

Mekanisme Fisiologi Toleransi Cekaman Aluminium Spesies Legum Penutup Tanah terhadap Metabolisme Nitrat (NO_3^-), Amonium (NH_4^+), dan Nitrit (NO_2^-)

Physiological Mechanisms in Al-tolerant of Legume Cover Crops Species to the Metabolism of Nitrate (NO_3^-), Ammonium (NH_4^+), and Nitrite (NO_2^-)

M. Zulman Harja Utama^{1*}

Diterima 4 Maret 2008/Disetujui 2 Juli 2008

ABSTRACT

The experiment was aimed to investigate the Al-tolerant mechanisms physiology of legume cover crops species related to metabolism NO_3^- , NH_4^+ , and NO_2^- . The results revealed that an addition of Al had less effect on Al-tolerant species compared to Al-sensitive in term of reduction in NO_3^- , NH_4^+ and NO_2^- uptake. The reduction in Nitrit of the Al-tolerant species under Al treatment was less than in Al-sensitive species. The results suggested that in tolerant legume cover crops species, the higher level of Al tolerance seems to have emanated from efficient NO_3^- metabolism and the higher NO_2^- to NH_4^+ .

Key words: Legume cover crop, aluminum tolerance, NO_3^- , NH_4^+ and NO_2^-

PENDAHULUAN

Aluminium merupakan ion rhizotoksik yang menghambat pertumbuhan dan produktifitas tanaman di tanah mineral masam (Huang dan Violante, 1997). Walaupun Al menghambat proses metabolisme dan pertumbuhan tanaman, akan tetapi sampai ambang tertentu pengaruh Al dapat ditoleransi oleh tanaman yang toleran (Sopandie, 1999; Kasim, 2000; Ma, 2000; Utama *et al.*, 2004).

Hasil penelitian pada tanaman kedelai toleran memperlihatkan kemampuannya mengubah pH media 2-2.5 kali lebih besar dibandingkan spesies peka, demikian juga dengan kemampuan eksudasi asam sitrat dan malat, yaitu 2-3 kali lebih besar dibandingkan spesies peka (Utama *et al.*, 2005), sedangkan penyerapan nitrat relatif lebih banyak dibandingkan amonium. Peningkatan pH kultur air berhubungan dengan kemampuan yang lebih besar dalam menyerap nitrat (NO_3^-) dari pada amonium (NH_4^+) yang akan mempengaruhi pH media tumbuh (Sopandie, 1999). Hal ini diduga terkait dengan efisiensi reduksi nitrat yang lebih besar dari pada amonium pada spesies toleran terhadap cekaman Al. Hasil penelitian Sopandie (1999) menunjukkan total aktivitas nitrat reduktase (TANR) dan aktivitas spesifik nitrat reduktase (SANR) mencapai 2-3 kali lebih tinggi pada kedelai toleran dibandingkan dengan kedelai peka.

Peubahan pH media berhubungan dengan keseimbangan pada penyerapan anion dan kation serta kemampuan tanaman untuk mensintesis asam organik.

Hal ini dikemukakan oleh Haynes (1990), berdasarkan pada penyerapan anion dan kation, yaitu: a) apabila anion yang diserap lebih banyak dari pada kation, maka: (total anion)-(total kation) menyebabkan ekskresi OH^- sehingga pH media meningkat, b). apabila kation yang diserap lebih banyak dari pada anion, maka (total kation)- (total anion) akan menyebabkan ekskresi H^+ sehingga pH media turun, c) apabila nitrat yang diserap lebih banyak dari pada amonium, maka: (total nitrat)-(total amonium) akan menyebabkan ekskresi OH^- sehingga pH meningkat, d) apabila amonium yang diserap lebih banyak dari pada nitrat, maka: (total amonium)-(total nitrat) akan menyebabkan ekskresi H^+ sehingga pH media turun. Peningkatan pH media tumbuh pada kedua spesies legum penutup tanah tersebut diduga berhubungan dengan perbedaan penyerapan amonium dan nitrat. Penelitian tentang mekanisme metabolisme Nitrat, Amonium dan Nitrit pada spesies legum penutup tanah yang mengalami cekaman aluminium masih sangat kurang memadai, sehingga dari penelitian ini diharapkan dihasilkan informasi mekanisme fisiologi toleransi yang sangat berguna untuk penelitian lanjutan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan mekanisme toleransi terhadap cekaman aluminium tinggi pada spesies legum penutup tanah, dan lebih spesifik adalah untuk mengetahui aktifitas metabolisme: (1) Nitrat (NO_3^-), (2) Amonium (NH_4^+), dan (3) Nitrit (NO_2^-) pada spesies legum penutup tanah yang toleran dan peka.

¹ Lektor Kepala pada Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Tamansiswa JL. Tamansiswa No. 9 Padang 25146. Hp. 0815961924
(* Penulis untuk korespondensi)

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan selama sepuluh bulan, yaitu pada bulan Februari sampai November 2007, bertempat di Laboratorium Universitas Tamansiswa Padang dan Laboratorium Kopertis Wilayah X Padang.

Spesies legum yang digunakan pada percobaan ini adalah spesies terpilih, yaitu *Centrosema pubescens* (peka) dan *Pueraria javanica* (toleran) (Utama *et al.*, 2004). Bahan kimia yang digunakan sebagai larutan hara (lihat paragraf di bawah), dan alat utama untuk keperluan analisis menggunakan Spectroquant Thermoreaktor TR Nova 400 (Merck, Jerman).

Percobaan faktorial dua faktor ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah spesies legum terpilih, yaitu: $L_1 = \textit{Centrosema pubescens}$, dan $L_2 = \textit{Pueraria javanica}$. Faktor kedua adalah konsentrasi aluminium (Utama, 2004), yaitu: $A_0 = \text{Al } 0.0 \text{ mM}$ pada pH 4.0; dan $A_1 = \text{Al } 1.0 \text{ mM}$ pada pH 4.0.

Benih spesies legum tersebut, sebelum dikecambahkan terlebih dahulu direndam dalam larutan fungisida Dithane M-45 dan insektisida Decis, masing-masing dengan konsentrasi 3 g/l dan 1 ml/l selama 20 menit, setelah itu dibilas sampai bersih dan direndam selama 24 jam. Kemudian benih dikecambahkan selama 10 hari dalam bak plastik berlubang dengan media zeolit, pada ruang gelap dengan suhu kamar. Kecambah yang digunakan pada percobaan ini mempunyai ukuran panjang akar 3 cm.

Larutan hara untuk media kultur air menggunakan komposisi yang terdiri dari: 1.5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 1.0 mM NH_4NO_3 ; 1.0 mM KCl; 0.4 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1.0 mM KH_2PO_4 ; 0.50 ppm $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0.02 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.05 ppm $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.50 ppm H_3BO_3 ; 0.01 ppm $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.068 mM Fe-EDTA; dan $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sopandie, 1999; Utama, 2004). Kecambah tersebut ditumbuhkan dalam bak plastik yang diisi dengan 2.5 liter larutan hara tanpa Al pada pH 4.0. Media adaptasi menggunakan 1/5 dari konsentrasi larutan hara tanpa Al pada pH 4.0 selama 7 hari, setelah itu benih legum tersebut ditumbuhkan pada larutan hara menggunakan 1/3 dari konsentrasi pada pH 4.0 (Sopandie, 1999; Utama, 2004) dengan cekaman Al sesuai dengan perlakuan yang telah ditetapkan.

Pergantian larutan hara dilakukan setiap 7 hari sekali, dan selama percobaan berlangsung larutan hara dialiri udara menggunakan aerator. Pada setiap bak plastik terdapat 5 tanaman dengan penyangga dari styrofoam yang diberi lubang sebanyak 5 buah, dan supaya tanaman dapat berdiri tegak, maka tanaman dibalut dengan kapas steril pada bagian pangkal batang. Setelah 21 hari pada media perlakuan, tanaman dipanen dan dilakukan pengamatan. Kegiatan analisis terdiri

dari beberapa parameter pengamatan antara lain adalah analisis kadar NO_3^- , NH_4^+ dan NO_2^- .

Analisis Kadar NO_3^- , NH_4^+ , dan NO_2^-

Tanaman sampel yang akan digunakan terlebih dahulu ditimbang bobotnya, setelah itu digerus sampai halus kemudian dipanaskan sampai semua asap (SO_3) keluar. Selanjutnya didinginkan selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan H_2O_2 sampai larutan menjadi jernih. Kegiatan pemanasan tersebut diulangi, sampai larutan tersebut volumenya menjadi 2-3 ml saja, setelah itu larutan dipindahkan ke labu ukur 50 ml dan dipaskan dengan aquades.

Kegiatan analisis kadar NO_3^- , NH_4^+ , dan NO_2^- dilakukan dengan alat Spectroquant Thermoreaktor TR Nova 420. Sistem kerja dari alat ini adalah dengan cara dimasukkannya tabung larutan standar yang telah diberi barcode, oleh pabrik dari peralatan Spectroquant Thermoreaktor TR Nova 420 dan menggunakan larutan test kid yang dicampurkan dengan larutan sample kemudian dikocok beberapa saat pada kufet kristal, setelah itu larutan sample siap diukur (Anonim, 2007).

Cara kerjanya sebagai berikut; larutan standar berbarcode dimasukkan ke Spectroquant Thermoreaktor TR Nova 420 dan persiapkan larutan test kid (NO_3^- , NH_4^+ dan NO_2^-) dan ditambahkan larutan sample sebanyak 2 ml pada masing-masing larutan test kid dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu campuran test kid tersebut dimasukkan ke dalam kufet kristal ukuran 10 ml dan segera dilakukan pembacaan dengan Spectroquant Thermoreaktor TR Nova 420 (Anonim, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis terhadap kadar Nitrat (NO_3^-), Amonium (NH_4^+) dan Nitrit (NO_2^-) pada spesies *Centrosema pubescens* (Cp) dan *Pueraria javanica* (Pj) yang tercekam Al pada kultur air memperlihatkan adanya variasi antara spesies peka (Cp) dengan spesies toleran Al (Pj). Tabel 1 memperlihatkan kedua spesies legum penutup tanah tersebut mempunyai kemampuan dalam penyerapan NO_3^- , NH_4^+ , maupun NO_2^- . Hal ini menunjukkan, bahwa tidak ada hambatan dalam penyerapan NO_3^- , NH_4^+ , dan NO_2^- dalam kondisi tercekam Al, pada kedua spesies legum tersebut. Pada perlakuan jenis legum dan konsentrasi Al memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata terhadap kadar NO_3^- , sedangkan pada peubah kadar NH_4^+ dan NO_2^- , nyata dipengaruhi oleh interaksi antara spesies legum penutup tanah dan cekaman aluminium.

Tabel 1. Kadar Nitrat (NO₃⁻), Amonium (NH₄⁺), dan Nitrit (NO₂⁻) pada legum penutup tanah peka dan toleran Al yang ditumbuhkan pada kultur air, umur 3 MST

Tingkat konsentrasi aluminium	Jenis Legum		Rata-rata
	<i>Centrosema pubescens</i> (peka)	<i>Pueraria javanica</i> (toleran)	
	-----NO ₃ ⁻ (%) -----		
0.0 mM	0.594	0.154	0.374
1.0 mM	0.429	0.536	0.483
Rata-rata	0.512	0.345	
	----- NH ₄ ⁺ (%) -----		
0.0 mM	0.172 d	0.204 c	
1.0 mM	0.807 a	0.471 b	
	----- NO ₂ ⁻ (ppm) -----		
0.0 mM	3.830 b	5.040 a	
1.0 mM	2.040 c	4.710 a	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada peubah yang sama pada masing-masing perlakuan menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5 % dengan uji Tukey

Kadar NO₃⁻ pada spesies legum peka (Cp) dalam kondisi tercekam Al mengalami penurunan dibandingkan tanpa cekaman Al yaitu 0.28 kali (-0.165), hal ini sangat berbeda dengan spesies toleran Al (Pj) dimana pada kondisi tercekam Al kadar NO₃⁻ mengalami peningkatan 2.5 kali (0.382). Pada kondisi tanpa cekaman Al serapan NO₃⁻ pada spesies peka lebih tinggi 2,9 kali (0.44) dibandingkan spesies toleran, sedangkan pada kondisi tercekam Al serapan NO₃⁻ lebih rendah 0.25 kali (-0.107) dibandingkan dengan spesies toleran (Tabel 1).

Pada Tabel 1 memperlihatkan serapan NH₄⁺ pada spesies peka yang tercekam Al mengalami peningkatan 3.7 kali (0.635), sedangkan pada spesies toleran kadar NH₄⁺ hanya mengalami peningkatan 1.3 kali (0.267) dibandingkan pada kondisi tidak tercekam Al. Akan tetapi jumlah serapan NH₄⁺ pada spesies peka lebih tinggi 0.71 kali (0.336) dibandingkan spesies toleran.

Hasil ekstraksi terhadap spesies peka dan toleran, juga memperlihatkan adanya kandungan NO₂⁻. Cekaman Al pada spesies peka menyebabkan kadar NO₂⁻ mengalami penurunan sebesar 0.88 kali (-1.79) dibandingkan tanpa cekaman Al, sedangkan pada spesies toleran juga mengalami penurunan kadar NO₂⁻, namun penurunannya hanya 0.07 kali (0.945). Kadar NO₂⁻ pada spesies toleran yang tercekam Al lebih tinggi 1.3 kali (2.67) dibandingkan dengan serapan NO₂⁻ pada spesies peka (Tabel 1).

Ratio NO₃⁻/NH₄⁺ (-Al/+Al) pada spesies peka tercekam Al mengalami penurunan 0.85 kali (-2.921) dibandingkan tanpa cekaman Al, sebaliknya pada spesies toleran justru terjadi peningkatan yang sangat besar yaitu 4.9 kali (0.945). Ratio kandungan kadar NO₃⁻/NH₄⁺ tertinggi terdapat pada spesies toleran *Pueraria javanica*, yaitu 1.138 (Tabel 2).

Tabel 2. Ratio NO₃⁻/NH₄⁺ pada legum penutup tanah peka dan toleran Al yang ditumbuhkan pada kultur air, umur 3 MST

Spesies legum	Perlakuan Al	
	- Al	+ Al
Peka		
<i>Centrosema pubescens</i>	3.454	0.532
Toleran		
<i>Pueraria javanica</i>	0.193	1.138

Ket. -Al =0.0 mM Al/pH 4.0; +Al = 1.0 mM Al/pH 4.0

Hambatan pertumbuhan pada tanah masam adalah akibat dari kelarutan Al³⁺ terutama pada kondisi pH kurang dari 5 (Degenhardt *et al.*, 1998; Ma, 2000) yang bersifat racun bagi tanaman, dan rendahnya kelarutan hara esensial sehingga terjadi kekahatan (Takita *et al.*, 1999). Toleransi tanaman terhadap Al merupakan faktor yang penting untuk adaptasi pada tanah masam. Identifikasi terhadap hambatan pertumbuhan tanaman karena peningkatan konsentrasi Al dalam larutan hara merupakan parameter untuk menyeleksi genotipe berdasarkan tingkat toleransinya terhadap cekaman Al (Utama, 2004).

Pada tanah masam umumnya ketersediaan hara sangat terbatas, selain itu kemampuan tanaman untuk menyerap hara juga dibatasi oleh kandungan Al yang tinggi terutama pada pH di bawah 5.5. Pada pH <4.0 kelarutan Al sangat tinggi terdapat dalam bentuk Al³⁺ yang sangat beracun bagi tanaman, selain itu juga terdapat bentuk lainnya yaitu, Al(OH)²⁺ dan Al(OH)₂⁺, pada pH >5.5 pengaruh jelek dari Al³⁺ dapat diabaikan

(Marschner, 1995; Kochian, 1995). Pada keadaan tersebut proporsi pertukaran kation semakin meningkat dengan dijenuhinya oleh Al, dan menggantikan kation polivalen seperti Ca^{++} dan Mg^{++} , kemudian Al yang bebas akan mengikat P dan Mo.

Toleransi tanaman terhadap cekaman Al dapat terjadi secara internal dan eksternal, sebagai suatu mekanisme untuk dapat beradaptasi pada tanah masam dengan Al tinggi. Kedua mekanisme tersebut dapat terjadi secara bersamaan, walaupun dalam derajat yang berbeda sesuai dengan jenis tanaman dan kemampuannya untuk beradaptasi. Perbedaan utama dari kedua mekanisme tersebut adalah dalam hal daerah tempat terjadinya pengkelatan terhadap Al, apakah di simplas (internal) dan apoplas (eksklusi) (Delhaize and Ryan, 1995); Pellet *et al.* (1995); Degenhardt *et al.* (1998); Sopandie (1999); Ma (2000) mengemukakan faktor fisiologi yang berkaitan dengan sifat toleransi terhadap cekaman Al antara lain berhubungan dengan kemampuan preferensi terhadap NO_3^- , NH_4^+ dan Aktifitas Nitrat Reduktase.

Hasil percobaan mekanisme fisiologi toleransi cekaman aluminium terhadap metabolisme nitrat (NO_3^-), amonium (NH_4^+), dan Nitrit (NO_2^-) pada spesies legum penutup tanah peka (*Centrosema pubescens*) dan toleran (*Pueraria javanica*), memperlihatkan adanya perbedaan tanggap pada kadar NO_3^- , NH_4^+ dan NO_2^- . Hal ini menunjukkan adanya perbedaan toleransi antar spesies legum tersebut terhadap cekaman Al. Hasil penelitian pada tanaman kedelai toleran, juga memperlihatkan adanya kadar dari NR sebagai tanggapan terhadap cekaman Al. Aktifitas dari NR pada genotipe tanaman kedelai merupakan sifat genetis dari tanaman tersebut (Sopandie, 1999).

Toleransi terhadap cekaman Al pada spesies toleran, diduga karena kemampuannya yang lebih besar dalam menyerap NO_3^- yaitu mencapai 2.5 kali dibandingkan tanpa cekaman Al, sedangkan serapan NH_4^+ hanya meningkat 1.3 kali dibandingkan pada kondisi tidak tercekam Al. Pada spesies peka serapan NO_3^- mengalami penurunan 0.28 kali ketika mengalami cekaman Al, sebaliknya serapan NH_4^+ mengalami peningkatan 3.7 kali, kadar NH_4^+ yang tinggi akan menyebabkan tanaman keracunan. Spesies *P. javanica* lebih banyak menyerap NO_3^- dibandingkan dengan *C. pubescens* terutama pada kondisi tercekam aluminium hal ini berkaitan dengan perbedaan kemampuannya dalam penyerapan anion, di mana pada spesies toleran penyerapan NO_3^- jauh lebih besar dibandingkan dengan spesies peka (Marschner, 1995; Sopandie, 1999).

Diduga perbedaan dalam penyerapan nitrat (NO_3^-) menyebabkan perubahan pH dan perbedaan ini dapat mengakibatkan perbedaan spesies peka dan toleran dalam metabolisme NO_3^- . Pengambilan NH_4^+ yang lebih banyak akan menurunkan pH medium yang akan menyebabkan menurunnya aktifitas nitrat reduktase. Sebagaimana dikemukakan Haynes (1990); Marschner

(1995); Sopandie (1999) bahwa peningkatan pH kultur air berhubungan dengan kemampuan yang lebih besar dalam menyerap nitrat (NO_3^-) dari pada amonium (NH_4^+) yang akan mempengaruhi pH media tumbuh. Peningkatan pH berkaitan dengan pengaturan keseimbangan dalam penyerapan kation dan anion.

Pada kondisi tanpa cekaman Al rasio $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, menyebabkan perbedaan pH tidak mempengaruhi spesies peka dan toleran tetapi pada kondisi tercekam Al akan sangat menentukan tingkat toksisitas terhadap Al. Tingkat toleransi pada spesies toleran ditandai oleh kemampuannya menggunakan NO_3^- secara lebih efisien dalam kondisi, dimana NH_4^+ tersedia.

KESIMPULAN

Kemampuan adaptasi tanaman legum penutup tanah terhadap cekaman Al terjadi melalui mekanisme fisiologi metabolisme nitrat (NO_3^-), amonium (NH_4^+), dan nitrit (NO_2^-) sebagaimana ditunjukkan oleh perbedaan kadar NO_3^- , NH_4^+ dan NO_2^- antara spesies peka dan toleran.

Spesies toleran (*Pueraria javanica*) memperlihatkan serapan NO_3^- pada kondisi tercekam Al (+Al) mengalami peningkatan yang sangat besar yaitu 2.5 kali (0.382) dibandingkan pada kondisi tanpa cekaman Al (-Al), sedangkan serapan NH_4^+ pada kondisi tercekam Al hanya mengalami peningkatan 1.3 kali (0.267) dibandingkan tanpa cekaman Al (-Al), demikian juga pada ratio $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ terjadi peningkatan 4.9 kali (0.945).

Kadar NO_3^- pada spesies peka (*Centrosema pubescens*) dalam kondisi tercekam Al, mengalami penurunan dibandingkan tanpa tercekam Al yaitu 0.28 kali (-0.165), sebaliknya kadar NH_4^+ pada kondisi tercekam Al (+Al) mengalami peningkatan 3.7 kali (0.635), sedangkan ratio $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ pada kondisi tercekam Al mengalami penurunan 0.85 kali (-2.921).

Informasi tentang metabolisme (a). Nitrat (NO_3^-), (b) Amonium (NH_4^+) dan (c) Nitrit (NO_2^-) pada spesies legum penutup tanah tercekam Al, dapat dipergunakan sebagai acuan untuk menentukan mekanisme toleransi terhadap cekaman Al pada screening tanaman lainnya dalam menentukan toleransi (peka atau toleran) khususnya untuk spesies tanaman legum dari kelompok kacang-kacangan untuk bahan pangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada DP2M, DIKTI, Departemen Pendidikan Nasional, yang telah berkenan membiayai penelitian Fundamental ini berdasarkan, DIPA Nomor: 0145.0/023-04.0/-/2007, tanggal 31 Desember 2006, surat perjanjian pelaksanaan penelitian Nomor: 233/SP2H/PP/DP2M/III/2007,

tanggal 29 Maret 2007. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Sdr. Ir. Widodo Horyoko, MP yang telah banyak membantu dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007. Spectroquant Thermoreaktor TR Nova 420 manual versi bahasa Indonesia. Tim Merck. Jerman. 132 hal.
- Degenhardt, J., P.B. Larsen., S.H. Howell, L.V. Kochian. 1998. Aluminum resistance in the arabidopsis mutant *alr-104* is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. *Plant physiol.* 117: 19-27.
- Delhaize, E., P.R. Ryan. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant physiol.* 107 : 315-321.
- Haynes, R.J. 1990. Active ion uptake and maintenance of cation-anion balance: A critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. *Plant and Soil.* 126: 247-264.
- Huang, P.M., A. Violante. 1997. Pengaruh asam organik terhadap kristalisasi dan sifat permukaan produk pengendapan aluminium. *Dalam* Huang, P.M., dan M. Schnitzel (eds). *Interaksi Mineral Tanah dengan Organik Alami dan Mikroba*. UGM-Press. 242-331 hal.
- Kasim, N. 2000. Eksudasi dan akumulasi asam organik pada beberapa kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) genotipe toleran aluminium. (Tesis). Program Pascasarjana IPB. Bogor. 45 hal.
- Kochian, L.V. 1995. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu.Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 237-260.
- Ma, J. F. 2000. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. *Plant cell physiol.* 41(4): 383-390.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Second edition. Acad Press. 889 p.
- Pellet, D. M., D.L. Grunes, L.V. Kochian. 1995. Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta.* 196: 788-795.
- Sopandie, D. 1999. Differential Al tolerance of soybean genotypes related to nitrate metabolism and organic acid exudation. *Comm.Ag.* 5(1) 13-20.
- Utama, M.Z.H. 2004. Tanggapan beberapa spesies legum penutup tanah terhadap pemberian mikoriza, rhizobium, asam humat dan mekanisme fisiologi toleransi terhadap cekaman aluminium. (Disertasi). IPB, Bogor. 127 hal.
- Utama, M.Z.H., Y.M. Zen, B. Badal, S. Hidayati. 2005. Eksudasi dan akumulasi asam organik pada spesies legum penutup tanah sebagai mekanisme toleransi terhadap cekaman aluminium. *Jur. Stigma.* XIII (1): 35-40.
- Utama, M.Z.H., Y.M. Zen, W. Haryoko. 2004. Mekanisme fisiologi toleransi terhadap cekaman aluminium pada spesies legum penutup tanah. *Jur.Stigma.* XII (2) 186-191.
- Takita, E., H. Keyama, T. Hara. 1999. Organic acid metabolism in Al-phosphate utilizing cells of carrot (*Daucus carota* L.). *Plant cell physiol.* 40(5): 489-495.