

Kemampuan Fiksasi Nitrogen Varietas Kedelai Batan yang Dikombinasikan dengan Rhizobium Menggunakan Teknik Isotop ^{15}N

The Nitrogen Fixation Ability of the Batan Soybean Varieties Combined with Rhizobium Using ^{15}N Isotope Technique

Nur Robifahmi¹, Winda Puspitasari¹, Muftia Hanani¹, Taufiq Bachtiar², Anggi
Nico Flatian², Ania Citraresmini²

¹Pusat Riset Teknologi Proses Radiasi, Badan Riset Inovasi Nasional. Jl. Lebak Bulus Raya No.
49, Jakarta Selatan 12440, Indonesia

²Pusat Riset Lingkungan dan Teknologi Bersih, Badan Riset Inovasi Nasional. Kawasan
Puspitek Gd. 820, Serpong 15314, Tangerang Selatan
E-mail: nurrobifahmi@gmail.com

ABSTRAK

Rhizobium merupakan jenis bakteri yang mampu mengikat nitrogen bebas yang berada di udara menjadi ammonia (NH_3) yang akan diubah menjadi asam amino yang selanjutnya menjadi senyawa nitrogen yang diperlukan tanaman untuk tumbuh dan berkembang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur kemampuan fiksasi nitrogen dari varietas kedelai BATAN dalam interaksi dengan bakteri rhizobium menggunakan teknik isotop ^{15}N . Penelitian dilakukan di Laboratorium Pertanian Ilmu Tanah Badan Tenaga Nuklir Nasional. Sampel diambil dari tanah asal Lombok. Perlakuan yang dicobakan meliputi: kontrol (urea ^{15}N 20 kg N/ha), rhizobium + urea ^{15}N 20 kg N/ha, urea ^{15}N 100 kg N/ha. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar semua perlakuan terhadap berat brangkas, bobot biji, serapan N brangkas dan serapan N biji. Perlakuan rhizobium + urea ^{15}N 20 kg N/ha merupakan perlakuan yang lebih efisien dalam penelitian ini. Penggunaan rhizobium dapat meningkatkan kesehatan tanah dengan memperkaya kandungan nitrogen organik dan meningkatkan keanekaragaman mikroba tanah sehingga dapat mengurangi ketergantungan pada pemakaian pupuk kimia anorganik bahkan degradasi lahan pertanian.

Kata kunci: kedelai, rhizobium, varietas Rajabasa, teknik isotop ^{15}N

ABSTRACT

Rhizobium is a type of bacteria that is able to fix free nitrogen in the air into ammonia (NH_3) which will be converted into amino acids which in turn become nitrogen compounds needed by plants to grow and develop. The purpose of this study was to measure the nitrogen fixation ability of BATAN soybean varieties in interaction with rhizobium bacteria using the ^{15}N isotope technique. The research was conducted at the Laboratory of Agricultural Soil Science of the National Nuclear Energy Agency. Samples were taken from soil of Lombok origin. The soybean variety used was Rajabasa. The treatments included: control (urea ^{15}N 20 kg N/ha), rhizobium + urea ^{15}N 20 kg N/ha, urea ^{15}N 100 kg N/ha. Based on the results of the study showed no significant differences between all treatments on the weight of stover, seed weight, stover N uptake and seed N uptake. However, if we consider the efficiency of fertilizer use and the potential to improve soil health, treatments involving the use of rhizobium can be considered a more efficient option in the long run. The use of rhizobium can improve soil health by enriching organic nitrogen content and increasing soil microbial diversity so as to reduce dependence on the use of inorganic chemical fertilizers and even degradation of agricultural land.

Keywords: soybean, rhizobium, Rajabasa variety, ^{15}N isotope technique

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu komoditas pertanian penting di Indonesia [1]. Kedelai memiliki berbagai manfaat, di antaranya adalah sebagai bahan baku tempe, tahu, susu kedelai, dan tepung kedelai. Kedelai juga merupakan sumber protein nabati yang baik [2]. Produktivitas kedelai di Indonesia masih rendah, yaitu sekitar 1 ton/hektar. Hal ini disebabkan oleh berbagai faktor, di antaranya adalah: pengetahuan petani tentang teknik budidaya kedelai yang masih kurang, penggunaan pupuk dan pestisida yang tidak tepat, kondisi iklim yang tidak mendukung.

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik 2023, produksi kedelai di Indonesia pada tahun 2022 mencapai 1,2 juta ton, naik dari tahun sebelumnya sebesar 1,1 juta ton. Namun, produksi kedelai tersebut masih belum memenuhi kebutuhan dalam negeri yang mencapai 2,1 juta ton. Berdasarkan data FAO 2023 bahwa produktivitas kedelai di Indonesia masih rendah dibandingkan dengan negara-negara lain di Asia. Misalnya, produktivitas kedelai di China mencapai 2,6 ton/hektar, di Vietnam mencapai 2,2 ton/hektar, dan di Thailand mencapai 2,1 ton/hektar.

Saat ini untuk meningkatkan produksi kedelai, petani lebih memilih pupuk kimia (anorganik), untuk asupan nutrisi tanaman dengan harapan mendapatkan hasil yang optimal. Pemakaian pupuk kimia anorganik yang terus menerus tanpa diimbangi penggunaan pupuk organik telah mendegradasi lahan pertanian. Salah satu dampak negatif yang diakibatkan pupuk kimia terus menerus adalah tanah menjadi keras [3], terjadi degradasi lahan sehingga produktivitas tanaman menurun [4]

Nutrisi merupakan faktor penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Di antara unsur-unsur nutrisi utama, ada nitrogen (N) dan kalsium (Ca). N berasal dari dua bentuk ion anorganik, amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-) yang berfungsi meningkatkan luas daun dan kesehatan untuk tanaman [5]. Akan tetapi ketersediaan unsur N di tanaman masih belum optimal.

Pengembangan teknik pemupukan bertujuan mengurangi kehilangan nitrogen, namun efisiensi penggunaan pupuk nitrogen masih belum mencapai tingkat optimal. Oleh karena itu, diperlukan penerapan teknologi penambatan nitrogen secara hayati dengan menggunakan

inokulasi rhizobium [6], untuk meningkatkan efisiensi pemupukan nitrogen pada pertanaman kedelai

Bakteri rhizobium merupakan bakteri pengikat nitrogen yang bersimbiosis dengan akar tanaman famili Leguminosae [7], sehingga bakteri rhizobium dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman kedelai. Berdasarkan penelitian [8] diketahui bahwa pemberian rhizobium dapat meningkatkan produksi tanaman kedelai. Rhizobium adalah mikroba yang mampu mengikat nitrogen bebas di udara dan mengubah menjadi ammonia (NH_3), yang akan diubah menjadi asam amino yang selanjutnya menjadi senyawa nitrogen yang diperlukan tanaman untuk tumbuh dan berkembang [9].

Mikroba dan tanaman dapat saling menguntungkan satu sama lain, dengan mikroba melepaskan zat pemacu pertumbuhan tanaman sebagai imbalan fotosintesis dari tanaman. Sebagai contoh, pengikatan N oleh bakteroid dalam bintil akar diangkut ke bagian udara tanaman untuk ditukar dengan senyawa karbon dari fotosintesis [10]. Teknik isotop ^{15}N digunakan untuk melacak kandungan nitrogen yang diserap oleh tanaman, dan juga dapat menghitung efisiensi pemupukan N pada tanaman [11], [12].

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur kemampuan fiksasi nitrogen varietas kedelai BATAN dan rhizobium dengan menggunakan teknik isotop ^{15}N .

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret s.d. November 2021 di lahan dan laboratorium Kelompok Pemupukan dan Nutrisi Tanaman, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Lebak Bulus Jakarta. Titik koordinat lokasi percobaan rumah kaca adalah $6^{\circ}17'43,36''$ lintang selatan (LS), $106^{\circ}46'27,99''$ bujur timur (BT). Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tanah latosol Pasar Jumat, benih jagung manis varietas Talenta, pupuk SP-36, pupuk KCl, pupuk urea bertanda ^{15}N (5% atom *excess* ^{15}N), pot volume 20 L, pembungkus kertas untuk sampel tanaman dan bahan-bahan kimia untuk analisis kandungan N tanaman metode Kjeldhal.

Bahan yang digunakan adalah benih kedelai varietas Rajabasa. Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah: oven, neraca analitik (Shimadzu BX22KH), alat destruksi dan alat

destilasi untuk analisis kandungan N tanah, *continuous-flow isotope ratio mass spectrometer* (IRMS, Termo Fisher Scientific) yang terdiri dari elemental analyzer (EA Isolink CNSOH) dan IRMS (DeltaPLUS) yang dihubungkan melalui ConFlow IV universal interface.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang tersusun dari 3 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali sehingga jumlah satuan percobaannya adalah 9 satuan percobaan. Perlakuan yang dicobakan meliputi: 1) Kontrol (urea ¹⁵N 20 kg N/ha); 2) Rhizobium + urea ¹⁵N 20 kg N/ha; 3) Urea ¹⁵N 100 kg N/ha.

Pelaksanaan percobaan

Persiapan lahan

Pengolahan lahan dilakukan sebelum dilakukan penanaman. Selanjutnya dilakukan pembalikan lapisan olah tanah agar sisa-sisa tanaman seperti rumput dan jerami dapat terbenam. Setelah dibiarkan beberapa hari selanjutnya dilakukan proses penggemburan. Setelah gembur permukaan tanah diratakan agar siap ditanami. Luas satu plot percobaan adalah 4 x 2 m².

Penanaman.

Penanaman kedelai dilakukan dengan memasukkan benih ke dalam lubang tanam pada jarak antar tanaman 40 cm x 25 cm. Varietas kedelai yang digunakan adalah Rajabasa (Gambar 1).

Pemupukan

Pupuk SP 36 diberikan dengan dosis 150 kg/ha. Pupuk KCl diberikan dengan dosis 100 kg/ha. Pupuk P (SP 36) dan K (KCl) diberikan pada saat 10 hari setelah tanam (HST).

Pupuk N (urea) diberikan sesuai perlakuan. Pemupukan N dilakukan dua tahap, yaitu tahap pertama sebanyak 30% dilakukan saat 14 HST dan tahap dua sebanyak 70% pada saat 60 HST, sedangkan pemupukan P dan K dilakukan pada saat 14 HST.

Pemeliharaan

Tanaman kedelai dijaga dari serangan hama dan penyakit. Apabila terlihat gejala serangan hama dan penyakit maka dilakukan penyemprotan menggunakan pestisida atau insektisida. Dilakukan juga penyiangan untuk membersihkan gulma dari lahan percobaan.

Pemupukan N menggunakan urea bertanda ¹⁵N Untuk mempelajari efisiensi penyerapan pupuk N digunakan pupuk urea bertanda ¹⁵N yang mengandung 2% atom *excess* ¹⁵N. Pemupukan menggunakan urea bertanda dilakukan di dalam mikro plot berukuran 1,6 x 1 m² yang terletak di dalam plot percobaan (Gambar 2). Pupuk urea bertanda diberikan dengan dosis dan waktu aplikasi yang sama dengan pupuk urea biasa.

Pemupukan dengan ¹⁵N menggunakan dosis dan cara yang sama dengan urea pada plot utama sesuai perlakuan. Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi bobot biji dan bobot stover tanaman. Tanaman dipanen pada usia panen. Tanaman dipanen dan dipisahkan antara biji dan brangkasnya kemudiandihitung bobot kering biji serta brangkas. Bobot kering diamati setelah sampel dikeringkan dalam oven dengan suhu ± 65°C selama 7 hari. Serapan N dan efisiensi pemupukan N diamati menggunakan teknik isotop ¹⁵N.

Perhitungan data isotop ¹⁵N

Perhitungan rumus efisiensi pemupukan N dihitung melalui rumus 1-6, sebagai berikut [13].

$$\%N\text{-bdp} = \frac{\% \text{ }^{15}\text{N atom excess tanaman}}{\% \text{ }^{15}\text{N atom excess pupuk}} \times 100 \quad (1)$$

$$\%N\text{-bdt} = 100\% - \%N\text{-bdp} \quad (2)$$

$$\%N\text{-bda} = 100\% - \%N\text{-bdp (fiksasi)} - \%N\text{-bds (fiksasi)} \quad (3)$$

$$\text{Penyerapan N berasal dari tanah (mg/tanaman)} = \%N\text{-bdt} \times \text{serapan N tanaman} \quad (4)$$

$$\text{Penyerapan N berasal dari pupuk (mg/tanaman)} = \%N\text{-bdp} \times \text{serapan N tanaman} \quad (5)$$

$$N_2\text{fixed (kg/ha)} = \frac{\% N\text{bdu} \times \text{serapan N tanaman yang memfiksasi N}}{100} \quad (6)$$



Gambar 1. Tanaman kedelai varietas Rajabasa.



Gambar 2. Mikroplot ^{15}N .

Analisis statistik

Analisis data dilakukan menggunakan sidik ragam dan apabila perlakuan berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji beda nilai tengah Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%. Software yang digunakan untuk uji statistik adalah Microsoft Excel dan SPSS 16

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh rhizobium terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai

Hasil analisis statistik yang ditampilkan dalam Tabel 1 menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan

terhadap bobot brangkasan, bobot biji, serapan N brangkasan, dan serapan N biji. Hal ini mengindikasikan bahwa tanaman kedelai mungkin sudah mendapatkan cukup nitrogen dari tanah, sehingga tambahan pupuk hayati rhizobium dan ure, tidak memberikan peningkatan yang signifikan dalam serapan nitrogen atau hasil produksi tanaman.

Menurut Rosmarkam dan Yuwono [14], tanah dengan kriteria sedang menunjukkan bahwa hara dalam tanah cukup untuk produksi dan juga cukup memadai bila dipupuk dengan pupuk yang mengandung hara. Namun, dalam kondisi seperti ini, sedikit peningkatan produksi atau masih respon terhadap pemupukan dapat terjadi. Dalam penelitian ini, nilai nitrogen di tanah Pasar Jumat mungkin sudah tinggi, sehingga tanaman tidak dapat merespon secara signifikan terhadap aplikasi pupuk hayati rhizobium.

Kontribusi perlakuan terhadap serapan N pada biji dengan teknik isotop ^{15}N

Data Tabel 2 menunjukkan pengaruh perlakuan pupuk urea, pupuk hayati rhizobium, terhadap kontribusi serapan N pada gabah yang ditentukan dengan teknik ^{15}N . Berdasarkan data %Nbdp (NF) (%N berasal dari pupuk (non fiksasi) menunjukkan nilai sebesar 11,10% - 13,36%). Berdasarkan data %Nbdp (F) (%N berasal dari pupuk (fiksasi) menunjukkan nilai sebesar 9,63% - 16,15%). Berdasarkan data %Nbdt (NF) (%N berasal dari tanah (non fiksasi) menunjukkan nilai sebesar 86,63% - 88,89%). Berdasarkan data %Nbdt (NF) (%N berasal dari tanah (fiksasi) menunjukkan nilai sebesar 62,42% - 105%).

Nilai %Nbdu (N berasal dari udara) pada penelitian ini tertinggi pada perlakuan perlakuan rhizobium + urea ^{15}N 20 kg N/ha yaitu 9,31% atau setara dengan N_2 *fixed*-nya yaitu sebesar 9,568 kg/ha. Hal ini kemungkinan disebabkan karena rhizobium merupakan bakteri yang mampu menambat nitrogen bebas dari udara dan mengubahnya menjadi bentuk yang dapat diserap

Tabel 1. Data bobot brangkasan, bobot biji, serapan N brangkasan, serapan N biji tanaman kedelai.

Perlakuan	Bobot brangkasan kedelai (ton/ha)	Bobot Biji Kedelai (ton/ha)	Serapan N brangkasan (kg/ha)	Serapan N biji (kg/ha)
Kontrol (urea ^{15}N 20 kg N/ha)	1,445 a	1,347 a	23,305 a	58,563 a
Rhizobium + urea ^{15}N 20 kg N/ha	1,785 a	1,101 a	36,465 a	52,871 a
Urea ^{15}N 100 kg N/ha	1,828 a	1,258 a	30,492 a	45,147 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Tabel 2. Data %NDFP(NF), %NDFP (Fix), %NDFS (NF), %NDFS (Fix), %Nbdu, N₂ fixed (kg/ha).

Perlakuan	%Nbdp (NF)	%Nbdp (Fix)	%Nbd (NF)	%NDFS (Fix)	%Nbdu	N ₂ fixed (kg/ha)
Kontrol (urea ¹⁵ N 20 kg N/ha)	11,108	10,683	88,892	85,488	3,22 a	3,049 a
Rhizobium + urea ¹⁵ N 20 kg N/ha	13,368	9,633	86,632	62,428	9,31 a	9,568 a
Urea ¹⁵ N 100 kg N/ha	13,327	16,155	86,673	105,066	7,24 a	5,164 a

Keterangan:

- 1) Nbdp = N berasal dari pupuk, NF = non fiksasi, Nbd = N berasal dari tanah, Nbdu = N berasal dari udara
- 2) Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

oleh tanaman. Pada dosis urea yang lebih rendah (20 kg N/ha), tanaman kedelai mungkin lebih bergantung pada nitrogen yang ditambat oleh rhizobium karena ketersediaan nitrogen dari pupuk anorganik lebih terbatas. Sebaliknya, pada dosis urea yang lebih tinggi (100 kg N/ha), tanaman mungkin lebih banyak memanfaatkan nitrogen dari pupuk anorganik, sehingga kontribusi rhizobium terhadap N₂ fixed menjadi lebih rendah [5]

Meskipun nilai %Nbdu atau N₂ fixed pada perlakuan rhizobium + urea 20 kg N/ha lebih tinggi, perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Hal ini bisa disebabkan oleh variasi alami dalam proses fiksasi nitrogen oleh rhizobium atau faktor lingkungan lain yang mempengaruhi efisiensi penambatan nitrogen. Selain itu, tanah yang sudah kaya nitrogen mungkin tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam serapan nitrogen tambahan dari fiksasi biologis [5].

Hasil uji statistik data Tabel 2 menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang nyata terhadap kontribusi N berasal dari tanah/sumber berlabel (N-bdt) dan N berasal dari perlakuan aktivitas rhizobium/sumber N (N-bdp). Persentase N yang diserap tanaman berasal dari tanah (%Nbd) pada penelitian ini adalah sebesar 62,42% - 105% sedangkan 9,63% - 16,15% (%Nbdp) berasal dari pupuk (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena kandungan nitrogen di tanah Pasar Jumat sudah tinggi, yang mengindikasikan bahwa tanaman kedelai di lokasi tersebut sudah memiliki akses yang cukup terhadap nitrogen tanah, sehingga penambahan rhizobium tidak memberikan kontribusi signifikan terhadap peningkatan serapan nitrogen oleh tanaman [3].

Persentase N yang diserap tanaman berasal dari tanah (%Nbd) yang tinggi menunjukkan bahwa tanaman mampu memanfaatkan nitrogen yang ada di dalam tanah secara efektif. Sementara itu, persentase N yang berasal dari pupuk (%Nbdp) yang lebih rendah menunjukkan bahwa

tanaman tidak terlalu bergantung pada pupuk sebagai sumber nitrogen utama. Hal ini dapat terjadi karena tanah yang sudah kaya akan nitrogen mungkin tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam serapan nitrogen tambahan dari fiksasi biologis atau dari pupuk tambahan [3]

Selain itu, tanah dengan kriteria sedang menunjukkan keadaan hara dalam tanah yang cukup untuk produksi dan juga cukup memadai, bila dipupuk dengan pupuk yang mengandung hara maka sedikit menunjukkan kenaikan produksi atau masih respon terhadap pemupukan [14]. Oleh karena itu, tanaman di tanah yang sudah memiliki kandungan nitrogen yang cukup mungkin tidak menunjukkan respon yang signifikan terhadap perlakuan rhizobium atau penambahan pupuk nitrogen dalam dosis rendah.

Hasil ini sejalan dengan penelitian [6] yang melaporkan bahwa inokulasi rhizobium tidak memberikan hasil yang signifikan terhadap bobot 100 biji, hasil produksi tanaman kedelai. Penelitian Manurung dkk. (2019) melaporkan bahwa tidak terjadi interaksi antara kombinasi perlakuan bakteri rhizobium dengan dosis pupuk P [16]. Li dkk. (2018) menemukan bahwa 26,8 – 32,4 % N dalam tanaman jagung berasal dari pupuk N sedangkan sebagian besar N lainnya (67,6 – 73,2 %) berasal dari tanah meskipun dosis pupuk N yang diberikan lebih besar [17].

Menurut Bachtiar dkk (2020), semakin rendah rata-rata persen ¹⁵N dalam gabah tanaman, maka semakin tinggi pengaruh perlakuan terhadap serapan N dalam gabah [18]. Nilai persentase ¹⁵N ini sejalan dengan persen kontribusi perlakuan pada serapan N gabah. Nilai %Nbdu dan N₂ fixed pada perlakuan rhizobium + urea ¹⁵N 20 kg N/ha menunjukkan nilai tertinggi walaupun secara statistik tidak berbeda nyata. Berdasarkan penelitian Viera-Vargas dkk. (1995), BNF (%Nbdu) dari centrosema dibandingkan dengan tanaman tanaman kontrol yang tidak memfiksasi N [19]. Tanaman ini mempunyai nilai %Ndfa legum ini yang sangat tinggi (> 84%), Sebaliknya,

pada percobaan kedua, estimasi %N_{bd} P. vulgaris bervariasi dari 33 hingga 62%.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai dengan semua kombinasi perlakuan. Perlakuan interaksi antara varietas kedelai dengan pemupukan nitrogen juga tidak berpengaruh signifikan. Akan tetapi perlakuan rhizobium + urea ¹⁵N 20 kg N/ha merupakan perlakuan yang lebih efisien dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Sudono Slamet, Budi, Andika, Dadang, Heri, yang telah membantu dalam proses kegiatan di laboratorium kelompok tanah dan pemupukan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] G. A. Nuria, E. Nihayati, and S. M. Sitompul, "Tanggapan Pertumbuhan dan Hasil Dua Varietas Kedelai [Glycine max (L) Merr.] terhadap Pengairan," *Produksi Tanam.*, vol. 7, no. 12, pp. 2323–2333, 2019.
- [2] N. Güzeler and Ç. Yildirim, "The Utilization and Processing of Soybean and Soybean Products," *J. Agric. Fac. Uludag Univ.*, vol. 4, no. November, pp. 133–137, 2017.
- [3] S. R. Priambodo, K. D. Susila, and N. N. Soniari, "Pengaruh Pupuk Hayati dan Pupuk Anorganik Terhadap Beberapa Sifat Kimia Tanah Serta Hasil Tanaman Bayam Cabut (*Amaranthus tricolor*) di Tanah Inceptisol Desa Pedungan," *J. Agroteknologi Trop.*, vol. 8, no. 1, pp. 149–160, 2019.
- [4] E. P. Afriadi Simanjuntak, Ratna Rosanty Lahay, "Respon pertumbuhan dan produksi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap pemberian pupuk NPK dan kompos kulit buah kopi," *J. Online Agroekoteknologi*, vol. 1, no. 3, pp. 362–373, 2013.
- [5] V. Torres-Olivar *et al.*, "Role of Nitrogen and Nutrients in Crop Nutrition," *J. Agric. Sci. Technol.*, vol. 4, no. 1B, pp. 29–37, 2014.
- [6] A. N. Augusta, S. Supriyono, and S. Nyoto, "Inokulasi Rhizobium dan Populasi Tanaman terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kedelai pada Sistem Tanpa Olah Tanah," *Agrotechnology Res. J.*, vol. 3, no. 2, pp. 80–84, 2019.
- [7] V. González *et al.*, "Phylogenomic Rhizobium species are structured by a continuum of diversity and genomic clusters," *Front. Microbiol.*, vol. 10, no. APR, pp. 1–15, 2019.
- [8] M. S. Ntambo *et al.*, "The effect of rhizobium inoculation with nitrogen fertilizer on growth and yield of soybeans (*Glycine max* L.)," *Int. J. Biosci.*, no. March, 2017.
- [9] S. Burén and L. M. Rubio, "State of the art in eukaryotic nitrogenase engineering," *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 365, no. 2, pp. 1–9, 2018.
- [10] C. Kaiser *et al.*, "Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: Mycorrhizal pathway vs direct root exudation," *New Phytol.*, vol. 205, no. 4, pp. 1537–1551, 2015.
- [11] P. M. Chalk, "Can N fertilizer use efficiency be estimated using ¹⁵N natural abundance?," *Soil Biol. Biochem.*, 2018.
- [12] K. F. Rocha *et al.*, "Field Crops Research Fate of ¹⁵N fertilizer applied to maize in rotation with tropical forage grasses," *F. Crop. Res.*, vol. 238, no. January, pp. 35–44, 2019.
- [13] P. Lü, J. W *et al.*, "Effects of nitrogen application stage on grain yield and nitrogen use efficiency of high-yield summer maize," vol. 2012, no. 2009, pp. 211–216, 2012.
- [14] N. W. Y. Afandie Rosmarkam, Ilmu

- Kesuburan Tanah. 2002.
- [15] S. R. Priambodo, K. D. Susila, and N. N. Soniari, "Pengaruh pupuk hayati dan pupuk anorganik terhadap beberapa sifat kimia tanah serta hasil tanaman bayam cabut (*Amaranthus Tricolor*) di tanah inceptisol Desa Pedungan," *J. Agroekoteknologi Trop. (Journal Trop. Agroecotechnology)*, vol. 8, no. 1, pp. 149–160, 2019.
- [16] D. S. Manurung, Y. Hasanah, and R. Sipayung, "Growth Response and Production of Soybean (*Glycine max* (L.) on Application of Phosphorous Fertilizer and Rhizobium Inoculation," *Indones. J. Agric. Res.*, vol. 1, no. 3, pp. 289–294, 2019.
- [17] G. li, J *et al.*, "Fate of Basal N Under Split Fertilization in Rice with ^{15}N Isotope Tracer," *Pedosphere*, vol. 28, no. 1, pp. 135–143, 2018.
- [18] T. Bachtiar *et al.*, "Pengaruh Dan Kontribusi Pupuk Kandang Terhadap N Total, Serapan N (^{15}N), Dan Hasil Padi Sawah (*Oryzae Sativa* L.) Varietas Mira-1," *J. Sains dan Teknol. Nukl. Indones.*, vol. 21, no. 1, p. 35, 2020.
- [19] M. S. Viera-Vargas *et al.*, "Use of different ^{15}N labelling techniques to quantify the contribution of biological N_2 fixation to legumes," *Soil Biol. Biochem.*, vol. 27, no. 9, pp. 1185–1192, 1995.