci: Isotop <sup>15</sup>N, *Rhizobacterium*, *Zea mays*, penambat N<sub>2</sub>]

### Pendahuluan

Penambatan N<sub>2</sub> secara biologi merupakan suatu proses yang melibatkan sejumlah spesies bakteri, khususnya bakteri rhizosfer yang memiliki enzim nitrogenase untuk mengubah N<sub>2</sub> atmosfer ke dalam bentuk amonia (NH<sub>3</sub>). Bentuk nitrogen (N) tersebut kemudian diinkorporasikan ke dalam komponen senyawa organik seperti protein dan asam nukleat bakteri atau tanaman inangnya. Laju penambatan N<sub>2</sub> tertinggi terjadi pada saat ketersediaan mineral N di dalam tanah dalam jumlah terbatas, sementara air dan nutrisi lainnya cukup tinggi. Beberapa kegiatan penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kemampuan menambat N<sub>2</sub> secara kuantitatif dari tanaman legum dan bakteri rhizosfer (Zakry *et al.*, 2012; Chalk *et al.*, 2010; Prodan *et al.*, 2009; Balog *et al.*, 2004). Penghitungan kemampuan menambat N<sub>2</sub> secara biologi tersebut pada umumnya bertujuan untuk: (i) menetapkan kemampuan tanaman uji dalam menambat N<sub>2</sub>, (ii) menetapkan apakah kegiatan manajemen pertanian dan perkebunan secara praktis memberikan pengaruh terhadap penambatan N<sub>2</sub>, (iii) menetapkan jumlah N<sub>2</sub> yang dapat ditambah oleh tanaman pertanian atau *cover crop* perkebunan di lapang (kg N/ha), dan (iv) menetapkan pentingnya penambatan N<sub>2</sub> terhadap fungsi suatu ekosistem (Unkovich *et al.*, 2008). Metodologi kuantifikasi penambatan N<sub>2</sub> dapat dilakukan secara cepat dan dalam jangka waktu periode penelitian yang terintegrasi. Periode waktu yang terintegrasi dengan penyiapan analisis N<sub>2</sub> pasca

\*) Penulis korespondensi: laksmi\_69@yahoo.co.id

panen biomas di laboratorium bertujuan untuk mengetahui jumlah total penambatan  $N_2$  dalam jangka waktu spesifik seperti bulan, siklus pertumbuhan tanaman, periode tanam, dan lain sebagainya (Unkovich *et al.*, 2008).

Metode larutan isotop  $^{15}N$  telah digunakan secara intensif untuk mengkuantifikasi penambatan  $N_2$  secara biologi. Teknik ini terbukti akurat dalam menetapkan penambatan  $N_2$  dari atmosfer dan asimilasi  $N_2$  yang terjadi di dalam tanah (Zakry *et al.*, 2012). Isotop  $^{15}N$  merupakan isotop yang bersifat stabil dan digunakan sebagai penanda yang unik untuk mempelajari penghitungan penambatan  $N_2$  secara biologi pada tanaman legum dan bakteri (Balog *et al.*, 2004). Penggunaan pupuk hayati yang mengandung bakteri penambat  $N_2$  non simbiotik untuk menurunkan dosis pupuk anorganik tanpa menurunkan produktivitas tanaman dan sekaligus mengurangi biaya pemupukan telah dibuktikan oleh beberapa hasil penelitian, baik untuk tanaman pangan maupun tanaman perkebunan (Goenadi *et al.*, 2005; Adiwiganda *et al.*, 2006; Santi *et al.*, 2007; Goenadi & Santi, 2009). Namun demikian, penelitian dan data mengenai jumlah  $N_2$  yang dapat ditambah oleh bakteri yang berasosiasi dengan tanaman non legum pertanian atau perkebunan di daerah tropis jumlahnya sangat terbatas (Unkovich *et al.*, 2008). Penelitian mengenai input N yang berasal dari penambatan  $N_2$  oleh bakteri pada tanaman tebu (10-65 kg N/ha/tahun) dan jagung (4,48-6,16 kg N/ha/periode tanam) masing-masing dilaporkan oleh Boddey *et al.*, (1995) dan Balog *et al.*, (2004).

Penelitian yang dilakukan di Kebun Percobaan Ciomas, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia ini bertujuan untuk mengetahui input N yang berasal dari penambatan  $N_2$  oleh *rhizobacterium* pada tanaman jagung secara kuantitatif dengan menggunakan teknik isotop  $^{15}N$ .

## Bahan dan Metode

### Mikroorganisme

*Rhizobacterium* yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari tanah tekstur berpasir di Kalimantan Tengah. Berdasarkan penelitian terdahulu, *Rhizobacterium* memiliki kemampuan menambat  $N_2$  dengan nilai penetapan analisis reduksi asetilen (*Acetylen Reduction Assay*) 227,1 nmol/jam/mL (Santi & Goenadi, 2012). Biakan dipelihara dalam agar miring berisi medium padat ATCC No.14 dengan komposisi (per liter medium):  $KH_2PO_4$  0,2 g;  $K_2HPO_4$  0,8 g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,2 g;  $CaSO_4 \cdot 2H_2O$  0,1 g;  $FeCl_3$  2,0 mg;  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  (trace); ekstrak kamir 0,5 g; sukrosa 20 g; dan bakto agar 15 g dengan pH 7,2.

Perbanyakan *Rhizobacterium* dilakukan dalam medium cair ATCC No. 14, dengan masa inkubasi 72 jam pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan inokulasi, inokulan ke dalam bahan pembawa campuran zeolit

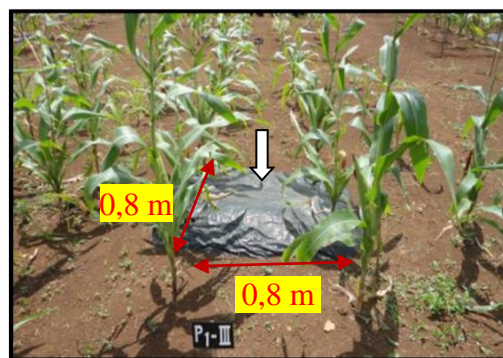
granul, bahan humik, dan *binding agent* (90:2:5) yang sebelumnya sudah dipasterurisasi terlebih dahulu. Untuk keperluan aplikasi dengan isotop  $^{15}N$ , populasi *Rhizobacterium* minimal  $10^9$  cfu per gram produk.

### Uji efikasi penambatan $N_2$

Tanaman jagung yang digunakan adalah varietas Bisma. Mikroplot pengujian penambatan  $N_2$  *rhizobacterium* secara kuantitatif dengan teknik isotop  $^{15}N$  disajikan pada Gambar 1. Plot utama berukuran 4 m x 4 m, sementara plot untuk perlakuan dengan isotop  $^{15}N$  (mikro-plot) berukuran 0,8 m x 0,8 m. Percobaan dilakukan dalam pola acak kelompok dengan ulangan tiga kali di areal tanam dengan luas total lebih kurang 300 m<sup>2</sup> (4 m x 4 m x 6 perlakuan x 3 ulangan).

Tahap awal kegiatan penelitian penambatan  $N_2$  adalah melakukan analisis kandungan hara tanah media tanam jagung di lapang. Fraksi tanah Ultisol Ciomas mengandung klei (50,1%); pH (5,2); C-organik (1,98); N (0,21%); MgO (0,052%); CaO (0,048%);  $P_2O_5$  (0,085 ppm); P-Bray (0,32 ppm);  $K_2O$  (0,27 ppm); dan KTK (18,07 me/100 g). Pelaksanaan pemupukan tanaman jagung dilakukan dua kali, dengan dosis rekomendasi ZA 400 kg/ha; SP-18 300 kg/ha, dan KCl 100 kg/ha. Pemupukan tahap pertama dengan pemberian pupuk ZA, SP-18, dan KCl (100% dosis standar) masing-masing 2,5, 5,6, dan 1,12 g/tanaman dilaksanakan tujuh hari setelah tanam. Sedangkan tahap pemupukan kedua dengan pupuk ZA dan KCl masing-masing 5,0 dan 0,75 g/tanaman, dilakukan 30 hari setelah tanam. Uji efikasi, larutan amonium sulfat yang telah diberi label  $^{15}N$  ( $^{15}NH_4$ )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan kelimpahan 10,13% diaplikasikan secara merata pada bagian plot yang telah dirancang sebagai plot pemberian isotop (mikro-plot) dengan dosis rata-rata 5 kg N/ha atau setara dengan 0,5 g N/m<sup>2</sup>.

Plot kemudian ditutup dengan lembaran plastik jenis polietilen berwarna hitam. Dosis aplikasi  $^{15}N$  ( $^{15}NH_4$ )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan kelimpahan 10,13% perlakuan penutupan dengan lembaran plastik bertujuan untuk



Gambar 1. Mikroplot (tanda panah)  
Figure 1. Microplot (arrow)

mengurangi penguapan dan *run off* atau infiltrasi ke bagian bawah lapisan tanah yang disebabkan faktor lingkungan pada pupuk berlabel <sup>15</sup>N. Dosis aplikasi pupuk tunggal dan inokulan untuk pengujian efikasi pada tanaman jagung disajikan secara lengkap pada Tabel 1. Peubah yang diamati meliputi: (i) tinggi tanaman, (ii) jumlah daun, dan (iii) bobot kering daun, batang, akar. Untuk mengetahui pengaruh pemberian inokulan *Rhizobacterium* terhadap respons yang diamati, maka dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam, kemudian dilanjutkan pengujian lanjutan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf uji 5 %. Pengamatan pertumbuhan vegetatif tanaman jagung (tinggi tanaman dan jumlah daun) dan produktivitas tanaman (bobot biji kering pipil) dilakukan pada satu musim tanam. Pengambilan sampel dilakukan pada saat pertumbuhan vegetatif jagung telah mencapai puncaknya dan mendekati masa panen (75 hari setelah tanam). Sebanyak empat tanaman jagung dalam areal mikro-plot untuk masing-masing plot percobaan dipanen secara terpisah pada bagian daun, batang, dan akar. Berat basah dan berat kering oven (70 °C selama 72 jam) tanaman jagung dicatat dan disimpan sebagai data pendukung pertumbuhan vegetatif. Sampel kering kemudian digiling sampai berukuran saring 80 mesh untuk keperluan analisis total N dengan metode

Kjeldahl dan analisis kelimpahan atom % <sup>15</sup>N menggunakan emisi NOI-6PC spektrometer. Analisis dilakukan di Lembaga Nuklir Malaysia. Penetapan penambatan N<sub>2</sub> di dalam bagian daun, batang, dan akar tanaman jagung diperhitungkan dari kelimpahan berat atom (WAE= *weighted atom excess*) pada perlakuan inokulasi dengan *Rhizobacterium* dan tanpa perlakuan inokulasi mengikuti persamaan [1] sampai [4].

### Hasil dan Pembahasan

#### Uji efikasi penambatan N<sub>2</sub>

Pada umumnya kegiatan riset untuk menetapkan penambatan N<sub>2</sub> dilakukan pada tanaman berumur pendek untuk menghindari kesalahan prediksi antara penambatan N<sub>2</sub> yang disimpan di dalam perakaran, sebagai eksudat perakaran di dalam tanah, atau N yang dihasilkan dari pelapukan akar. Isotop <sup>15</sup>N terdapat dalam N<sub>2</sub> atmosfer dengan kelimpahan yang stabil dan nilai atom 0,3663% (Mariotti, 1983). Kelimpahan isotop <sup>15</sup>N dinyatakan sebagai suatu persentase dari N total (atom% <sup>15</sup>N). Jumlah N<sub>2</sub> yang dapat ditambat utamanya berpengaruh terhadap pertumbuhan dan bobot kering tanaman. Lebih lanjut dikemukakan oleh Unkovich *et al.* (2008) bahwa penambatan N<sub>2</sub> oleh bakteri akan optimal jika kandungan C organik di

Tabel 1. Dosis pupuk NPK tunggal dan inokulan untuk tanaman jagung.  
Table 1. Single NPK fertilizer and inoculant dosages for corn.

Perlakuan <i>Treatments</i>	Dosis (g/tanaman) 7 hari setelah tanam <i>Dosages (g/plant) 7 days after planting</i>				Dosis (g/tanaman) 30 hari setelah tanam <i>Dosages (g/plant) 30 days after planting</i>			
	ZA	SP-18	KCl	Inokulan <i>Inoculant</i>	ZA	SP-18	KCl	Inokulan <i>Inoculant</i>
P1	-	-	-	5 g carrier	-	-	-	-
P2	2,50	5,6	1,12	-	5,0	-	0,75	-
P3	1,25	2,8	0,30	-	2,5	-	0,60	-
P4	2,50	5,6	1,12	5	5,0	-	0,75	-
P5	1,25	2,8	0,30	5	2,5	-	0,60	-
P6	-	-	-	5	-	-	-	-

$$WAE = \frac{AE (daun) \times TN (daun) + AE (batang) \times TN (batang) + AE (akar) \times TN (akar)}{TN (daun + batang + akar)} \times 100 \quad [1]$$

Dimana : AE (% <sup>15</sup>N) dan TN (N total) diperoleh dari analisis dengan NOI-6PC spektrometer.

$$\% Ndfa = \left[ 1 - \frac{WAE \text{ tanaman jagung yang diinokulasi}}{WAE \text{ tanaman jagung tanpa inokulasi}} \right] \times 100 \quad [2]$$

$$\% Ndff = \left[ \frac{{}^{15}N \text{ atom excess tanaman jagung yang diinokulasi}}{{}^{15}N \text{ atom excess fertilizer (10.13) - faktor koreksi (0.3663)}} \right] \times 100 \quad [3]$$

$$\% Ndfs = 100 - \% Ndfa - \% Ndff \quad [4]$$

(soil)

Keterangan (*Notes*): WAE = Weight Atom Axxess  
AE = Atom Axxess  
TN = Total Nitrogen

dalam tanah cukup melimpah, dan mineral N terdapat dalam jumlah terbatas. Berdasarkan hasil analisis tanah, diketahui bahwa kadar C-organik di lokasi pengujian ini tergolong rendah dengan kadar N total tanah tergolong sedang. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dipastikan kemampuan menambat N<sub>2</sub> dari inokulan *Rhizobacterium* juga akan tergolong rendah.

Penggunaan teknik radio isotop <sup>15</sup>N secara teoritis dapat mengidentifikasi penambatan hara N dari tanah dan udara. Teknik ini dapat diterapkan secara praktis untuk pengujian di rumah kaca, pembibitan, dan lapang (Amir *et al.*, 2003; Samba *et al.*, 2002). Teknik sederhana untuk menetapkan efektivitas penambatan N<sub>2</sub> di dalam suatu riset adalah dengan membandingkan pertumbuhan tanaman melalui perlakuan pemupukan dan tanpa pemupukan N di bawah kondisi tanah yang miskin N mineral. Tiga hal utama yang diperlukan dalam mengkuantifikasi penambatan N<sub>2</sub> oleh bakteri yaitu data bobot kering tanaman, konsentrasi N di dalam bobot kering tanaman, dan persentase total N tanaman yang diperoleh dari penambatan N<sub>2</sub> (%Ndfa).

Pada demplot perlakuan kegiatan penelitian dengan menggunakan isotop <sup>15</sup>N diketahui bahwa total bobot kering tertinggi tanaman jagung var. Bisma diperoleh dari perlakuan pemberian 100% dosis standar atau setara dengan 7,5 g (ZA); 5,6 g (SP-18); dan 1,87 (KCl) yang dikombinasikan dengan penambahan 5 g inokulan/tanaman. Pada perlakuan ini, bobot kering daun dan akar meningkat signifikan masing-masing 33,3 dan 22,2 g dengan penambahan inokulan bakteri apabila dibandingkan dengan perlakuan 100% dosis standar pupuk NPK tunggal tanpa inokulan (28,0 dan 14,6 g). Demikian halnya dengan total bobot kering tanaman meningkat sebesar 2,9% (Tabel 2).

Serapan hara N sebagian besar (40,5 – 68,2%) terkonsentrasi pada bagian daun tanaman jagung, diikuti pada bagian batang (18,3-51,6%) dan akar (7,9-14,7%). Serapan N total tertinggi diperoleh dari perlakuan 100% dosis standar atau setara dengan 7,5 g (ZA); 5,6 g (SP-18); dan 1,87 (KCl) yang dikombinasikan dengan penambahan 5 g inokulan. Serapan hara N (total) ini meningkat sebesar 20,5% apabila dibandingkan perlakuan 100% dosis standar pupuk NPK tunggal tanpa inokulan (Tabel 3). Nilai serapan hara N yang di label menunjukkan fenomena yang sama yaitu dengan distribusi utama terkonsentrasi secara berturut-turut di bagian daun, batang, dan akar (Tabel 4). Konsentrasi hara N lebih banyak terdapat di bagian daun tanaman mendukung hasil penelitian Dong *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa konversi hara N menjadi asam amino terutama terjadi di bagian daun tanaman.

Perlakuan 100% dosis pupuk NPK tunggal yang dikombinasikan dengan 5 g inokulan/tanaman menghasilkan nilai WAE (*weighted %<sup>15</sup>N atom excess*) yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan perlakuan yang sama tanpa inokulan. Nilai WAE ini menyatakan kelimpahan <sup>15</sup>N yang terkandung di dalam bahan tanam dari suatu perlakuan yang diberikan. Selanjutnya WAE digunakan untuk menetapkan peran *Rhizobacterium* dalam menambat N<sub>2</sub> dari setiap perlakuan yang diberikan (Tabel 5.). Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 5 diketahui bahwa kontribusi penambatan N<sub>2</sub> oleh *Rhizobacterium* pada kondisi lapang memiliki potensi 32% atau setara dengan 0,089 g N/tanaman. Dengan asumsi jumlah tanaman jagung sebanyak 66.666 tanaman/ha, maka kebutuhan N yang dapat dipenuhi dari penambatan N<sub>2</sub> atmosfer oleh aktivitas *Rhizobacterium* sebesar 5,9 kg N/ha.

Tabel 2. Pertumbuhan vegetatif dan biomassa tanaman jagung var. Bisma, 75 hari setelah tanam.

Table 2. The vegetative growth and biomass of corn Bisma variety, 75 days after planting.

Perlakuan Treatments	Hasil (Results)						
	Tinggi Height (cm)	Jumlah daun Leaf number (helai)	Rata-rata bobot kering (gram/tanaman) Dry weight average (gram/plant)				Total Total
			Daun leaf	Batang stem	Akar root	Total	
5 g bahan pembawa ( <i>carrier</i> )	78,2 c <sup>*)</sup>	11,2 b	5,1 d	11,4 c	3,0 d	19,5	
100% dosis standar N (7,50 g ZA/tan) 100% of standard dosages of N (7.5 g ZA/plant)	156,6 a	14,4 a	28,0 b	41,4 a	14,6 b	84,0	
50% dosis standar N (3,75 g ZA/tan) 50% standard dosages of N (3.75 g ZA/plant)	126,4 b	13,8 a	14,2 c	24,8 b	8,4 c	47,4	
100% dosis standar + 5 g inokulan 100% of standard dosages of N + 5 g inoculant	150,8 a	14,0 a	33,3 a	31,0 b	22,2 a	86,5	
50% dosis standar + 5 g inokulan 50% standard dosages of N + 5 g inoculant	141,2 ab	14,2 a	27,1 b	28,3 b	13,6 bc	69,0	
5 g inokulan ( <i>inoculant</i> )	83,2 c	11,0 b	6,2 d	27,2 b	3,8 d	37,2	
Koefisien keragaman ( <i>Coefficient variable</i> ) (%)	11,7	4,1	13,6	11,1	11,7		

<sup>\*)</sup> Angka dalam kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak ganda Duncan (P<0,05). (Numbers in the same column followed by similar letter(s) are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test (P<0.05)).

Tabel 3. Serapan hara N (g/tanaman) dan distribusinya pada tanaman jagung varietas Bisma, 75 hari setelah tanam.  
 Table 3. N nutrient absorption (g/plant) and their distribution in corn Bisma variety, 75 days after planting.

Perlakuan Treatments	Serapan hara N (g/tanaman) Absorbtion of N nutrient (g/plant)			
	Daun Leaf	Batang Stem	Akar Root	N total Total of N
5 g bahan pembawa (carrier)	0,098 (52,4*)	0,069 (36,9)	0,020 (10,7)	0,187
100% dosis standar N (7,50 g ZA/tan) 100% of standard dosages of N (7.5 g ZA/plant)	0,431 (61,9)	0,195 (28,0)	0,070 (10,1)	0,696
50% dosis standar N (3,75 g ZA/tan) 50% standard dosages of N (3.75 g ZA/plant)	0,219 (57,3)	0,119 (31,2)	0,044 (11,5)	0,382
100% dosis standar N + 5 g inokulan 100% standard dosages of N + 5 g inoculant	0,573 (65,4)	0,174 (19,9)	0,129 (14,7)	0,876
50% dosis standar N + 5 g inokulan 50% standard dosages of N + 5 g inoculant	0,444 (68,2)	0,119 (18,3)	0,088 (13,5)	0,651
5 g inokulan (inoculant)	0,113 (40,5)	0,144 (51,6)	0,022 (7,9)	0,279

\* Nilai persen terhadap total seluruh bagian tanaman (Percent value to the total of whole plant)

Tabel 4. Distribusi eksese atom  $^{15}\text{N}$  pada bagian yang berbeda dan kelimpahan berat atom (WAE) untuk seluruh bagian tanaman jagung.

Table 4. Distribution of  $^{15}\text{N}$  atom excess in different plant parts and the average weighted atom excess (WAE) for the whole corn plant.

Perlakuan Treatments	Rata-rata eksese atom $^{15}\text{N}$ $^{15}\text{N}$ atom excess average			
	Daun leaf	Batang stem	Akar Root	WAE
5 g bahan pembawa (carrier)	1,032	0,979	0,776	96,0
100% dosis standar N(7,50 g ZA/tan) 100% of standard dosages of N (7.5 g ZA/plant)	0,930	0,779	0,619	83,9
50% dosis standar N (3,75 g ZA.tan <sup>-1</sup> ) 50% standard dosages of N (3.75 g ZA/plant)	0,979	0,801	0,723	89,0
100% dosis standar N + 5 g inokulan 100% standard dosages of N + 5 g inoculant	0,955	0,858	0,845	111
50% dosis standar N + 5 g inokulan 50% standard dosages of N + 5 g inoculant	0,975	0,706	0,704	87,1
5 g inokulan (inoculant)	0,683	0,620	0,583	64,9

Tabel 5. Pendugaan proporsi Ndf atmosfer (Ndfa), Ndf fertilizer (Ndff), dan Ndf soil (Ndffs) pada tanaman jagung dengan inokulasi *Rhizobacterium*.

Table 5. Estimates of proportion Ndf atmosfer (Ndfa), Ndf fertilizer (Ndff), and Ndf soil (Ndffs) in corn with *Rhizobacterium* inoculation.

Perlakuan Treatments	Proporsi (Proportion) (%)		
	Ndfa	Ndff	Ndffs
100% dosis standar N + 5 g inokulan 100% standard dosages of N + 5 g inoculant	-	27,2	72,8
50% dosis standar N + 5 g inokulan 50% standard dosages of N + 5 g inoculant	3	24,4	72,6
5 g inokulan (inoculant)	32	19,3	48,7

Hasil yang diperoleh dari pengujian penambatan  $\text{N}_2$  dengan menggunakan teknik radioisotop memperkuat asumsi teoritis bahwa laju penambatan  $\text{N}_2$  akan meningkat ketika ketersediaan mineral N di dalam tanah untuk tanaman jumlahnya terbatas tetapi ketersediaan air dan nutrisi lainnya cukup terpenuhi.

Terdapat mekanisme timbal balik yang cukup efektif dalam proses penambatan  $\text{N}_2$  dari atmosfer oleh bakteri dimana laju penambatan secara progresif akan menurun dengan meningkatnya ketersediaan mineral N di dalam tanah. Penelitian ini mendukung hasil yang diperoleh Balog *et al.* (2004) pada pengujian dengan tanaman

jagung dan diperoleh hasil penambatan  $N_2$  oleh aktivitas *Azospirillum* sp sebesar 4,48-6,16 kg N/ha/periode tanam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kebutuhan N untuk tanaman jagung yang dapat dipenuhi dari pemberian pupuk 100 dan 50% dosis standar tidak berbeda nyata, yaitu masing-masing menyumbang 27,2 dan 24,4%. Sebagian besar hara N pada perlakuan pemberian pupuk dipenuhi dari tanah (72,6 – 72,8%). Kondisi ini dapat dikoreksi dari nilai Ndfs pada perlakuan pemberian 5 g inokulan tanpa pupuk anorganik yang menyumbang hara N dari tanah sebesar 48,7%.

### Kesimpulan

Total bobot kering biomassa dan serapan hara N tanaman jagung tertinggi pada uji efikasi dengan isotop dihasilkan dari perlakuan 100% dosis standar yang dikombinasikan dengan pemberian 5 gram inokulan/tanaman. Serapan hara N terdistribusi di bagian daun (40,5-68,2%), batang (18,3-51,6%) dan akar (7,9-10,1%). Dengan teknik isotop  $^{15}N$  dapat diperoleh konfirmasi bahwa sebaran dan akumulasi hara N terutama terdapat di bagian daun tanaman jagung. Peran rhizobacterium terhadap penambatan  $N_2$  dari udara terlihat nyata pada perlakuan pemberian 5 gram inokulan/tanaman dengan nilai Ndfatmosfer (Ndfa) 32; Ndffertilizer (Ndff) 19,3, dan Ndfsoil (Ndfs) 48,7%. Kebutuhan N untuk tanaman jagung yang dapat dipenuhi dari penambatan  $N_2$  atmosfer oleh *Rhizobacterium* setara dengan 5,9 kg N/ha dalam satu periode tanam.

### Daftar Pustaka

- Adiwiganda YT, B Tarigan & B Purba (2006). Effect of biofertilizer on mature oil palm in North Sumatra and Riau. *Ind J Agric Sci* 7(1), 20-26.
- Amir HG, ZH Shamsuddin, MS Halimi, MF Ramlan & M Marziah (2003).  $N_2$  fixation, nutrient accumulation and plant growth promotion by rhizobacteria in association with oil palm seedlings. *Pakistan J Biol Sci* 6, 1269-1272.
- Balog RM, CM Rosales, FG Rivera & JA Anarna (2004). The use of nuclear techniques in the assessment of Bio-N fertilizer as seed inoculant for corn in the province of Isabela, Philippines. *FNCA Biofertilizer Workshop in Vietnam*. January 24-28, 2004.
- Boddey RM, O de Oliveira, B Alves & S Urquiaga (1995). Field application of the  $^{15}N$  isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. *Fertilizer Res* 42, 77-87.
- Chalk PM, BJ R Alves, RM Boddey & S Urquiaga (2010). Integrated effects of abiotic stresses on inoculant performance, legume, growth and symbiotic dependence estimated by  $^{15}N$  dilution. *Plant Soil* 328, 1-16.
- Dong Y, AL Iniguez & EW Triplett (2003). Quantitative assessments of the host range and strain specificity of endophytic colonization by *Klebsiella pneumoniae*. *Plant Soil* 257, 49-59.
- Goenadi DH, YT Adiwiganda & LP Santi (2005). Development technology and commercialization of EMAS (Enhancing Microbial Activity in the Soils) biofertilizer. Forum for Nuclear Cooperation in Asia *Biofertilizer Newsletter*. Issue No. 6, November 2005.
- Goenadi DH (2006). *Pupuk dan Teknologi Pemupukan Berbasis Hayati : dari Cawan Petri ke Lahan Petani*. Yayasan John Hi-Tech Idetama. 220p.
- Goenadi DH & LP Santi (2009). Introduction of microbial inoculants to improve fungsional relationship between above- and below-ground bio-diversity. *Menara Perkebunan*. 77(1): 58-67.
- Mariotti A (1983). Atmospheric nitrogen is a reliable standard for  $^{15}N$  natural abundance measurements. *Nature* 303, 685-687.
- Prodan I, M Prodan & A Popescu (2009). *Quantitative assessment of biologically fixed nitrogen by some bacteria strains of Rhizobium for beans, using the isotopic method*. Romanian Agricultural Research. Agriculture Research Station, Teleorman County, Romania. Pp. 85-97.
- Samba RT, SN Sylla, M Neyra, M Gueye, B Dreyfus & I Ndoye (2002). Biological nitrogen fixation in *Crotalaria* species estimated using the  $^{15}N$  isotope dilution method. *African J Biotech* 1, 7-22.
- Santi LP, Sumaryono & DH Goenadi (2007). Evaluasi aplikasi biofertilizer emas pada tanaman jagung di Pelaihari, Kalimantan Selatan. *Bul Agr* 35(1), 22-27.
- Santi LP & DH Goenadi (2012). Analisis Potensi Mikroorganisme. *Laporan Akhir Kerjasama Riset PT Astra Agro Lestari, Tbk*. Bogor, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia. 31p.
- Unkovich M, D Herridge, M Peoples, G Cadisch, B Boddey, K Giller, B Alves & P Chalk (2008). Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) *Monograph* No. 136, 258 pp.
- Zakry FAA, ZH Shamsuddin, K. Rahim, Z Z Zakaria & AA Rahim (2012). Inoculation of *Bacillus sphaericus* UPMB-10 to young oil palm and measurement of its uptake of fixed nitrogen using the  $^{15}N$  isotope dilution technique. *Microbes Environ* 27(3), 257-262.