

**BIOTEKNOLOGI DAN KEHARAAN TANAMAN
(Mikroorganisme, Nitrogen dan Fosfor)**

Riyo Samekto

PENGANTAR

Perhatian manusia terhadap lingkungan hidup kini semakin besar. Akibatnya segala usaha, termasuk pertanian mengarah pada pemanfaatan energi yang seefisien mungkin. Di lain pihak, manusia semakin terdesak oleh tuntutan pengadaan bahan pangan karena tekanan penduduk yang selalu meningkat. Pengadaan bahan pangan dengan memanfaatkan sumberdaya yang ada ini selalu dibayangi oleh krisis energi yang akan terjadi dimasa mendatang. Oleh karena itu perlu usaha-usaha alternatif dalam pengadaan bahan pangan atau usaha pertanian yang selaras dengan usaha pelestarian sumberdaya yang ada. Sehingga muncul istilah-istilah sustainable agriculture, low input management technology dan lain-lain, yang artinya dalam garis besar adalah peningkatan produksi pertanian dengan masukan sumberdaya yang rendah. Bioteknologi merupakan salah satu teknologi masukan rendah karena mempunyai skala ruang dan waktu yang tak terbatas.

Menurut Federasi Bioteknologi Eropa pada bulan September 1981, Bioteknologi diartikan sebagai penerapan biokimia, mikrobiologi dan ilmu teknik dalam satu kesatuan untuk menerapkan teknologi mikroorganisme, kultur jaringan dan bagian-bagiannya. Sedang, bioteknologi tanah merupakan studi dan manipulasi organisme dalam tanah dan proses metabolismenya untuk produktivitas tanaman (Lynch, 1983). Oleh karena itu, mikrobiologi, patologi tanaman, kimia, fisika, biokimia, genetika, fisiologi tanaman, agronomi dan ilmu tanah merupakan bidang ilmu yang terkait dalam bioteknologi disamping yang utama, kultur jaringan dan rekayasa genetika.

Pemahaman terhadap biokimia dan mikrobiologi tanah sangat penting dalam pemanfaatan organisme dalam keharaan tanaman. Diantara proses-proses alam yang mendapat perhatian dan sekarang telah banyak diteliti ialah mineralisasi karbon, fiksasi nitrogen, oksidasi sulfur, mikoriza, nitrifikasi dan denitrifikasi (Paul and Clark, 1989). Pengetahuan berbagai siklus dan interaksi karbon, nitrogen, fosfor,

BIOTEKNOLOGI DAN KEHARAAN TANAMAN (Mikroorganisme, Nitrogen dan Fosfor)

sulfur dan unsur mikro diperlukan untuk mengetahui dukungan tanah terhadap pertumbuhan tanaman (Stevenson, 1986). Dengan demikian, semakin dalam pemahaman biokimia dan mikrobiologi tanah serta proses-proses yang berkaitan, akan semakin besar pula peluang pemanfaatannya dalam peningkatan kesuburan tanah dan produksi tanaman.

Cabang bioteknologi luas sekali, seperti bioteknologi industri, bioteknologi lingkungan, bioteknologi kesehatan, bioteknologi pertanian dan lain-lain. Namun dalam tulisan ini hanya akan dibahas tentang hubungan bioteknologi dan keharaan tanaman, dan hanya khusus peranan mikroorganisme terhadap nitrogen dan fosfor.

BIOTEKNOLOGI DAN NITROGEN

Sebagian nitrogen dalam tanah berasal dari nitrogen bebas dari udara dan sebagian kecil berasal dari bahan organik. Nitrogen bebas dari udara dapat masuk kedalam tanah melalui berbagai cara, yaitu (1) penambatan oleh jasad renik, baik yang simbiotik maupun non simbiotik; (2) melalui air hujan; dan (3) melalui pupuk yang diberikan kedalam tanah. Tanaman dapat menyerap nitrogen dalam bentuk NH_4^+ dan NO_3^- . Ion-ion tersebut berasal dari proses transformasi bentuk organik maupun pupuk. Transformasi ini melalui tahap-tahap, yaitu mineralisasi, nitrifikasi, denitrifikasi dan sebagainya.

Persamaan kesetimbangan nitrogen dalam tanah sebagai berikut (Greenland, 1977) :

$$\Delta N = F_s + F_n + M + D + R - C - L - V - E$$

- ΔN = Perubahan kandungan nitrogen dalam tanah kurun waktu tertentu
 F_s = Fiksasi nitrogen simbiotik
 F_n = Fiksasi nitrogen non simbiotik
 M = Nitrogen yang ditambahkan dari pupuk hijau, dan lain-lain
 D = Nitrogen yang berasal dari debu
 R = Nitrogen yang berasal dari hujan
 C = Nitrogen yang diangkut oleh tanaman

- L = Nitrogen hilang oleh pelindihan
V = Nitrogen hilang oleh fiksasi
E = Nitrogen hilang bersama tanah yang tererosi

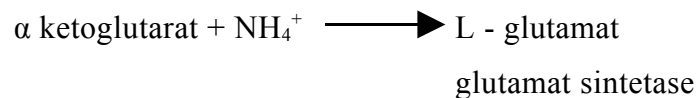
Dengan cara membatasi atau meniadakan beberapa faktor, masing-masing dapat ditentukan.

A. Transformasi Nitrogen

Ada tiga bentuk utama N organik, yaitu protein, Nitrogen dalam dinding sel seperti chitin dan peptidoglikan, dan asam nukleat.

Mineralisasi nitrogen organik ialah proses degradasi protein, gula amino, asam nukleat menjadi NH_4^+ yang berbentuk nitrogen mineral. Amonium terimobilisasi atau terakumulasi dalam tanah tergantung kebutuhan nitrogen mikroorganisme untuk tumbuh. Nisbah karbon nitrogen sel jamur lebih besar daripada nisbah karbon nitrogen mikroorganisme lain. Biasanya kisaran nisbah karbon nitrogen jamur antara 15 : 1 dan 4,5 : 1, sedang bakteri antara 3 : 1 dan 5 : 1 (Paul dan Clark, 1989). Apabila nisbah C : N bahan organik jauh lebih besar dari nisbah C : N mikroorganisme maka NH_4^+ terimobilisasi dan tak tersedia untuk tanaman.

Contoh reaksi imobilisasi sebagai berikut :



Kalau NH_4^+ terbentuk ada sejumlah jalur yang memungkinkan untuk menguraikan ion tersebut, yaitu :

1. diambil oleh tanaman
2. digunakan oleh mikroorganisme kalau terdapat sumber karbon yang berlebihan atau nisbah C : N tinggi

BIOTEKNOLOGI DAN KEHARAAN TANAMAN (Mikroorganisme, Nitrogen dan Fosfor)

3. diikat dalam kompleks pertukaran dan dapat ditukar oleh kation dalam larutan tanah
4. dapat tersemat menggantikan K^+ dalam koloid lempung tipe 2 : 1
5. bereaksi dengan humus membentuk kompleks guinon $-NH_2$
6. mengalami volatilisasi
7. mengalami proses nitrifikasi

Bentuk nitrogen lain yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman adalah NO_3^- . Ion ini berasal dari proses nitrifikasi oleh mikroorganisme dengan memanfaatkan NH_4^+ sebagai substrat. Mikroorganisme pelaku nitrifikasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Daftar mikroorganisme pelaku nitrifikasi

Genus	Spesies	Habitat
$NH_4^+ \rightarrow NO_2^-$		
<i>Nitrosomonas</i>	<i>europa</i>	tanah, air, limbah
<i>Nitrospira</i>	<i>briensis</i>	tanah
<i>Nitrosococcus</i>	<i>nitroaus</i>	laut
<i>Nitrosovibrio</i>	<i>oceanus</i>	laut
	<i>mobilis</i>	tanah
	<i>tennis</i>	tanah
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$		
<i>Nitrobacter</i>	<i>Winogradskyi</i>	tanah
<i>Nitrospira</i>	<i>agilis</i>	tanah, air
<i>Nitrococcus</i>	<i>gracilis</i>	laut
	<i>mobilis</i>	laut

Sumber : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology dalam Paul dan Clark (1989)

Disamping mikroorganismenya tersebut diatas, ada bakteri dan aktinomycetes heterotrof yang mampu menghasilkan NO_2^- dari NH_4^+ . Beberapa bakteri seperti Arthrobacter, dan jamur seperti Aspergillus dapat menghasilkan NO_3^- dari NH_4^+ .

Nitrat mudah hilang dalam tanah melalui pencucian dan reduksi. Penelitian telah dikembangkan dalam menemukan suatu zat inhibitor untuk menghambat nitrifikasi. Beberapa zat inhibitor dapat dilihat pada tabel 2. Dengan demikian diharapkan akan terbentuk nitrat yang sedikit dengan perlakuan inhibitor tersebut.

Megrew dan Knowles (1987) mengemukakan bahwa bakteri metanotrof menghambat bakteri nitrifikasi. Penghambatan ini berhubungan dengan kompetisi O_2 dan kebutuhan asimilasi yang tinggi dari bakteri metanotrof.

Tabel 2. Beberapa inhibitor nitrifikasi

Nama	Prosedur	Penghambatan (% pada hari ke 14)
N - Serve	Dow Chemical	82
ATC	Ishihada Industries	78
CL - 1580	American Cyanamid	65
Dicyan	Showa Denko	53
TU	Nitto Ryuso	41
MT	Nippon	32
AM	Mitsui Toatsu	31
ST	Mitsui Toatsu	31

Sumber : Bundy dan Bremner (1973) dalam Paul dan Clark (1989)

Di Swedia, dalam hutan pinus dilaporkan bahwa mikro dan mesofauna menghasilkan 10 - 49% mineralisasi nitrogen ($28 \text{ kg ha}^{-1} \text{ tahun}^{-1}$) yang 70%

dari yang dihasilkan oleh mikro dan mesofauna ini dihasilkan oleh kelompok nematoda dan protozoa (Lee dan Pankhurst, 1992).

Cacing tanah dapat mempengaruhi suplai unsur hara baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung dapat terjadi apabila cacing tanah mati dan melepas unsur hara atau unsur hara dilepas selama proses pertumbuhan cacing tanah muda yang mempunyai proses pencernaan yang cepat. Jumlah N yang dilepas setiap tahun kedalam tanah, yang sebagian besar sebagai protein jaringan tubuhnya dan sebagai ekskresi berbentuk urea, asam urat dan amonia, diperkirakan sebesar 18 sampai 92 kg ha⁻¹, tergantung pada jumlah dan aktivitasnya (Syers dan Springett, 1984). Sedang pengaruh tidak langsung ialah terhadap distribusi akar dan memperbesar aktivitas mikroorganisme. Urease dan enzim-enzim lain seperti phosphatase ditemukan dalam ekskresi cacing tanah, khususnya L. rubellus dan A. caliginosa (Syers dan Spingett, 1984) . Budidaya cacing tanah telah banyak di. pelajari pula (Handreck dan Lee, 1991).

B. Fiksasi Nitrogen

Kemampuan fiksasi nitrogen secara biologis terbatas pada jasad prokariotik, yaitu bakteri dan blue-green- algae.

Berdasarkan pengetahuan yang dicapai saat ini, beberapa species dalam 11 famili bakteri dan beberapa species dari 8 famili Eyanophyceae dapat melakukan proses fiksasi N₂ (Warner, 1980 *dalam* Marschner, 1986). Menurut sumber energi dan kemampuan fiksasi sistem fiksasinya dalam tanah, jenis-jenis organisme tersebut dibagi dalam 3 golongan, yaitu : simbiotik, asosiatif dan hidup bebas (Tabel 3).

Tabel 3. Jenis, sumber energi dan kemampuan system fiksasi N₂ mikroorganisme

Sistem Fiksasi	Contoh Organisme Yang Terlibat	Sumber Energi (C—Org)	Kemampuan Fiksasi (N ha⁻¹ tahun⁻¹)
Simbiosis	<i>Rhizobium</i> , <i>Actinomyces</i>	Sukrosa & karbohidrat lain dalam inang	legum : 57 - 600 non legum: 2-300
Asosiatif	<i>Azospirillum</i> <i>Azotobacter paspali</i>	Eksudat akar Tanaman inang	12 – 313
Hidup bebas	<i>Azotobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Rhodospirillum</i>	Heterotrof : residu tanaman autotrof : Fotosintesis	25

Sumber : Evans dan Barber (1977) dalam Marchner (1986)

1. Fiksasi Nitrogen Simbiotik

a. Ekologi mikroorganisme simbiotik

Studi tentang efektivitas fiksasi nitrogen diperlukan untuk memperoleh jasad, teknik dan hal-hal lain yang berkaitan dengan peningkatan perolehan nitrogen dan produktivitas tanaman. Oleh karena itu studi efektivitas ini meliputi studi tentang ekologi, seleksi strain, biokimia dan genetika, teknik inokulasi, pengukuran, pengujian di lapangan dan studi-studi yang berkaitan lainnya.

Kaitan antara rhizobium dan lingkungannya dapat dikelompokkan ke dalam 2 kelompok, yaitu organisme dalam habitat tanah dan tempat bakteri dalam bintil. Salah satu masalah dalam mempelajari ekologi jasad simbiotik nitrogen ialah keterbatasan pengetahuan tentang metode. Prosedur yang umumnya digunakan ialah dengan menanam tanaman dan

BIOTEKNOLOGI DAN KEHARAAN TANAMAN (Mikroorganisme, Nitrogen dan Fosfor)

mengamati pengaruhnya terhadap peningkatan hasil dan pembentukan bintil (Alexander, 1977), tetapi teknik ini belum cukup kalau digunakan untuk mempelajari ekologi. Teknik lain untuk mempelajari ekologi ialah dengan menggunakan peralatan yang banyak untuk menghitung nodulasi. Tetapi teknik ini kurang sensitif digunakan dalam jumlah populasi yang rendah dan biasanya tidak dapat dilakukan di daerah-daerah tropik negara-negara yang sedang berkembang karena keterbatasan peralatan (Alexander, 1977).

Teknik serologi, immunofluorescence, penggunaan muatan resisten terhadap antibiotik membantu dalam mengidentifikasi strain-strain baru, dalam tanah dan dalam bintil. Dengan menggunakan teknik ini Obaton (1977) memperlihatkan bahwa rhizobium di daerah tropika biasanya mempunyai aktivitas yang rendah dan jumlah fluktuasi yang rendah dalam satu tahun.

Enzim introgenase telah banyak diketahui berperan dalam pengubahan bentuk N_2 menjadi bentuk amina, tetapi studi tentang hubungan antara Rhizobium dan tanaman inang sedikit sekali dipelajari. Salah satu aspek simbiosis antara Rhizobium dan tanaman inang ialah dalam pembentukan leghemoglobin. Dilaporkan oleh banyak peneliti bahwa mestinya tanaman memegang peranan yang penting dalam, pembentukan leghemoglobin ini (Dilworth dan McComb, 1977). Gen-gen yang mengkode pembentukan leghemoglobin telah diisolasi dan diidentifikasi dari berbagai spesies tanaman legum (Vance, 1991). Senyawa yang larut yang berasal dari bakteri akan memperecepat pembentukan hormon, seperti auxin dan sitokinin dalam akar tanaman guna meningkatkan perkembangan meristem (Vance, 1991).

Faktor-faktor dalam pembentukan bintil akar ialah : unsur hara khusus, fotosintesis, oksigen, produksi fiksasi N_2 , air dan senyawa nitrogen yang ada dalam tanah. Sedang faktor-faktor yang berperan dalam aktivitas

nitrogenase dalam bakteroid ialah kebutuhan oksigen dan karbon, dan leghemoglobin (Bergersen, 1977).

Unsur-unsur Mo, S, Cu dan Co dibutuhkan dalam simbiosis tersebut. Dua unsur yang pertama dibutuhkan dalam enzim nitrogenase yang kemungkinan mengandung dua atom Mo dan kira-kira 25 - 30 atom Fe dan S dalam_ setiap kompleks molekul. Co dibutuhkan dalam enzim dalam bakteroid. Cu dibutuhkan dalam sistem dismutase superoksida (Bergersen, 1977). Oksigen dibutuhkan dalam jumlah sedikit (0,2 - 0,3 atm) untuk kecepatan fiksasi maksimum. Minchin dan Pate (1973) dalam Bergersen (1977) mengatakan bahwa 32 persen hasil fotosintesis dialirkan kepada bintil akar, yang 5% digunakan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan bintil, 12% digunakan untuk respirasi dan 15% dilepas kembali kepada tanaman yang dalam keadaan kombinasi dengan nitrogen. Distribusi hasil fiksasi yang berupa asam glutamat dan glutamin mempengaruhi pula efektivitas bintil. Nitrogenase juga dihambat oleh air yang berlebihan, tetapi kalau air sangat defisien akan merusak fungsi fisiologis tanaman. Pembintilan terhambat oleh adanya nitrat dan amonium dalam tanah dan pengaruh ini terjadi terutama pada awal infeksi. Penghambatan oleh nitrat dan am onium ini kemungkinan disebabkan oleh penghambatan dalam pembentukan auxin (Bergersen, 1977).

Pengaruh leghemoglobin dalam fiksasi N sebagai berikut :

- (1) Bakteroid mengandung dua terminal sistem oksidasi. Pertama, dengan afinitas O_2 yang tinggi, sensitif oleh penghambatan CO_2 dan N-phenylimidazole, bekerja dibawah 1 mikromole O_2 tetapi mempunyai aktivitas yang rendah pada atau diatas 10 mikromole O_2 . Sistem kedua, tidak sensitif terhadap kedua penghambat tersebut, mempunyai aktivitas rendah dibawah 1 mikromole O_2 tetapi tinggi pada atau diatas 10 mikromole O_2

- (2) Produksi ATP dalam bakteroid paling besar selama deoksigenasi oksihemoglobin yang ditambahkan, misalnya pada 10^{-8} - 10^{-7} mikromole bebas O_2 . Akibatnya aktivitas nitrogenase paling tinggi dalam kisaran konsentrasi rendah bebas oksigen. Sistem oksidasi yang afinitasnya tinggi merupakan produser ATP yang lebih efisien dibanding sistem kedua, sistem aktivitas O_2 yang rendah.
- (3) Pada konsentrasi bebas O_2 yang diperlukan untuk produksi ATP yang maksimum, difusi O_2 kedalam bakteroid membatasi kecepatan respirasi.
- (4) Dalam oksihemoglobin, aliran O_2 dalam kisaran konsentrasi yang rendah ini meningkat dengan proses difusi, respirasi meningkat dan produksi ATP berjalan efisien
- (5) Dalam leghemoglobin yang teroksidasi sebagian ini, konsentrasi O_2 bebas diatur dalam kisaran tertentu. Fluktuasi dalam kebutuhan O_2 , meningkat dari variasi dalam suplei hasil fotosintesis misalnya atau fluktuasi suplei O_2 yang disebabkan oleh lingkungan, cenderung merubah oksigenasi leghemoglobin, fluktuasi konsentrasi oksigen bebas akan tetap rendah

b. Efektivitas inokulasi

Perkembangan penggunaan inokulum terus maju oleh karena alasan-alasan sebagai berikut : (1) efektivitas fiksasi N_2 dan spesifitas inang, (2) kemampuan kompetitif dalam pembentukan bintil dan ketahanannya dalam tanah, (3) sifat-sifat khusus, misalnya toleransi terhadap pH rendah dan untuk situasi khusus lainnya, dan (4) sifat-sifat yang berhubungan dengan pembiakan dan persiapan inokulasi (Date, 1977). Kegagalan memperoleh respon yang baik terhadap inokulasi disebabkan oleh (1) adanya antagonis yang menghambat rhizobium dalam rhizosfer, (2) adanya strain yang tak efektif dialam yang tak dapat diganti tempatnya oleh strain baru yang efektif, dan (3) pengaruh yang tak menguntungkan dalam tanah, misalnya alkalinitas, kemasaman dan faktor-faktor yang berkaitan dengan struktur

tanah, penggunaan pestisida dan nitrat yang tinggi dalam tanah (Subba Rao, 1982).

Rekomendasi untuk penggunaan inokulum yang lebih baik adalah sebagai berikut (Ayanaba, 1977) :

- (1) memamerkan kelebihan inokulasi
- (2) peningkatan dalam fasilitas transportasi dan penyimpanan
- (3) menggunakan inokulasi tanah, dengan tanah asal bakteri
- (4) menggunakan inokulum multistrain untuk memperkecil kegagalan karena pengaruh faktor lingkungan
- (5) menggunakan starter nitrogen
- (6) memperkaya perlakuan benih dengan zat perekat

c. Jenis-jenis organisme

Jenis organisme berbeda-beda tergantung tanaman inang. Jenis ini akan berbeda kalau famili tanaman berbeda, bahkan kalau genus tanaman berbeda. Kemampuan fiksasi N₂ dan lokasi organisme pada tubuh tanaman berbedabeda. Secara umum perbedaan ini dapat dilihat dalam tabel 4 dan tabel 5.

Tabel 4. Spesifitas Rhizobium terhadap tanaman inang

Spesies Rhizobium	Genus tanaman inang yang disukai
<i>R. leguminosarum</i>	<i>Pisum, Vicia, Lens, cicer</i>
<i>R. trifolii</i>	<i>Trifolium</i>
<i>R. paseoli</i>	<i>Phaseolus</i>
<i>R. meliloti</i>	<i>Medicago, Melilotus</i>
<i>R. japonicum</i>	<i>Glycine</i>
<i>R. lupini</i>	<i>Lypinus, Lotus, Ornithopus</i>

Tabel 5. Jenis-jenis organisme pelaku fiksasi N₂

BIOTEKNOLOGI DAN KEHARAAN TANAMAN (Mikroorganisme, Nitrogen dan Fosfor)

Jenis Tanaman	Genus	Mikroorganisme	Lokasi	N ₂ terfiksasi kg N ha ⁻¹
Leguminosae	<i>Pisum</i> <i>Glycine</i> <i>Medicago</i> dll	<i>Rhizobium</i> dan <i>Bradyrhizobium</i>	Bintil akar	10-350
Ulmaceae	<i>Parasponia</i>	<i>Rhizobium</i> dan	Bintil akar	-
Betulaceae	<i>Alnus</i>	<i>Frankia</i>	Bintil akar	15-300
Casuarinaceae	<i>Casuarina</i>	(actinomycete)	Bintil akar	-
Eleagnaceae	<i>Eleagnus</i>	(actinomycete)	-	-
Rosaceae	<i>Rubus</i>	(actinomycete)	-	-
Pteridophytes	<i>Azolla</i>	<i>Anabaena</i>	Heterosysts Dalam lubang Telinga daun Asirip belakang	40-120
Cyads	<i>Ceratozami</i> <i>a</i>	Nostoc	Akar	19-60
Lichens	<i>Collema</i>	Nostoc	Tersebar antara hifa jamur	

2. Fiksasi Nitrogen Non Simbiotik

Ada beberapa indikasi kuat bahwa jumlah N₂ difiksasi oleh bakteri heterotrof dalam rhizosfer bakteri tersebut bermacam-macam kelompok. Pengelompokan berdasarkan kebutuhan oksigen dapat dilihat pada tabel 6.

Namun masih terdapat kesukaran dalam menduga kontribusi fiksasi N₂ dengan pengukuran in vitro, karena ekosistem khusus, angkutan tanaman, pencucian dan aktivitas denitrifikasi. Lebih-lebih eksperimen di laboratorium dilakukan pada sampel yang kecil dan waktu yang pendek, Oleh karena itu pengaruh organisme ini terhadap pertumbuhan tanaman masih belum dapat diketahui dengan pasti. Ini juga berkaitan erat dengan metode yang belum

banyak berkembang dan kekurangan dalam mempelajari ekologiinya (Kapulnix, 1991).

Tabel 6. Kelompok bakteri fiksasi N₂ bebas dan kemampuan melakukan fiksasi N₂

Kelompok	Efisiensi Ang N (g karbon)⁻¹ d
<i>Anaerobik</i>	
<i>Clostridium pasteurianum</i>	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11-20
<i>Bacillus polymyxa</i>	10-20
<i>Mikroaerofil</i>	
<i>Azospirillum brasilense</i>	29-125
<i>Aerobik</i>	
<i>Derxia gummosa</i>	50-62
<i>Azotobacter chroococcum</i>	31-91

Sumber : Kapulnix (1991)

3. Tantangan Dalam Bioteknologi

Sejumlah studi rekayasa genetik yang melibatkan organisme fiksasi N sedang berlangsung. 17 gen bakteri yang bertanggung jawab terhadap fiksasi N₂ telah diketahui dan, diketahui pula bahwa transfer gen dari organisme satu ke organisme lainnya telah berhasil dilakukan.

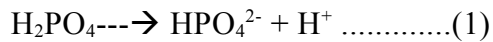
Transfer plasmid *Rhizobium* ke *Agrobacterium* telah dilakukan dan menghasilkan bakteri yang dapat membentuk bintil tetapi tidak dapat melakukan fiksasi. *Klebsiela*, *Rhizobium* dan *Azotobacter* dapat menukar DNA dengan *Escherichia coli* yang merupakan organisme yang paling umum digunakan dalam rekayas genetik. Transfer DNA dari *Rhizobium* ke *Azotobacter* yang tak mengandung gen nitrogenase menghasilkan *Azotobacter* yang dapat melakukan fiksasi N₂. Ini menunjukkan bahwa bahan genetik fiksasi N₂ dapat ditransfer sebagai satu unit (Paul dan Clark, 1989).

BIOTEKNOLOGI DAN FOSFOR

A. Ketersediaan Fosfor

Ketersediaan fosfor dalam tanah rendah sekali. Pada tanah masam, P terikat dalam bentuk yang tak tersedia dengan Al dan Fe. Dan pada tanah-tanah tropik biasanya mempunyai ciri khas -kemampuan adsorpsi fosfat yang tinggi.

Pada tanah calcareous (pH tinggi) P terikat dalam bentuk Ca (HPO₄) yang tidak larut dalam air dan tak tersedia untuk tanaman. Setiap kali penambahan P pada tanah ini. akan terjadi reaksi pengendapan fosfat sebagai berikut.



H₂PO₄⁻ dan HPO₄²⁻ terjadi kesetimbangan pada pH 7. Kalau selalu terjadi pengendapan CaHPO₄, maka reaksi (1) mengarah ke kanan sehingga kadar P dalam larutan tanah sangat rendah.

Peranan mikroorganisme dalam tanah terhadap ketersediaan P untuk tanaman banyak dipelajari. Peranan tersebut dapat digolongkan menjadi dua macam. Pertama dalam solubilitas P dan kedua dalam serapan P oleh akar tanaman. Peran bakteri pelarut fosfat, Bacillus megaterium (var. phosphaticum), Pseudomonas fluorescens, P. stukeri, Citrobacter freundii dan lain-lain telah dipelajari (Diederichs dan Moawad, 1992). Bakteri ini efektif dalam melarutkan fosfat (tabel 7). bakteri ini memproduksi H⁺ yang dapat melarutkan fosfat tersebut. Reaksinya sebagai berikut :



OH yang terbentuk akan dikompensasi dengan H⁺ yang dihasilkan oleh bakteri dari pelepasan CO₂ dan asam-asam organik. Kalau ada H⁺ atau pH semakin rendah, reaksi akan mengarah ke kanan.

Tabel 7. Nisbah berat kering brangkasan berbagai tanaman yang diinokulasi dan yang tidak diinokulasi dengan *Glomus macrocarpum* (M₁) *G. manihotis* (M₂) ; *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* (B₁) ; *Pseudomonas fluorescen* (B₂) ; *P. stukeri* (B₃) ; *Citrobacter freundii* (B₄) pada 3 nilai pH.

	Stylosantheus quianensis			Capsicum annum			Tagetes minuta		
pH	5,5	6,5	7,5	5,5	6,5	7,5	5,5	6,5	7,5
M ₁	4,3	6,2	5,7	1,0	2,7	5,0	6,4	7,5	10,0
M ₂	15,7	18,8	7,2	2,8	4,0	2,5	13,0	10,1	14,0
B ₁	1,6	1,0	1,3	1,8	2,0	1,5	1,0	1,0	1,2
B ₂	1,1	1,2	1,5	1,8	2,3	2,5	2,0	0,9	2,2
B ₃	1,0	1,0	0,8	1,8	2,0	2,0	1,8	1,3	1,5
B ₄	0,9	0,8	1,0	1,2	2,3	2,0	1,6	1,0	1,5
M ₁ B ₁	4,0	6,4	4,0	2,6	4,0	9,0	7,8	10,0	20,7
M ₁ B ₂	4,9	7,0	5,0	2,5	6,3	9,0	9,0	8,8	12,0
M ₁ B ₃	4,4	7,0	4,7	1,8	6,0	12,5	13,0	9,4	15,8
M ₁ B ₄	3,9	8,4	5,2	4,2	6,7	14,0	6,6	5,3	14,0
M ₂ B ₁	16,8	17,0	9,4	3,6	6,0	3,0	10,6	11,6	24,5
M ₂ B ₂	13,6	15,0	7,8	5,5	9,3	4,5	14,8	12,6	18,0
M ₂ B ₃	18,6	16,6	6,5	4,8	7,0	4,5	13,8	10,0	17,8
M ₂ B ₄	12,9	13,0	5,8	4,0	6,3	6,0	13,2	9,7	22,0

B. Mikoriza

Asosiasi simbiotik antara jamur tertentu dan akar tanaman yang disebut mikoriza telah diketahui bermanfaat dalam pertumbuhan tanaman dan siklus unsur hara, terutama P (Lee dan Pankhurst, 1992). Jamur mikoriza diklasifikasikan kedalam ektomikoriza dan endomikoriza, tergantung pada tabiat pertumbuhan pada akar tanaman.

Ektomikoriza dicirikan dengan adanya mantel selubung diluar sel, sedang endomikoriza hidup dalam akar tanaman dengan selubung yang sangat tipis diluar tanaman. Endomikoriza dibagi lagi menjadi ericaceous dan vesiculer-arbusekuler (VAM) (Barea, 1991 dalam Lee dan Pankhurst, 1992).

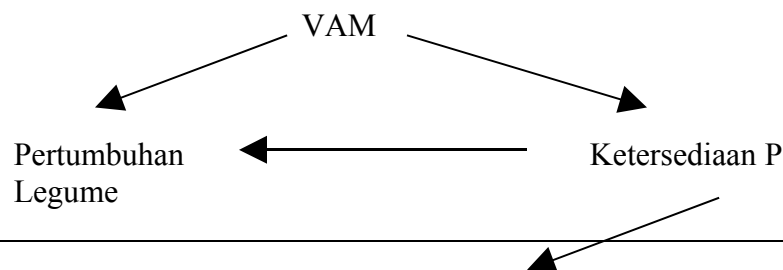
BIOTEKNOLOGI DAN KEHARAAN TANAMAN (Mikroorganisme, Nitrogen dan Fosfor)

Sampai sekarang mikoriza belum dapat dibiakkan secara invitro, oleh karena itu kemajuan yang telah diperoleh sampai saat ini berhubungan dengan pemahaman simbiosis dan telah menyediakan seperangkat pengetahuan tentang pengaruh mikoriza terhadap keharaan tanaman (Krikun, 1991). Uji tanah terhadap respon tanaman tidak dapat tepat kalau pada akar tanaman terdapat mikoriza. Meskipun pengaruh mikoriza baik pada tanaman, tetapi penelitian yang dilakukan oleh Fitter (1985) dalam Krikun (1991) menunjukkan pengaruh negatif dari perlakuan mikoriza pada tanaman yang dipupuk P dengan dosis tertentu. Hal ini mungkin berkaitan dengan permasalahan unsur hara lain yang defisien.

Studi interaksi antara mikoriza dan bakteri dalam rhizosfer telah dipelajari. Interaksi antara bakteri *Klebsiela pneumoniae* dan mikoriza menunjukkan bahwa pembedahan spora dan pertumbuhan *Glomus deserticola* meningkat dengan perlakuan bakteri tersebut (Will dan Sylvia, 1990). Sedangkan Mugnier dan Mosse dalam Will dan Sylvia (1990) membuktikan bahwa *Streptomyces orientalis* memproduksi senyawa volatile yang menstimulasi pemberian spora. *Glomus mosseae*. Hal ini menunjukkan bahwa stimulasi bakteri Rhizosfer terhadap pemberian mikoriza kemungkinan besar disebabkan oleh adanya senyawa volatilik tersebut. Sedangkan pengaruh Rhizobium terhadap VAM perilakunya berlainan dengan interaksi antara bakteri Rhizosfer dan mikoriza. Interaksi ini terjadi melalui :

- (1) serapan P yang meningkat oleh VAM
- (2) Penyediaan ATP untuk binding N₂. Dibutuhkan 12 -15 ATP untuk setiap 1 mole N₂ (Neves, 1992 dalam Diederichs dan Moowad, 1992)

Mekanismenya sebagai berikut :



←
Pertumbuhan
Nodule – binding N₂

KESIMPULAN

Dari uraian tersebut diatas dapat disimpulkan :

1. Peranan mikroorganisme terhadap keharaan tanaman sangat besar karena melihat kenyataan bahwa didalam tanah mikroorganisme selalu hadir dan hidup dalam interaksi tanah dan tanaman
2. Studi tentang peranan mikroorganisme dan nitrogen perlu dikembangkan karena melihat kenyataan bahwa transformasi nitrogen dalam tanah sangat dipengaruhi oleh keberadaan mikroorganisme.
3. Organisme yang melakukan fiksasi nitrogen baik yang hidup bebas, asosiatif maupun simbiotik nitrogen yang begitu besar dalam tanah.
4. Usaha-usaha banyak dilakukan dalam rangka memperbesar efektivitas fiksasi N₂ dengan jalan eskplorasi strain yang tahan terhadap lingkungan tertentu, pemahaman biokimiawi fiksasi N₂, rekayasa genetik, efektifitas inokulasi, perbaikan inokulum dan sebagainya. Namun sedikit sekali hal yang dipelajari mengenai mekanisme pembintilan akar tanaman.
5. Belum banyak dilakukan studi tentang pengaruh organisme fiksasi N₂ yang hidup bebas terhadap pertumbuhan tanaman karena beberapa kendala, seperti angkutan tanaman, pencucian N dan lain-lain disamping keterbatasan metodenya.
6. Belum banyak studi mengenai biologi dan biokimia mikoriza karena sampai sekarang jasad tersebut belum dapat dibiakkan secara invitro. Studi yang banyak dilakukan sampai sekarang ini berkaitan dengan pengaruh mikoriza terhadap keharaan tanaman dan interaksinya dengan organisme lain dalam tanah.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. Ecology of nitrogen-fixing organisms. dalam Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics (eds. Ayanaba & Dart). John Wiley & Sons. New York. pp. 99 - 114.
- Ayanaba, A. 1977. Toward better use of inoculants in the humid tropics dalam Biological Nitrogen Fixation in Farming system of the Tropics (eds. Ayanaba & Dart). John Wiley & Sons. New York. pp. 181 - 187.
- Bergersen, F.J. 1977. Factors controlling nitrogen fixation by rhizobia dalam Biological Nitrogen Fixation in Farming system of the Tropics (eds. Ayanaba & Dart). John Wiley & Sons. New York. pp 153 - 168.
- Date, R.A. 1977. The development and use of legume inoculants dalam Biological Nitrogen Fixation in Farming system of the Tropics (eds. Ayanaba & Dart). John Wiley & Sons. New York. pp. 169 - 180.
- Diederichs, C. and A. Moawad. 1992. Maintaining the fertility of tropical soils by biological meand. natural Resources and Development 36 : 7~0 - 83.
- Dilworth, M.J. and J.A. McComb. 1977. Recent advances in tissue-culture studies of the legums - Rhizobium symbiosis dalam Biological Nitrogen Fixation in Farming system of the Tropics (eds. Ayanaba & Dart). John wiley & Sons. New York. pp. 135 - 150.
- Handreck, K.A. and K.E. Lee. 1991. Earthworm - for gardener and fishermen. CSIRO. Australia. 30 p.
- Kapulnik, Y. 1991. Nonsymbiotic nitrogen-fixing microorganisms dalam Plant Roots - The Hidden Half (eds. Waisal et.al). Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 7.03 - 716.
- Krikun, J. 1991. Mycorrhizae in agricultura crops dalam Plant Roots - The Hidden Half (eds. Waisal et.al). Marcel Dekker Inc. New York. pp. 767 - 788.
- Lee, K.E. and C.E. Pankurst. 1992. Soil organisms and sustainable productivity. Aust. J. Soil Res. 30 : 855 - 892.

- Lynch, J.M. 1983. Soil biotechnology. Blackwell Scientific: Publications. London. 191 p.
- Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. London. 674 p.
- Megrew, S.R. and Knowles. 1987. Aktive methanotrophs suppress nitrification in a humisol. *Biol. Fertil. Soil* 4 : 205 - 212 .
- Obaton, M. 1977. Effectiveness, saprophytic and competitive ability - three properties of *Rhizobium* essential for increasing the yield of inoculated legumes. dalam *Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics* (eds . Ayanaba & Dart) . John Wiley & Sons. New York. pp. 127 – 134
- Paul, E. A. and F.E Clark. 1989. Soil microbiology and biochemistry. Academic Press, Inc. London. 273 p.
- Stevenson, F.J. 1986. Cycles of soil - carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. John Wiley & Sons. New York. 380 p.
- Subba Rao, N.S. 1982. Biofertilizers in agriculture. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi. 186 p.
- Syers, J.K. and J.A. Springett. 1984. Earthworms and soil fertility. *Plant and soil* 76 : 93 - 104.
- Vance, C.P. 1991. Root – bacteria interaction symbiotic nitrogen fixation. dalam *Plant Root – the Hidden half* (eds. Waisel et.al). pp. 671 - 702.
- Will, M.E. and D.M. Sylvia. 1990. Interaction of rhizosphere bacteria, fertilizet and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi with sea oats. *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 57 No. 7 : 2073 - 2079.