

KARAKTERISTIK MORFOLOGI DAN PEMBENTUKAN BINTIL AKAR PADA CEMARA UDANG

(*Morphological Characteristic and Formation of Root Nodules
Casuarina equisetifolia var. incana*)

Winastuti Dwi Atmanto*, Sumardi, Dja'far Shiddieq, Siti Kabirun

Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Jl. Agro No. 1 Bulaksumur Yogyakarta Telp. (0274) 550541
Email : winastutiatmanto@yahoo.com

Naskah masuk : 3 Februari 2012; Naskah diterima : 30 Agustus 2012

ABSTRACT

Nitrogen fixation not only occurs in the symbiosis between legumes and Rhizobium bacteria, but also between non-legume plants and other type of microorganisms, for example symbiosis between Casuarina equisetifolia and Frankia. The morphological characteristics of C. equisetifolia is not widely known yet, especially its nodule formation and its capacity to fix nitrogen. This research was aimed to 1) investigate the characteristics of Frankia root nodules of C. equisetifolia at pot and field experiment, 2) acquire the Frankia isolates which are fastest formed on C. equisetifolia. Observation of the rate of root nodules formation carried out in pots with zeolite planting medium. Isolates used as treatments were derived from the selection of the different morphological characteristics of isolates from some coastal areas, namely: Madura (M1, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M10, M11), Tepus (T1, T2, T3, T4), Samas (S1) and without inoculation (Kt) as control. Each of isolate was inoculated into 4 seedlings. The formation, development and amount of root nodules were observed every 2 weeks. The results found similar forms of root nodules in the pot and field experiment. The outer part of root nodules performed soft colour but getting darker and harder inside the nodules. Root nodulation was observed at all isolates 4 weeks after inoculation, with mean number of nodules is 2.55 (34.86%). This study concluded that the isolates of M5 and M6 are best to use as a source of inoculum for the production of C. equisetifolia seedlings, because of its ability to form root nodule concurrently within 2 weeks.

Keywords: Root nodule, C. equisetifolia, Frankia isolate

ABSTRAK

Mekanisme penambatan nitrogen tidak hanya terjadi pada simbiosis antara jenis Legum dengan Rhizobium, tetapi juga antara jenis non-legum dengan jenis mikroorganisma yang lain. Contohnya adalah antara jenis cemara udang dengan Frankia. Karakter morfologi jenis ini belum banyak diketahui terutama pada kemampuan pembentukan bintil akar dan kapasitasnya dalam menambat nitrogen. Penelitian ini bertujuan untuk 1) mengetahui tentang karakteristik bintil akar jenis cemara udang pada percobaan pot dan lapangan, 2) mendapatkan isolat Frankia dari bintil akar yang paling cepat membentuk bintil akar pada tanaman cemara udang. Pengamatan terhadap kecepatan pembentukan bintil akar dilakukan di dalam pot dengan media tanam zeolit. Isolat yang digunakan sebagai perlakuan diperoleh dari seleksi terhadap karakteristik morfologi isolat yang berbeda dari tanaman asal Madura (M1, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M10, M11), Tepus (T1, T2, T3, T4), Samas (S1) dan tanpa inokulasi (Kt). Masing-masing isolat diinokulasikan pada 4 (empat) semai cemara udang. Pengamatan dilakukan setiap 2 (dua) minggu sekali, diamati perkembangan, pembentukan dan jumlah bintil akar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat kesamaan ragam bentuk bintil akar cemara udang dalam percobaan pot dan lapangan. Bagian permukaan bintil akar dalam pertumbuhannya selalu berwarna lebih muda, makin ke arah dalam semakin gelap dan keras. Semua isolat yang diuji pada semai cemara udang mampu membentuk bintil akar setelah 4 (empat) minggu diinokulasi dengan rata-rata jumlah bintil akar yang terbentuk 2,55 buah (34,86%). Isolat M5 dan M6 paling baik digunakan sebagai sumber inokulum untuk pembuatan semai cemara udang, karena dalam waktu 2 (dua) minggu semua bibit serempak membentuk bintil akar.

Kata kunci : Bintil akar, cemara udang, isolat Frankia

I. PENDAHULUAN

Casuarina equisetifolia var. *incana* yang lebih dikenal dengan nama lokal cemara udang merupakan salah satu jenis pohon yang tidak termasuk dalam Legum tetapi mampu membentuk bintil akar. Bintil akar bersifat perennial dan terbentuk sebagai akibat dari masuknya Frankia yang tergolong aktinomisetes (Richard, 1994; Srivastava and Singh, 1999). Seperti halnya Rhizobium, Frankia mampu menambat nitrogen dari udara. Kemampuan Frankia menambat nitrogen menyebabkan cemara udang yang bersimbiosis dengan Frankia memiliki peran ekologi sebagai pohon pioner yang penting terutama di kawasan pesisir dengan kondisi lingkungan yang ekstrim. Jenis ini juga berpotensi sebagai *nurse trees* sehingga kalau digunakan untuk rehabilitasi lahan berbeda dengan jenis yang lain, karena lebih ekonomis.

Bintil akar yang dibentuk oleh Frankia memberikan kontribusi hara nitrogen, sehingga simbiosis cemara udang-frankia menjadi sangat penting di dalam pembangunan hutan terutama pada lahan kritis di kawasan pesisir. Banyak aspek yang diberikan dari tanaman pembentuk bintil akar terhadap tapak, tetapi dalam tulisan ini yang ditinjau adalah aspek karakteristik bintil akar dan kemampuan isolate Frankia membentuk bintil akar pada cemara udang.

Karakteristik bintil akar penting untuk dipelajari karena dapat memberikan indikator terhadap: 1) kemampuan penambatan nitrogen dalam rentan waktu yang lama dan efisien, 2) dapat menggambarkan respon bintil akar terhadap kondisi cekaman. Bintil akar tipe tunggal responsif terhadap cekaman karena sifatnya berumur pendek. Misalnya bintil akar pada tanaman lamtoro yang terkena cekaman air akan luluh (Sumardi, 2003). Keberadaan bintil akar mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman secara nyata. Russo (2005) mengatakan bahwa besarnya penambatan nitrogen Frankia yang berasosiasi dengan cemara udang dapat mencapai 12 - 110 kg N/ha/th. Ciri khas lain dari bintil akar cemara udang adalah adanya rambut akar pendek tersusun memanjang pada beberapa tempat yang disebut *proteoid root*, yang diduga berfungsi untuk menyerap fosfat lebih efisien dibanding akar lateral (Torrey, 1976). Morfologi bintil akar cemara udang memiliki ragam bentuk dan lebih kompleks jika dibandingkan dengan akar jenis pohon lain yang membentuk bintil akar. Satu jalur infeksi pada rambut akar, dalam perkembangannya mampu membentuk bintil

akar dengan diameter lebih dari 10 cm. Torrey (1976) mengemukakan bahwa, struktur umum bintil akar cemara udang merupakan modifikasi dari akar lateral. Selanjutnya menurut Rao (2001) bahwa bintil akar cemara udang yang sudah tua pada umumnya besar dan berkayu, sedangkan bintil akar yang masih muda tidak berkayu. Beberapa penelitian tentang fisiologi bintil akar cemara udang telah dilakukan. Obertello *et al.* (2003) mempelajari proses infeksi pada sel kortek dan biologi molekuler bintil akar cemara udang dengan menggunakan gen sebagai penanda. Sementara Rajendra dan Devaraj (2003) meneliti produktivitas biomas dan hara yang dihasilkan, serta siklus hara pada *C. equisetifolia* yang diinokulasi dengan Frankia, *Azospirillum* dan *Phosphobacterium*.

Tujuan dari penelitian ini adalah 1) melakukan kajian yang lebih rinci tentang karakteristik morfologi bintil akar. 2) mendapatkan isolat yang mampu tumbuh cepat dan membentuk bintil akar pada semai cemara udang. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk memberikan informasi yang mendukung teknik rehabilitasi lahan kritis dengan cemara udang khususnya di kawasan pesisir.

II. BAHAN DAN METODA

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Silviculture Intensif Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada, pantai Lombang Madura, Tepus Gunung Kidul, Samas Bantul dan Ambal Kebumen pada tahun 2007 sampai dengan 2009.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian berupa 1) benih dan bintil akar cemara udang; 2) isolat Frankia hasil isolasi dari bintil akar tegakan tua cemara udang di kawasan pesisir Madura (M), Tepus (T) dan Samas (S); 3) zeolit; 4) larutan hara tanpa N; 5) media ekstrak tanah. Alat yang digunakan adalah 1) mikroskop, 2) cawan petri, 3) *Erlenmeyer*, 4) jarum *ose*, 5) pot plastik.

C. Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Benih cemara udang ditabur dalam media pasir steril. Setelah benih berkecambah dengan rerata tinggi 6 cm disapih dalam media zeolit, kemudian diinokulasi dengan isolat hasil seleksi masing-masing 3 ml.

Isolat yang paling cepat membentuk bintil akar dalam percobaan pot digunakan untuk inokulasi pada cemara udang di persemaian. Setelah semai berumur 5 bulan dengan rerata tinggi 50 cm, ditanam di kawasan pesisir Ambal, Kebumen. Karakteristik bintil akar diamati setelah tanaman berumur 2 bulan di lapangan.

D. Metoda Penelitian

Pengamatan terhadap karakteristik bintil akar dilakukan pada 1) tegakan tua cemara udang di kawasan pesisir Lombang Madura, Tepus Gunung Kidul dan Samas Bantul, 2) percobaan pot dilakukan di Laboratorium Silvikultur Intensif Fakultas Kehutanan UGM, 3) tanaman muda di kawasan pesisir Ambal Kebumen. Sampel bintil akar yang diamati di lapangan adalah 20 cm, 120 cm dari leher akar dan di luar tajuk.

Pengamatan terhadap morfologi dan anatomi bintil akar dilakukan pada tanaman yang ada pada percobaan pot dan di lapangan. Infeksi Frankia ke dalam rambut akar dan anatominya dipelajari dengan membuat sayatan permanen maupun semi permanen. Bentuk dan jumlah bintil akar pada semai dalam percobaan pot diamati setiap 2 minggu sekali.

Percobaan pot disusun dengan rancangan acak lengkap, terdiri dari 15 perlakuan yaitu tanpa inokulasi (Kt) dan inokulasi dengan isolat M1, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M10, M11, T1, T2, T3, T4 dan S1. Isolat diperbanyak dalam media ekstrak tanah cair (Fred dan Waksman, 1928) yang dimodifikasi dan diinkubasi selama 5

hari digunakan sebagai inokulum. Satu unit eksperimen terdiri dari 4 ulangan. Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan penyiraman menggunakan larutan tanpa nitrogen (Somasegaran *et al.*, 1984).

Parameter yang diamati 1) jumlah bintil akar, 2) persentase bintil akar. Persentase bintil akar dihitung dengan menjumlahkan bintil akar yang dibentuk oleh isolat Frankia pada pengamatan setiap 2 minggu sekali dibagi dengan total jumlah bintil akar yang terbentuk pada akhir pengamatan.

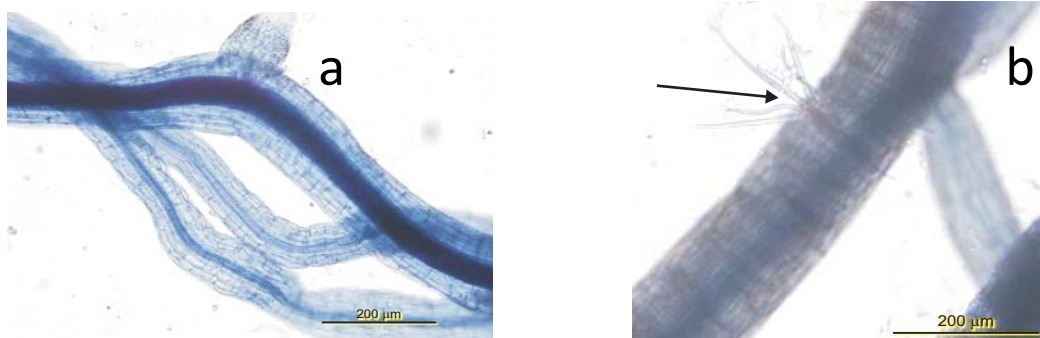
E. Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif dengan mengamati morfologi dan pembentukan bintil akar pada cemara udang.

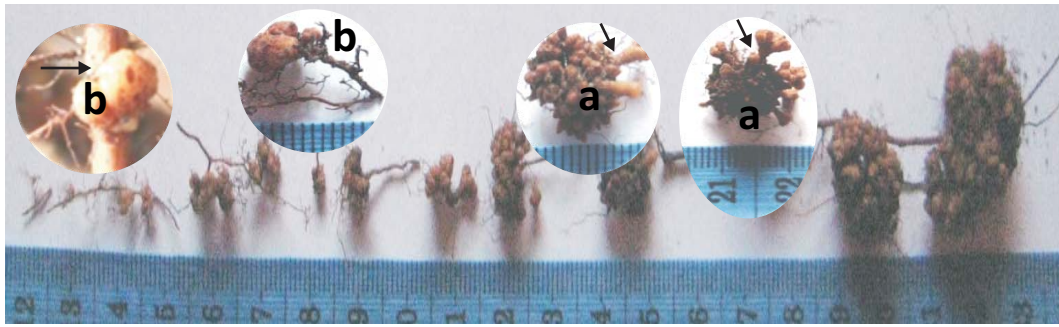
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

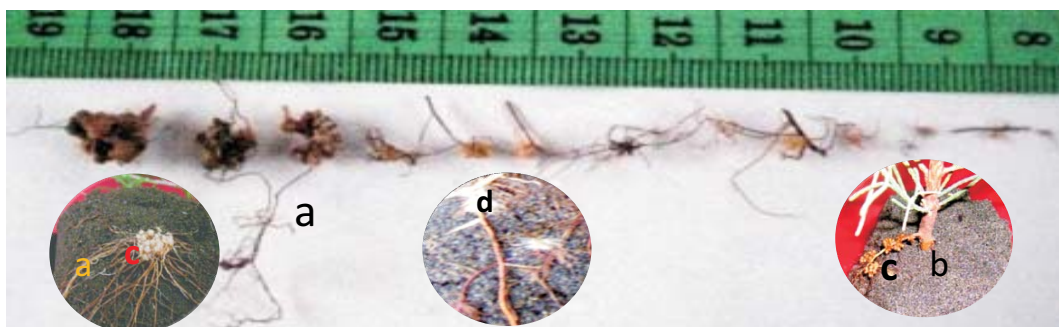
Pertumbuhan dan perkembangan bintil akar cemara udang yang dibentuk oleh Frankia tidak mudah lepas. Gambar 1 menunjukkan bahwa Frankia dalam bentuk hifa masuk ke dalam sistem perakaran cemara udang lewat jaringan meristematik pada rambut akar. Sistem perakaran yang terinfeksi frankia diselimuti oleh hifa, sedangkan akar yang tidak terinfeksi tidak terlihat adanya hifa. Hifa Frankia tampak bersekat dan pada bagian ujung bercabang dua.



Gambar (Figure) 1. Rambut akar cemara udang (a) tidak terinfeksi frankia dan (b) terinfeksi frankia (*Roots hair of Casuarina equisetifolia* var. *incana* (a) *uninfected by frankia* and (b) *infected by frankia*)



Gambar (Figure) 2. Ragam bentuk bintil akar cemara udang di lapangan a. bintil akar dengan rambut akar; b. bintil akar tanpa akar lateral (*The various form of root nodules in the field a. root nodules with roots hair; b. root nodules without lateral root*).



Gambar (Figure) 3. Ragam bentuk bintil akar semai cemara udang pada percobaan pot (a) akar lateral (b) akar utama (c) bintil akar (d) *proteoid cell* (*The growth of root nodules in Casuarina equisetifolia var. incana in the pot trial (a) lateral root (b) main root (c) root nodules (d) proteoid cell*)

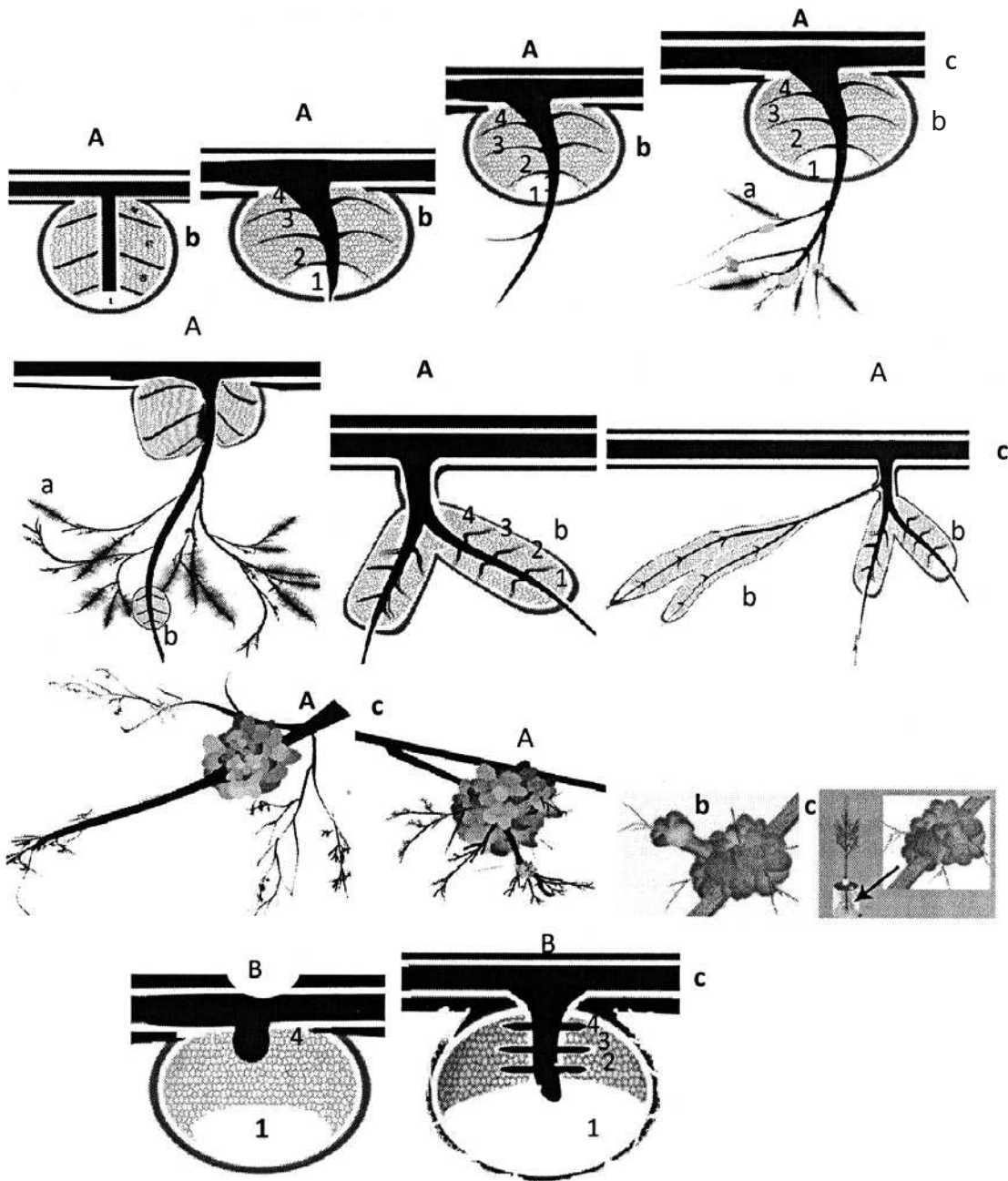
Letak bintil akar pada sistem perakaran cemara udang bervariasi. Bintil akar ada yang terbentuk disepanjang percabangan akar utama dan ada juga yang tumbuh agak jauh dari leher akar. Bintil akar cemara udang pada tegakan tua terletak kurang lebih 20 cm dari leher akar. Bintil akar tersebut berbetuk seperti kalus, bagian pangkalnya keras berwarna hitam dan melekat erat mengelilingi akar, sedangkan pada bagian ujung berwarna coklat muda. Beberapa pohon memiliki bintil akar yang melekat erat pada leher akar dan berdiameter lebih dari 10 cm yang keras seperti kayu, sedangkan pada jarak 120 cm dari pangkal batang, jumlah bintil akar lebih banyak dengan ukuran yang lebih kecil dari yang tumbuh dekat pangkal batang. Bintil akar tidak ditemukan pada sistem perakaran yang ada di luar tajuk. Bentuk bintil akar bervariasi mulai dari tidak bercabang hingga membentuk percabangan, sehingga bintil akar tampak tersusun rapat seperti bunga karang. Bentuk bintil akar cenderung membulat dengan akar lateral yang keluar dari setiap ujung bintil akar dan dalam perkembang-

annya akar lateral yang terinfeksi Frankia membentuk bintil akar juga (Gambar 2).

Bintil akar yang tidak bercabang dan tanpa akar lateral ditemukan sekitar 20 cm dari permukaan tanah. Tangkai bintil lebih kecil, pendek sehingga sulit dipisahkan dari akar utamanya. Bintil akar tersebut lebih keras, dan zone meristematik mengelilingi lapisan luar bintil akar.

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan bintil akar pada percobaan pot menunjukkan bahwa semua bintil akar yang terbentuk memiliki akar lateral (Gambar 3). Jumlah bintil akar dalam setiap semai umur 2 bulan rata-rata tidak lebih dari 2 buah. Bintil akar semai dalam percobaan pot memiliki ragam bentuk dan ukuran mulai dari 1-10,1 mm, berwarna coklat muda. *Proteoid cell* tumbuh di berbagai tempat dan sering kali dijumpai tumbuh berdekatan dengan bintil akar.

Bintil akar dalam pertumbuhannya ada yang membentuk percabangan dikotomis atau kelipatannya. Bintil akar tumbuh diantara masa bintil dan pada bagian ujungnya berukuran lebih besar. Bagian permukaan bintil akar berwarna



Keterangan (Remarks) : 1. Zone infeksi; 2. Zone fiksasi; 3. Zone penuaan; 4. Hifa frankia yang mengeras
 (A) Bintil akar dengan akar lateral, (B) bintil akar tanpa akar lateral
 (a) "Proteoid cell", (b) Bintil akar, (c) akar
 (1. Infection zone; 2. Fixation zone; 3. Senescence zone; 4. Hardened hyphae frankia
 (A) Root nodules with lateral root (B) root nodules without lateral root
 (a) Proteoid cell, (b) root nodule, (c) root)

Gambar (Figure) 4. Skema pertumbuhan bintil akar cemara udang (The scheme of growth of root nodules in *Casuarina equisetifolia* var. *incana*)

lebih terang, makin ke arah dalam bintil akar semakin keras seperti kayu. Bintil akar cemara udang tidak semua tumbuh membesar mengikuti pertumbuhan pohon. Seluruh bagian permukaan bintil akar berwarna coklat muda dan terlihat adanya retakan-retakan kecil berwarna coklat tua. Gambar 4 menunjukkan skema ragam bentuk pertumbuhan bintil akar cemara udang hasil pengamatan pada tegakan tua, percobaan pot dan lapangan.

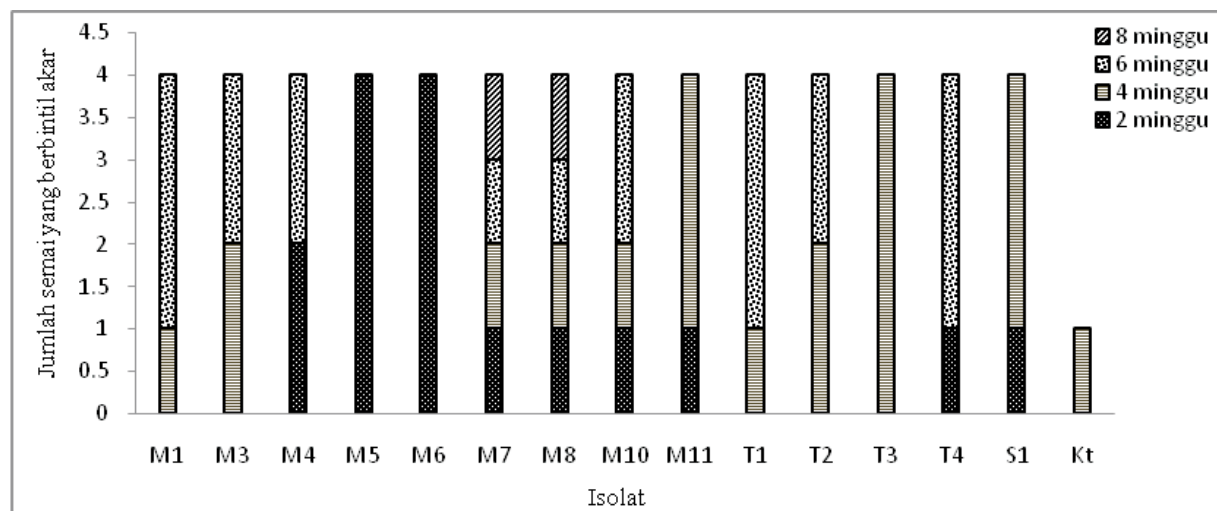
Respon semai cemara udang terhadap inokulasi pada pengamatan setiap 2 minggu menghasilkan rata-rata jumlah bintil akar 1,89 buah dengan persentase 25,75% dari total jumlah

bintil akar yang dibentuk oleh isolat M4, M5, M6, M7, M8, M10, M11, T4, S1 (Tabel 1). Rata rata jumlah bintil akar tertinggi yang dibentuk oleh isolat M1, M3, M7, M8, M10, M11, T1, T2, T3, S1 terjadi setelah 6 minggu inokulasi dengan jumlah bintil akar 2,55 buah (34,86%) dan dari 14 isolat yang digunakan, hanya isolat M7 dan M8 yang mampu membentuk bintil akar setiap 2 minggu (pada minggu kedelapan isolat M7 menghasilkan 4 bintil akar pada satu tanaman). Berdasarkan pengamatan pengaruh inokulasi terhadap pembentukan bintil akar, maka tidak semua semai serempak membentuk bintil akar pada waktu yang bersamaan (Gambar 5).

Tabel (Table) 1. Respon semai cemara udang terhadap inokulasi frankia (*The responses of Casuarina equisetifolia* var. *incana* seedlings on frankia inoculation)

No	Jenis Isolat yang Membentuk Bintil Akar pada Pengamatan Minggu ke-				Rata-Rata Jumlah Bintil Akar	Jumlah Bintil (%)
	2	4	6	8		
1	M4 M5 M6 M7 M8 M10 M11 T4 S1				1,89	25,75
2		M1M3 M7 M8 M10 M11 T1 T2 T3 S1 KT			1,91	31,82
3			M1 M3 M7 M8 M10 M11 T1 T2 T3 S1		2,55	34,86
4				M7 M8	2,5	7,57

Keterangan (Remarks): M (Madura), T (Tepus), S (Samas) (M (Madura), T (Tepus), S (Samas))



Gambar (Figure) 5. Pengaruh inokulasi frankia terhadap pembentukan bintil akar semai cemara udang (*The effect of frankia inoculation on root nodules formation of C. equisetifolia* var. *incana* seedlings)

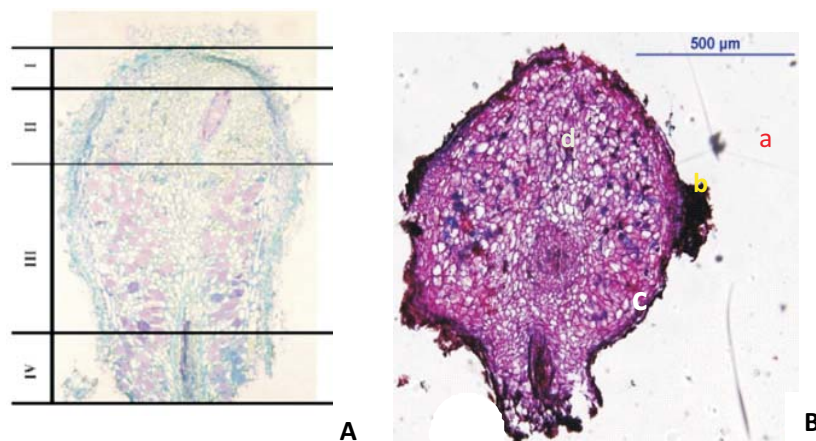
B. Pembahasan

Infeksi Frankia ke dalam sel rambut akar inang terlihat dalam bentuk hifa yang menembus dinding sel (Gambar 1), penetrasi hifa tersebut menghasilkan bintil akar berbentuk kalus dikelilingi rambut akar. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Dommergues, *et al.* (1982) yang menjelaskan bahwa bintil akar cemara udang terbentuk akibat adanya infeksi Frankia di daerah rambut akar. Rambut akar yang terinfeksi hifa yang bercabang akan menginvasi sel korteks, sedangkan bakteroid akan menginfeksi akar lewat ujung rambut akar.

Menurut Rao (2001) hifa Frankia masuk ke dalam sel-sel korteks rambut akar membentuk benang bercabang pada beberapa bagian sel akar, sehingga terbentuk bintil yang merupakan modifikasi akar lateral. Berkas pengangkut terdapat di bagian tengah bintil akar yang dikelilingi sel-sel endodermis dan parenkim korteks dengan kantong-kantong sel terinfeksi yang tersebar. Menurut Richards (1994) dan Diouf *et al.* (2003) invasi rambut akar oleh Frankia terjadi karena infeksi intraseluler dengan merusak rambut akar dan mengakibatkan dinding sel hancur. Demikian juga hasil penelitian Russo (2005) yang menjelaskan bahwa ada 2 jalur infeksi ke dalam akar yaitu infeksi lewat rambut akar dan penetrasi secara interseluler. Richards (1994) menambahkan bahwa hifa menginvasi rambut akar lewat membran sitoplasma. Bintil akar terbentuk dari percabangan hifa bersekat dengan diameter kurang dari 1 μm .

Bintil akar non-legum perennial, pada mulanya nampak membengkak pada bagian lateral akar dan akhirnya membulat menghasilkan bintil akar yang besar dengan diameter lebih dari 5 cm. Apabila melihat anatomi bintil akar cemara udang tidak menunjukkan perbedaan dengan anatomi bintil akar *C. glauca*, yaitu terdapat lapisan gabus yang berkembang dengan baik (Gambar 2). Bagian yang tercat biru pada sayatan bintil akar cemara udang (B) merupakan sel-sel parenkim yang berisi spora dan hifa Frankia. Struktur tersebut memiliki kesamaan dengan bintil akar *C. glauca* (Gambar 6). Struktur bintil akar *C. glauca* dibedakan 4 zone yaitu 1) meristematik 2) preinfeksi berisi sel-sel yang akan terinfeksi 3) fiksasi 4) penuaan. Pada zone terakhir ini sitoplasma inang dan Frankia hancur (Obertello *et al.*, 2003).

Pertumbuhan bintil akar cemara udang sangat spesifik. Menurut Gordon dan Wheeler (1983) Frankia termasuk aktinomisetes yang tumbuh lambat. Rao dan Dommergues (1998) menegaskan bahwa Frankia sangat sulit dikulturkan. Penelitian modifikasi media tumbuh Frankia menghasilkan isolat M5 dan M6 yang tumbuh kurang dari 7 hari, dan pada waktu dilakukan pengujian terhadap kemampuan membentuk bintil akar, beberapa isolat dalam waktu 2 minggu sudah membentuk bintil akar (Gambar 5). Seluruh semai cemara udang yang diinokulasi berbintil akar dengan rentan waktu antara 2 - 8 minggu. Bot dan Benites (2005) menjelaskan bahwa organisme tanah termasuk mikroorganisme yang menggunakan bahan organik sebagai sumber



Keterangan (*Remarks*): I. Zone meristem, II. Zone infeksi, III. Zone fiksasi nitrogen, IV. Zone penuaan, (a) epidermis, (b) korteks berisi sel-sel parenkim dan Frankia yang tercat ungu, (c) silinder pembuluh, (d) lapisan gabus (*I. Meristem zone, II. Infection zone, III. Nitrogen-fixation zone, IV. Senescence zone, (a) epiderm, (b) Parenchym cortex contained of Frankia with purple colour, (c) stele, (d) cork layer*)

Gambar (*Figure*) 6. Sayatan bintil akar (A) *Casuarina glauca* (Obertello *et al.*, 2003) dan (B) Cemara udang (*Cross section of the root nodule (A) Casuarina glauca and (B) Casuarina equisetifolia var. incana*)

nutrisi. Pada waktu bahan organik terdegradasi, beberapa unsur seperti N, P dan S dilepaskan dalam tanah.

Pertumbuhan bintil akar cemara udang yang diamati di bawah tegakan tua, tanaman muda dan di persemaian memiliki kesamaan bentuk. Pada tingkat semai rata rata jumlah bintil akar paling banyak 4. Berbeda dengan tanaman dan tegakan tua cemara udang bintil akar yang terbentuk lebih banyak, dan letaknya berdekatan. Sumber energi yang diperlukan untuk pertumbuhan bintil akar tidak hanya berasal dari fotosintat tetapi juga berasal dari bahan organik yang ada di rhizosfer. Richards (1994) menjelaskan bahwa pembentukan bintil akar tergantung pada hara yaitu karbohidrat dan status hara yang dihasilkan oleh tanaman inang.

Pengamatan pertumbuhan bintil akar di lapangan dan pada percobaan pot (Gambar 3) membuktikan bahwa pertumbuhan bintil akar pada umumnya cenderung membentuk percabangan yang dikotomis lengkap dengan akar lateral. Semakin tua umur tanaman, bentuk bintil akar beragam. Rao (2001) menegaskan bahwa ada 2 tipe struktur bintil aktinorisa yaitu tipe alnus dan casuarina. Tipe alnus memiliki banyak lentisel yang berfungsi sebagai ventilasi. Tipe bintil casuarina tidak memiliki lentisel, dan sel-sel suberin memberikan perlindungan terhadap nitrogenase serta akar lateralnya berfungsi untuk difusi oksigen.

IV. KESIMPULAN

A. Kesimpulan

1. Pertumbuhan bintil akar semai cemara udang memiliki kesamaan bentuk antara percobaan pot dengan percobaan di lapangan.
2. Bentuk bintil akar berbeda pada setiap umur tanaman: pada semai bintil akar berlekuk lekuk seperti bunga karang, sedang pada tanaman yang lebih tua bentuk bulat dan lebih keras dibandingkan dengan bintil akar pada tingkat semai.
3. Anatomi bintil akar cemara udang tidak berbeda dengan anatomi bintil akar *C. glauca*.
4. Semua isolat Frankia yang diperoleh dari bintil akar tegakan tua cemara udang mampu membentuk bintil akar pada inang yang sama dengan rata-rata jumlah bintil akar yang dibentuk 2,55 buah (34,86%) setelah 4 minggu inokulasi.

5. Isolat M4, M5, M6, M7, M8, M10, M11, T4 dan S1 dalam waktu 2 minggu setelah inokulasi sudah membentuk bintil akar rata-rata 1,89 buah (25,75%) dan isolat M5 dan M6 mampu membentuk bintil akar pada semua semai dalam waktu 2 minggu.

B. Saran

1. Penelitian perlu dipertajam dengan mempelajari faktor faktor yang menimbulkan kerusakan pada bintil akar.
2. Pembuatan bibit cemara udang di persemaian hendaknya sudah dibekali dengan isolat Frankia terseleksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bot, A. and J. Benites. 2005. *The Importance of Soil Organic Matter. Key to Drought-Resistant Soil and Sustained Food and Production*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Diouf, D., T.A. Diop and I. Ndoeye. 2003. *Actinorhizal, Micorhizal and Rhizobial Symbioses: How Much do We Know? 2003*. African Journal of Biotechnology Vol.2 (1) : 1-7.
- Dommergues, Y., H.G. Diem and D. Gauthier. 1982. *An Effective Strain of Frankia from Casuarina sp.* Canadian Journal Botany. 61: 2815-2821.
- Fred, E.B. and S.A. Waksman. 1928. *Laboratory Manual of General Microbiology*. McGraw-Hill Book Company, Inc. new York.
- Gordon, J.C. and C.T. Wheeler. 1983. *Biological Nitrogen Fixation in Forest Ecosystems: Foundations and Applications*. Martinus nijhoff/Dr W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands.
- Nickel, A., O. Pelz, D. Hahn, M. Saurer, R. Siedwolf and J. Zeyer. 2001. *Effect of Inoculation and Leaf litter Amendment on Establishment of Nodule-Forming Frankia Populations in Soil*. Applied and Environmental Microbiology, Jun. 2001, p. 2603-2609.
- Obertello, M., M.O. Sy. L. Laplaze., C. Santi., S. Svistoonoff, F. Auguy, D. Bogusz and C. Franche. 2003. *Actinorhizal Nitrogen Fixing Nodules: Infection Process, Molecular Biology and Genomics*. African Journal of Biotechnology Vol.2 (12). 528-538.
- Rajendran, K. and P. Devaraj. 2003. *Biomass and Nutrient Distribution and Their Return of Casuarina equisetifolia Inoculated with Biofertilizers in Farm Land*. Elsevier Ltd.

- Institute of Forest Genetics and Tree Breeding India. July 2003. p 235-248.
- Rao, N.S.S. 2001. *Soil Microbiology*. Science publishers, Inc. USA.
- Rao, N.S.S. and Y.R. Dommergues. 1998. *Microbial Interactions in Agriculture and Forestry*. Science Publishers, Inc. USA.
- Richards, B.N. 1994. *The Microbiology of Terrestrial Ecosystems*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Russo, R.O. 2005. *Nitrogen-Fixing Trees With Actinorhiza in Forestry and Agroforestry*. D. Werner and W.E. Newton (eds), Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology and the Environment, 143 - 171. Netherlands.
- Somasegaran, P., H. Hoben and J. Halliday. 1984. *The NifTAL for Methods in Legume-Rhizobium Technology*. University of Hawaii College of Tropical Agriculture and Humn Resources. USA.
- Srivastava, H.S. and R.P. Singh. 1999. *Nitrogen Nutrition and Plant Growth*. Science Publishers, Inc. U.S.A.
- Sumardi. 2003. Pengaruh Naungan dan Pemangkasan terhadap Kapasitas Penambatan Nitrogen *Leucena leucocephala* Lam. De Wit. Dalam Hutan Jati. Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta.
- Torrey, J.G. 1976. *Initiaton and Development of root Nodules of Casuarina (Casuarina-ceae)*. American. Journal. Botany. 63 (3): 335 - 344.