

ISOLASI DAN KARAKTERISTIK BAKTERI PELARUT FOSFAT (BPF) DARI RHIZOSFER TANAMAN JAGUNG FASE VEGETATIF DAN FASE GENERATIF

Fany Juliarti Panjaitan¹, Taufiq Bachtiar², Irsyana Arsyad³, Onesimus Ke Lele⁴

^{1,4} Universitas Katolik Indonesia Santu Paulus Ruteng, Nusa Tenggara Timur

² Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi – Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta Selatan, 12440

³ Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan - Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga Babakan, Bogor, 16680

Email : fanyjait@gmail.com

ABSTRACT

The plants acquire phosphorus from soil solution as phosphate anion. The availability of nutrients is very low in soil and crops compared to the other macronutrients. It precipitates in soil as orthophosphate or absorbed by Al and Fe so that inhibiting the plant growth. Phosphate solubilizing bacteria are able to release the P bond of clay minerals and provide it for crops. The research aimed to get phosphate solubilizing microbes from maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. The soil samples were taken from the maize rhizosphere in both the vegetative and generative phases in the Cikabayan Bogor experimental farm. The phosphate solubilizing bacteria were determined for its ability to dissolve phosphate in liquid *Pikovskaya* media. The results of research were obtained 16 phosphate solubilizing bacteria, each of the 12 isolates derived from maize rhizosphere in vegetative phase (JM FIO) and 4 isolates in generative phase (JT FIO). The phosphate solubilization index of each phosphate solubilizing bacteria was varied, namely 2,2-4, the largest dissolution index obtained at JM FIO 1. The largest phosphate dissolving ability in liquid *Pikovskaya* media was showed by JM FIO 3 isolate, P value was 0,60 ppm or increased 300% of control then followed by JM FIO 9 with 0,43 ppm P. The research also showed that JM FIO 3 and JM FIO 9 were not pathogenic and potentially could be used as biological fertilizer with number of cells at each 4.2×10^9 and 1.2×10^9 CFU/g of carrier.

Key Words : Phosphate Solubilizing Microbe, Maize, Rhizosphere

PENDAHULUAN

Kesuburan tanah merupakan faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman, apabila tanah tersebut tidak subur, maka akan mengakibatkan produksi tanaman budidaya menurun. Ketidaktersediaan unsur hara esensial seperti fosfat merupakan salah satu faktor pembatas pertumbuhan tanaman karena cenderung terikat pada mineral yang mengandung Al, Fe dan Ca sehingga jumlah P rendah di dalam tanah. Unsur P umumnya ditambahkan ke dalam tanah melalui pemupukan, namun fosfat yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman hanya sebesar 10-

30% dari pupuk fosfat yang diberikan, berarti 70-90% pupuk fosfat tetap berada di dalam tanah (Larasati *et al.* 2018). Salah satu alternatif untuk meningkatkan efisiensi pemupukan fosfat, dalam mengatasi rendahnya fosfat tersedia dalam tanah adalah dengan memanfaatkan bakteri pelarut fosfat (BPF).

Bakteri pelarut fosfat (BPF) merupakan jasad renik tanah yang mempunyai kemampuan dalam melarutkan unsur P anorganik dan memineralisasi unsur hara P organik sehingga unsur P tersedia bagi tanaman (Sharma *et al.*, 2013). BPF juga berperan dalam menstimulasi fiksasi nitrogen, sintesis fitohormon dan

meningkatkan ketersediaan Zn dan Fe (Wani *et al.*, 2007). Berdasarkan keunggulan-keunggulan BPF terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman, perlu mengeksplorasi jenis mikroba tersebut pada daerah rhizosfer untuk mendapatkan BPF yang efektif dan potensial. Daerah rhizosfer merupakan bagian dari tanah yang memiliki aktivitas metabolisme mikroorganisme dan tanaman tertinggi karena dipengaruhi oleh adanya eksudat akar (Schröder dan Hartmann, 2003). Populasi BPF di daerah rhizosfer mencapai 10-100 kali lebih banyak dibandingkan daerah non-rhizosfer karena akar mengekskresikan bahan organik yang dapat mencukupi dan merangsang pertumbuhan mikroba (Widawati dan Suliasih 2005). Menurut Islami dan Utomo (1995), tanaman monokotil lebih banyak mengeluarkan eksudat dari pada tanaman dikotil. Contohnya adalah rhizosfer tanaman jagung yang mampu tumbuh sampai pada kedalaman 2 m dan menyebar secara horizontal lebih dari 1 m. Menurut Guckert *et al.* (1991), tanaman jagung memproduksi eksudat akar kaya akan asam organik dan protein paling tinggi pada saat akar tanaman masih muda atau pada fase vegetatif. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian ini untuk mendapatkan BPF yang efektif dan potensial sebagai pendegradasi unsur hara fosfor dari rhizosfer tanaman jagung baik pada fase vegetatif maupun generatif.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan metode *random sampling* dari beberapa rizosfer tanaman jagung baik pada fase vegetatif maupun fase generatif di kebun percobaan Cikabayan IPB menggunakan sekop,

kemudian sampel tanah dikompositkan dan dimasukkan ke dalam plastik serta dilabel.

Isolasi Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF)

Teknik isolasi BPF dilakukan dengan metode pengenceran, yaitu dengan menimbang 10 g sampel tanah kemudian dimasukkan ke dalam 90 ml larutan fisiologis (NaCl 0.85%) yang telah diautoklaf dan dikocok hingga homogen, sehingga diperoleh faktor pengenceran 10^{-1} . Dari faktor pengenceran 10^{-1} dipipet 1 ml suspensi tanah kemudian diinokulasikan ke dalam 9 ml larutan fisiologis dan dihomogenkan, sampel ini merupakan faktor pengenceran 10^{-2} . Pengenceran diulangi hingga faktor pengenceran 10^{-5} . Penanaman sampel dilakukan dengan metode cawan sebar. Suspensi tanah dari faktor pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} diinokulasikan sebanyak 1 ml secara aseptik pada media selektif *Pikovskaya* dan disebar menggunakan batang L dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 28°C selama 7 hari. Koloni BPF yang tumbuh diamati dengan melihat zona bening atau transparan di sekeliling koloni dan dihitung jumlahnya. Isolat yang diperoleh dimurnikan sampai mendapatkan isolat murni (koloni tunggal). Pemurnian dilakukan dengan cara koloni diambil menggunakan jarum ose secara aseptik dan *distreak* pada media agar *Pikovskaya*. Media tersebut diinkubasi selama 72 jam pada suhu $28-30^{\circ}\text{C}$ sehingga didapatkan isolat murni (koloni tunggal). Biakan murni mikroba pelarut fosfat digoreskan pada agar miring *Pikovskaya* (Pelczar dan Chan, 2006).

Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF)

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk koloni, bentuk

permukaan koloni, bentuk tepi koloni serta warna koloni. Pengamatan disesuaikan dengan struktur makroskopis koloni bakteri oleh Cowan and Talaro (2006).

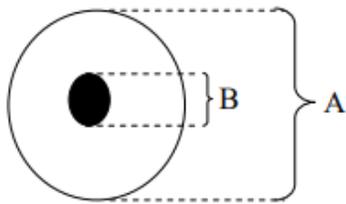
Uji Patogenesitas Bakteri Pelarut Fosfat

Bakteri Pelarut Fosfat diinokulasikan pada media cair *Pikovskaya* dan diinkubasi selama 5 hari menggunakan mesin penggoyang dengan kecepatan 100 rpm. Masing-masing isolat BPF diambil sebanyak 1 ml menggunakan *syringe* dan diinjeksikan pada stomata daun tembakau. Selanjutnya, perubahan pada daun tembakau diamati pada hari ketiga setelah penyuntikan. Jika bagian daun yang disuntikan menguning dan kering, maka isolat tersebut bersifat patogen.

Sebaliknya, jika daun tembakau tetap hijau maka isolat mikroba pelarut fosfat tersebut tidak patogen.

Indeks Pelarutan Fosfor oleh Bakteri Pelarut Fosfat

Isolat murni yang telah diperoleh diuji pelarutan P secara kualitatif. Isolat diujikan pada media *pikovskaya* padat kemudian pengamatan dilakukan sampai terbentuknya zona bening di sekitar bakteri. Koloni yang dikelilingi zona bening menunjukkan adanya pelarutan fosfat. Pengujian secara kualitatif dilakukan dengan cara menghitung besarnya diameter koloni dan zona bening berbanding besarnya diameter koloni. Perhitungan pelarutan fosfat pada media menggunakan Indeks pelarutan (IP).



$$IP = A / B$$

Keterangan : IP = Indeks Pelarutan

A = diameter koloni + zona bening

B = diameter koloni

Gambar 1. Penghitungan Indeks Pelarutan

Uji Kelarutan P pada Media *Pikovskaya* Cair

Uji kadar fosfat pada BPF bertujuan untuk mengetahui kadar fosfat yang dikandung mikroba tersebut dan menjadi tolak ukur kemampuan mikroba dalam melarutkan unsur fosfor. Isolat BPF dikulturkan pada erlenmeyer berisi 30 ml media cair *Pikovskaya* dan diinkubasi menggunakan shaker pada suhu ruang selama tiga hari. Media cair *Pikovskaya* tanpa inokulasi biakan merupakan kontrol.

Media cair yang telah diinkubasi, disaring menggunakan kertas saring Whatmann

no.40 sampai media cair tersebut bening. Supernatan yang diperoleh diencerkan hingga 50 kali kemudian dianalisis P terlarut menggunakan metode Bray-1. Analisis menggunakan larutan standar 50 ppm dengan seri pengenceran 0-10 ppm P. Larutan ini dibuat dari larutan baku yang mempunyai konsentrasi lebih tinggi kemudian diencerkan dengan larutan Bray-1. Sebanyak 5 ml larutan PB dan 5 tetes larutan PC ditambahkan ke dalam 5 ml supernatan. Jumlah P larut diidentifikasi melalui intensitas warna biru dari larutan dengan metode kolorimetri

(fosfomolibdat). Intensitas warna biru dari larutan dibaca pada gelombang 660 nm dengan spektrofotometer (Sulaeman, 2005).

Penapisan Bahan Pembawa Gambut untuk formulasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF)

Bahan pembawa yang digunakan untuk memformulasi BPF adalah gambut yang telah lolos saring 2 mm, pH 5.31 dan kadar air 9.3%. Menurut Permentan/SR.140/10/2011 mengenai Persyaratan Teknis Minimal Pupuk Hayati Tunggal, standar mutu kadar air menurut jenis bahan pembawa tepung/serbuk yaitu ≤ 35 , dan bahan pembawa gambut sudah sesuai standar yang ditetapkan. Gambut ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas kemudian disterilkan menggunakan autoklaf. BPF ditumbuhkan pada media cair *Pikovskaya* selama 5 hari kemudian diinokulasikan sebanyak 1 ml ke dalam bahan

pembawa gambut dan diinkubasi selama 2 minggu. Setelah masa inkubasi 2 minggu inokulum kemudian dilakukan uji mutu dengan menghitung jumlah mikroba yang hidup dalam bahan pembawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pelarut Fosfat (BPF)

Berdasarkan hasil isolasi Bakteri Pelarut Fosfat diperoleh 16 isolat, yaitu 12 isolat dari sampel tanah rhizosfer tanaman jagung pada fase vegetatif dan 4 isolat pada fase generatif. Sebanyak 16 isolat bakteri pelarut fosfat (BPF) yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan pengamatan karakteristik morfologi koloni meliputi bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri sesuai prosedur Cowan dan Talaro (2006) seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni Bakteri Pelarut Fosfat pada rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif dan fase generatif

Kode Isolat	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Permukaan
JM FIO 1	Circular	Kuning	Flat	Entire	Kering
JM FIO 3	Irregular	Putih	Raised	Entire	Halus mengkilap
JM FIO 7	Circular	Putih	Raised	Entire	Halus mengkilap
JM FIO 9	Circular	Putih	Raised	Entire	Halus mengkilap
JM FIO 10	Irregular	Krem	Raised	Lobate	Berkerut
JM FIO 11	Irregular	Kuning	Umbonate	Undulate	Berkerut
JM FIO 12	Irregular	Putih	Raised	Undulate	Berkerut
JM FIO 14	Circular	Krem	Raised	Entire	Berkerut
JM FIO 15	Irregular	Krem	Raised	Entire	Halus mengkilap
JM FIO 16	Irregular	Krem	Raised	Entire	Halus mengkilap
JM FIO 20	Irregular	Putih	umbonate	Entire	Halus mengkilap
JM FIO 23	Circular	Krem	Raised	Entire	Kasar
JT FIO 3	Circular	Putih	Raised	Entire	Halus mengkilap
JT FIO 7	Circular	Putih	Raised	Entire	Halus mengkilap
JT FIO 9	Irregular	Krem	Flat	Entire	Berkerut
JT FIO 11	Irregular	Krem	Raised	Entire	Halus mengkilap

Keterangan : JM : rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif, JT : rhizosfer tanaman jagung fase generatif

Hasil pengamatan isolasi BPF dari sampel tanah rhizosfer tanaman jagung pada

fase vegetatif dan generatif pada media agar *Pikovskaya* menunjukkan bahwa karakteristik

16 isolat bakteri berbeda, yaitu bentuk, warna, elevasi, tepi, bentuk permukaan, dan indeks pelarutan P (Tabel 1). Karakteristik morfologi 16 bakteri pelarut fosfat yang diisolasi pada rhizosfer tanaman jagung beragam, mulai dari bentuk koloni circular dan irregular, warna koloni berwarna putih, krem, dan kuning, elevasi flat, raised, dan umbonat, tepi entire, lobate, dan undulate, bentuk permukaan kering, halus mengkilap, berkerut, dan kasar.

Uji Patogenitas Bakteri Pelarut Fosfat

Isolat BPF yang tumbuh diuji sifat patogenitasnya pada daun tanaman tembakau.

Apabila terdapat gejala nekrosis pada daun tembakau, maka isolat BPF tersebut bersifat patogen dan apabila tidak menimbulkan gejala nekrosis pada daun tembakau, maka isolat bakteri tersebut dapat diuji lanjut untuk melihat kemampuan lainnya. Hal ini dilakukan apabila bakteri tersebut diaplikasikan sebagai pupuk hayati, BPF tersebut tidak menyebabkan kematian pada tanaman. Pengamatan sifat patogenitas BPF pada daun tanaman tembakau disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Patogenitas Bakteri Pelarut Fosfat pada Daun Tanaman Tembakau

Kode Isolat	Nekrosis pada Daun Tembakau	Keterangan	Sifat Patogenitas
JM FIO 3	Negatif	Daun tetap berwarna hijau tanpa adanya bercak coklat dan kering	Negatif
JM FIO 9	Negatif	yang merupakan gejala nekrosis daun.	Negatif

Tabel 2 menunjukkan bahwa sebanyak 16 isolat yang diuji pada daun tanaman tembakau diperoleh 2 isolat yang tidak bersifat patogen, yaitu JM FIO 3 dan JM FIO 9. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya gejala nekrosis pada daun tembakau, sehingga isolat JM FIO 3 dan JM FIO 9 memiliki potensi sebagai pupuk hayati.

Uji Kelarutan P dalam Media *Pikovskaya* Cair

Hasil pengujian kelarutan P oleh JM FIO 3 dan JM FIO 9 dalam media *Pikovskaya* cair dan padat menunjukkan bahwa kedua BPF memiliki kemampuan yang berbeda dalam melarutkan fosfat terikat dalam bentuk *tri calcium fosfat* menjadi P yang tersedia. Hasil pengukuran kemampuan setiap bakteri dalam melarutkan fosfat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Kelarutan P oleh Bakteri Pelarut Fosfat dalam Media *Pikovskaya* Padat dan Cair .

Kode Isolat	Indeks Pelarutan Fosfat (IP) pada media <i>Pikovskaya</i> padat	Kelarutan P pada media <i>Pikovskaya</i> cair (mg P/kg)
Kontrol	-	0.15
JM FIO 3	3.5	0.60
JM FIO 9	2.4	0.45

Dari data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa JM FIO 3 memiliki kemampuan melarutkan P terikat tertinggi dibandingkan JM FIO 9 dan kontrol, Hal ini dibuktikan dari nilai indeks pelarutan fosfat pada media *Pikovskaya* padat sebesar 3,5 dan uji kelarutan P pada media *Pikovskaya* cair sebesar 0,60 mg P/kg. Kemampuan kedua isolat dalam melarutkan P berbeda tergantung dari proses metabolisme isolat bakteri pelarut fosfat dalam mengeskresikan asam-asam organik ke dalam lingkungan tumbuhnya. Hal ini sesuai dengan Widyati (2007) bahwa kemampuan isolat

bakteri dalam melarutkan fosfat dan menghasilkan asam-asam organik tergantung pada proses metabolisme isolat bakteri tersebut yang dipengaruhi oleh aktivitas enzim. Semakin Dari hasil pengujian ini didapatkan bahwa JM FIO 3 merupakan isolat potensial untuk pengembangan *biofertilizer*.

Penapisan Bahan Pembawa Gambut untuk Formulasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF)

Hasil pengamatan jumlah koloni BPF dalam bahan pembawa gambut yang diinkubasi selama 2 minggu disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil *Total Plate Count* jumlah koloni (CFU/g gambut) dalam bahan pembawa gambut dengan masa inkubasi 2 minggu

Kode Isolat	Jumlah CFU/gram
JM FIO 3	4,2 x 10 ⁹
JM FIO 9	1,2 x 10 ⁹

Tabel 4 menunjukkan bahwa jumlah koloni JM FIO 3 dan JM FIO 9 mampu mempertahankan populasi 4,2 x 10⁹ CFU/g. Hal ini menunjukkan bahwa bahan pembawa gambut yang digunakan untuk formulasi BPF mampu mempertahankan populasi selama masa penyimpanan 2 minggu. Haryanti *et al.* (2014), bahan pembawa yang baik untuk memproduksi pupuk hayati yang mengandung agen BPF adalah gambut dan kualitas pupuk hayati masih baik selama masa penyimpanan 90 hari. Yuniarti *et al.* (2009) memperoleh total populasi BPF (*Pseudomonas* sp.) berkisar 1,88 x 10⁷-8,50 x 10⁸ CFU/g pada masa penyimpanan 0 hari dan bahan pembawa gambut. Pupuk hayati yang diproduksi hingga minggu ke-2 mampu mempertahankan viabilitas sel bakteri sesuai Permentan/SR.140/10/2011 mengenai

Persyaratan Teknis Minimal Pupuk Hayati Tunggal, standar mutu TPC menurut jenis bahan pembawa tepung/serbuk yaitu 10⁷ CFU/g kering bahan pembawa. Dari hasil ini diperoleh bahwa JM FIO 3 dan JM FIO 9 memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pupuk hayati tunggal.

KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri pelarut fosfat diperoleh 16 isolat dari sampel tanah rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif dan fase generatif dengan karakteristik morfologi bentuk koloni, warna, elevasi, tepi, serta bentuk permukaan yang bervariasi. Dari 16 isolat BPF diperoleh 2 isolat yang tidak memiliki sifat patogenitas pada daun tembakau, yaitu isolat

JM FIO 3 dan JM FIO 9. JM FIO 3 merupakan isolat yang memiliki kemampuan tinggi dalam melarutkan fosfat dan berpotensi untuk dijadikan sebagai pupuk hayati tunggal. Bahan pembawa gambut yang digunakan untuk formulasi BPF mampu mempertahankan populasi koloni selama masa inkubasi 2 minggu, yaitu 4.2×10^9 sel/g dan $1,2 \text{ g} \times 10^9$ sel/g bahan pembawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Cowan, M.K., K.P. Talaro. 2006. *Microbiology A Systems Approach*. McGraw-Hill Companies. New York.
- Guckert, F. M., Chavanon, M., J.L. Morel, dan G. Villemin. 1991. Root exudation in *Beta vulgaris* : A comparizon with *Zea mays*. In *plant roots and their environment*, Proceeding of an ISRRSymposium, McMichael and H. Persson (Eds). Elsevier Scintific Publishong, New York. 449-455.
- Haryanti, D., Zul, D., Fibriarti, B.L. 2014. Formulasi Pupuk hayati Serbuk Menggunakan Bakteri Pelarut Fosfat Indigenus Asal Tanah Gambut Riau dalam Berbagai Bahan Pembawa. *JOM FMIPA* 1(2) : 562-570.
- Islami, T., H.U. Utomo. 1995. *Hubungan Tanah, Air dan Tanaman*. IKIP press. Semarang. 297 hlm.
- Larasati, E.D., Rukmi,M.G.I., Kusdiyantini, E., Ginting, R.C.B. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Tanah Gambut. *Bioma*, 20 (1) : 1-8.
- Pelczar., Chan. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia. Jakarta
- Schröder, P., A. Hartmann. 2003. New Developments in Rhizosphere Research. *J Soils & Sediments* 3 (4): 227.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* 2, 587–600. doi: 10.1186/2193-1801-2-587.
- Wani, P. A., Khan, M. S., Zaidi, A. 2007. Co-inoculation of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria to promote growth, yield and nutrient uptake in chickpea. *Acta Agron. Hung.* 55, 315–323. doi: 10.1556/AAgr.55.2007.3.7.
- Widiawati, S., Suliasih. 2005. Augmentasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Potensial sebagai Pemacu Pertumbuhan Caysin (*Brasica caventis* Oed.) di Tanah Marginal. *Biodiversitas* 7(1):10-14.
- Widyati E. 2007. Formulasi inokulum Mikroba: MA, BPF dan Rhizobium Asal Lahan Bekas Tambang Batubara untuk Bibit *Acacia crassicarpa* Cunn. Ex-Benth. *Jurnal Biodiversitas* 8 (3) : 238 - 241.
- Yuniarti E, Husen E, Nurhamida. 2009. Optimasi produksi dan ketahanan dalam bahan pembawa gambut inokulan *Pseudomonas* sp. Bogor: Balai Penelitian Tanah.

