

## Aktivitas bakteri pelarut fosfat terhadap peningkatan ketersediaan fosfat pada tanah masam

### *The activity of phosphate solubilizing bacteria on increasing phosphate available in acid soil*

Aisyah Valentini Sonia<sup>1</sup> dan Tri Candra Setiawati<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

\*Email korespondensi: candra.setiawati.faperta@unej.ac.id

Diterima: 24 Januari 2022 / Disetujui: 31 Maret 2022

#### ABSTRACT

Acidic soil is soil with a low pH value, generally a limited number of microorganism populations, and low nutrient concentrations, especially the availability of phosphate nutrients. The research aims to determine the effect of phosphate solubilizing bacteria in increasing phosphorus availability in acid soils. This research was conducted at the Soil Biology Laboratory, Faculty of Agriculture, Jember University, starting in August 2020 to June 2021. The research stages were a qualitative test of phosphate solubilize on Pikovskaya agar media, a quantitative test of phosphate solubilizing bacteria activity on Pikovskaya liquid media under several acidic conditions (pH 4, pH 5, pH 6, and pH 7), as well as testing the activity of phosphate solubilizing bacteria on acid soils (Inceptisols and Ultisols). The bacteria used were *Pseudomonas* sp and *Bacillus valezensis*. Parameters observed were changes in pH, the concentration of P-Available, P-total, respiration, and the number of bacterial populations. The results showed the activity of both BPFs on Pikovskaya solid media in the "medium" category with a Solubility Index of 2,21 to 2,59. Phosphate solubilizing bacteria activity on liquid media with several pH conditions showed phosphate dissolving activity up to the 15th day. The pH 6 gave the highest phosphate solubilization activity, which was 21.87 ppm by *Pseudomonas* sp. The activity of the two BPFs on acid soils (Inceptisols and Ultisols) affected the concentration of available P compared to the initial concentration. Inceptisol with *Pseudomonas* sp inoculation on day 30 increased by 65%, while in Ultisol, it increased by 162%. The activity of *Bacillus valezensis* in Inceptisol increased 217% while in Ultisol increased by 243%.

**Keywords:** acid soil, phosphate solubilizing bacteria, *Pseudomonas* sp, *Bacillus valezensis*.

#### ABSTRAK

Tanah masam merupakan tanah dengan nilai pH rendah, umumnya jumlah populasi mikroorganisme yang terbatas dan konsentrasi unsur hara rendah, terutama ketersediaan unsur hara fosfat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kemampuan pemberian bakteri pelarut fosfat (BPF) dalam meningkatkan ketersediaan fosfor tanah masam. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember mulai bulan Agustus 2020 hingga Juni 2021. Tahapan penelitian yaitu uji kualitatif pelarutan fosfat pada media Pikovskaya agar, uji aktivitas bakteri pelarut fosfat secara kuantitatif pada media Pikovskaya cair di beberapa kondisi masam (pH 4, pH 5, pH 6, dan pH 7), serta uji aktivitas bakteri pelarut fosfat pada dua jenis tanah masam (Inceptisol dan Ultisol). Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Pseudomonas* sp dan *Bacillus valezensis*. Parameter yang diamati yaitu perubahan pH, konsentrasi P-tersedia, respirasi dan jumlah populasi bakteri. Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas kedua BPF yang di uji pada media padat Pikovskaya dengan adanya Indeks pelarutan sebesar 2,21 hingga 2,59 dalam kategori "sedang". Pengujian aktivitas BPF pada media cair dengan beberapa kondisi pH menunjukkan adanya aktivitas pelarutan fosfat hingga hari ke-15. Kondisi pH 6 memberikan aktivitas pelarutan fosfat yang tertinggi yaitu 21,87 ppm oleh bakteri *Pseudomonas* sp. Aktivitas kedua BPF pada tanah masam (Inceptisol dan Ultisol) memberikan pengaruh terhadap peningkatan konsentrasi ketersediaan P dibandingkan konsentrasi awal. Pada Inceptisol dengan inokulasi *Pseudomonas* sp pada hari ke-30 meningkat 65%, sedangkan pada Ultisol meningkat 162%. Aktivitas *Bacillus valezensis* pada Inceptisol meningkatkan 217% sedangkan pada Ultisol meningkat sebesar 243%.

**Kata kunci:** tanah masam, bakteri pelarut fosfat, *Pseudomonas* sp, *Bacillus valezensis*

#### PENDAHULUAN

Tanah masam secara umum memiliki ion hidrogen yang tinggi dan menyebabkan tanah bereaksi masam (pH kurang dari 5,5). Tanah masam di Indonesia tersebar di

beberapa bagian yaitu di Sumatera, Kalimantan dan Papua dengan total luas 108,8 juta ha (Mulyani, 2013). Tanah masam selain terbentuk dari bahan induk masam juga terbentuk dari faktor lain yaitu tingkat curah hujan yang tinggi yang menyebabkan hilangnya kation-kation basa ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,

K<sup>+</sup>, dan Na<sup>+</sup>), selain itu tanah yang memiliki tingkat pelapukan lanjut juga menyebabkan kation kation asam lebih dominan seperti Al dan Fe sehingga dapat membuat tanah bereaksi masam (Munawar, 2011). Tingginya kandungan unsur Al dan Fe memiliki hubungan dengan ketersediaan unsur P dalam tanah masam karena anion P dapat diikat oleh Al dan Fe menjadi AlPO<sub>4</sub> dan FePO<sub>4</sub>.

Fosfor merupakan unsur penting setelah Nitrogen untuk tanaman. Fosfor total pada tanah masam memiliki konsentrasi yang tinggi namun ketersediaannya terbatas untuk diserap oleh tanaman (Sugianto, 2019). Fosfor pada tanah dapat membantu tanaman dengan menerima dan mengubah energi sinar matahari menjadi zat yang dapat diurai bagi tanaman (Riwat *et al.*, 2020). Unsur hara fosfor pada tanah terbagi menjadi 2 bagian yaitu fosfor anorganik dan fosfor organik yang digunakan sebagai sumber hara penting bagi tanah, tanaman dan mikroorganisme lainnya.

Fosfor anorganik merupakan bentuk fosfor yang berasal dari mineral fosfat (apatit), jerapan P pada partikel liat dan kompleks fosfat Al dan Fe. Fosfor dalam bentuk organik merupakan fosfor yang berasal dari bahan organik atau sisa-sisa tanaman, hewan dan mikroorganisme. Secara umum unsur hara fosfor yang bentuknya organik tidak dapat tersedia bagi tanaman serta dalam proses ketersediaannya fosfor organik perlu diubah melalui proses mineralisasi sehingga menjadi fosfor anorganik (Handayanto dkk, 2017). Upaya yang digunakan untuk memenuhi ketersediaan fosfor dalam tanah dapat dilakukan menggunakan metode biologi yaitu dengan adanya pemberian bakteri pelarut fosfat.

Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri yang mampu melarutkan fosfat yang semula tidak tersedia menjadi tersedia. Menurut Mindari dkk (2018) Bakteri yang dapat menarutkan fosfat antara lain bakteri *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *P. aeruginosa* dan lain-lain. Aktivitas bakteri pelarut fosfat mampu menghasilkan enzim fosfatase yang dapat memineralisasi fosfat organik yang ada di dalam tanah. Enzim fosfatase juga berperan peniting dalam proses hidrolisis fosfat organik menjadi fosfat anorganik (Fitriatin *et al.*, 2020). Bakteri pelarut fosfat juga menghasilkan asam-asam organik seperti asam sitrat, asam glutamat dan asam suksinat serta bereaksi dengan unsur Al<sup>2+</sup> atau Fe<sup>2+</sup> yang menghasilkan senyawa kompleks yang stabil serta melepaskan ion fosfat yang terikat menjadi tersedia bagi tanaman (Asrul dkk, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas sp* dan *Bacillus vazezensis*) dalam melarutkan fosfat pada media Pikovskaya dan mempelajari aktivitas bakteri *Pseudomonas sp* dan *Bacillus vazezensis* pada tanah masam.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tanah, Fakultas Pertanian Universitas Jember pada bulan Agustus 2020 hingga Juni 2021, yang dilaksanakan dalam tiga tahap.

### Uji Pelarutan Fosfat secara Kualitatif

Penelitian ini menggunakan bakteri pelarut fosfat *Pseudomonas sp* dan *Bacillus vazezensis* yang masing-masing berasal dari rhizosfer tanaman tebu dan rumput. Keduanya merupakan isolate koleksi laboratorium Biologi Tanah, Fakultas pertanian, Universitas Jember serta media Pikovskaya dengan sumber P berasal dari Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> dan AlPO<sub>4</sub>.

Uji kualitatif dilaksanakan menggunakan media selektif Pikovskaya padat dengan komposisi media sebagai berikut glukosa 10g; NaCl 0,2g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5g; KCl 0,2g; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,1g; MnSO<sub>4</sub> 0,005g; FeSO<sub>4</sub> 0,005g; Yeast Ekstrak 0,5g; Agar 20g; dan sumber fosfat Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> atau AlPO<sub>4</sub> sebanyak 5g (Sharon *et al.*, 2016). Semua bahan dilarutkan dalam 1L aquadest pada wadah Erlenmeyer, dipanaskan dan diaduk hingga homogen, kemudian disterilisasi dengan autoclave suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

Menuangkan media Pikovskaya steril ke cawan petri tunggu hingga memadat. Menginokulasikan bakteri *Pseudomonas sp* dan *Bacillus vazezensis* pada masing-masing cawan petri dengan cara membagi 3 bagian cawan petri, kemudian disubkultur atau metode gores secara perlahan sebanyak 2-3 kali (Zulkifli *et al.*, 2020). Kemudian media di letakkan di inkubator untuk mengetahui pelarutan yang terjadi. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 10 hari masa inkubasi kemudian menghitung Indeks Pelarutan (IP) dengan rumus berikut (Mohamed *et al.*, 2018):

$$IP = \frac{(\text{Diameter Koloni} + \text{Diameter Zona Bening})}{\text{Diameter Koloni}}$$

### Uji Aktivitas Bakteri Pelarut Fosfat Media Pikovskaya Cair Secara Kuantitatif

Penelitian tahap ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yaitu: (1) faktor Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) yaitu (BPF1= *Pseudomonas sp* dan BPF2= *Bacillus vazezensis*) dan (2) faktor pH media yaitu pH 4, pH 5, pH 6, dan pH 7 dengan tiga ulangan. Uji ini bertujuan untuk mempelajari viabilitas dan aktivitas BPF pada beberapa kondisi kemasaman, sehingga pada saat diaplikasikan ke tanah masam, kemampuan BPF sudah diketahui.

Persiapan untuk uji pelarutan secara kuantitatif dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media Nutrient Broth selama ± 3 hari. Media Pikovskaya cair sebanyak 50 ml dengan sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> diatur pH nya sesuai dengan perlakuan yaitu pH (4, 5, 6, 7) dengan menambahkan HCl 0,1 M hingga mencapai pH yang sesuai.

Setelah media steril diinokulasi bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas sp* dan *Bacillus vazezensis*) sebanyak 2,5 ml dengan kerapatan bakteri masing-masing ±30,10<sup>8</sup> cfu dan 32,10<sup>8</sup> cfu. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menggojok pada orbital shaker selama 30 menit perhari dengan kecepatan 150 rpm. Variabel yang diamati yaitu pH H<sub>2</sub>O, dan P-Tersedia ekstrak aquadest (P-Air), setiap 5 hari sekali selama 15 hari masa inkubasi.

**Uji Pelarutan Fosfat pada Tanah Masam**

Penelitian pada tanah masam menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan faktor 1 jenis bakteri (B0= tanpa inokulasi bakteri; B1 = *Pseudomonas sp* dan B2=*Bacillus valezensis*) dan faktor 2 Jenis tanah masam yaitu T1 = Inceptisol dan T2 = Ultisol, dengan tiga kali ulangan.

Tanah masam yang telah steril sebanyak 250 gr ditempatkan pada toples kaca dan dikondisikan pada 80-90% kapasitas lapang dengan aquadest steril. Menginokulasikan bakteri *Pseudomonas sp* dan *Bacillus valezensis* yang telah ditumbuhkan pada media NB pada masing-masing tanah masam sebanyak 5 ml dengan kerapatan bakteri masing-masing ±64,10<sup>8</sup> cfu dan 65,10<sup>8</sup> cfu.

Pengamatan aktivitas BPF dengan mengukur respirasi pada hari ke-3, 7, 14, 21, dan 28 dengan metode pengukuran CO<sub>2</sub> dalam botol tertutup (Widati, 2007). Pengamatan pH H<sub>2</sub>O dan P-tersedia ekstrak Bray setiap hari ke-10, 20, 30 setelah inokulasi serta penghitungan total populasi bakteri setelah perlakuan pada hari ke-30.

**Analisis Data**

Data yang telah diperoleh kemudian di analisis menggunakan sidik ragam dan apabila terdapat interaksi dilakukan uji lanjut menggunakan duncan multiple range test (DMRT) dengan taraf kepercayaan 5% menggunakan aplikasi Excel Smartstat dan SPSS.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Uji Pelarutan Fosfat secara Kualitatif**

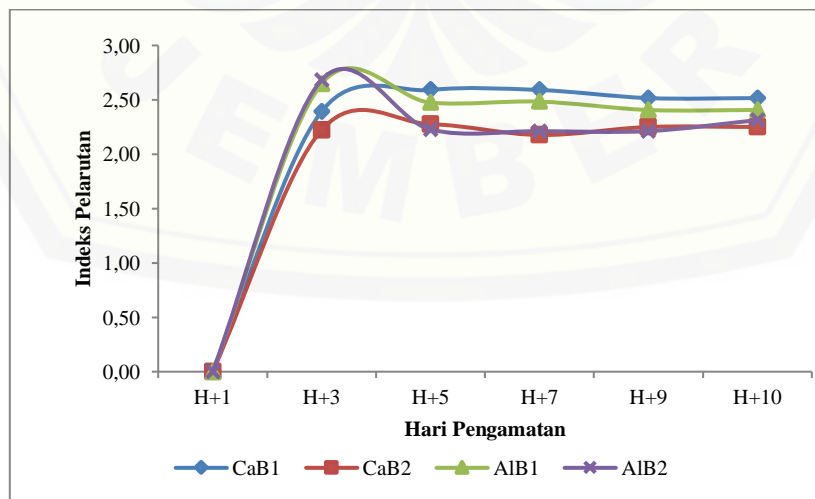
Pelarutan P pada media Pikovskaya ditandai dengan terbentuknya zona bening (Halozone) pada sekitar bakteri.

Diameter halo zone *Bacillus valenzensis* pada media Pikovskaya padat dengan sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> maupun sumber AlPO<sub>4</sub> lebih besar dibanding *Pseudomonas sp*. Potensi bakteri dalam melarutkan P dapat dilakukan dengan mengetahui indeks kelarutan fosfat (Gambar 1) (Mohamed *et al*, 2018).

Berdasarkan waktu pelarutannya bakteri *Pseudomonas sp* dan *Bacillus valezensis* mampu melarutkan P pada media Pikovskaya agar mulai hari ke-2 (H+2), serta dikategorikan “cepat” dalam melarutkan fosfat anorganik baik pada media Pikovskaya agar dengan sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> dan AlPO<sub>4</sub> yang ditandai dengan adanya zona bening pada media. Kriteria “cepat” apabila dapat melarutkan kurang dari 3 hari setelah inokulasi, pelarutan “lambat” setelah lebih dari 3 hari serta “tidak dapat” melarutkan apabila tidak ada pelarutan selama 15 hari (Marra *et al*, 2011).

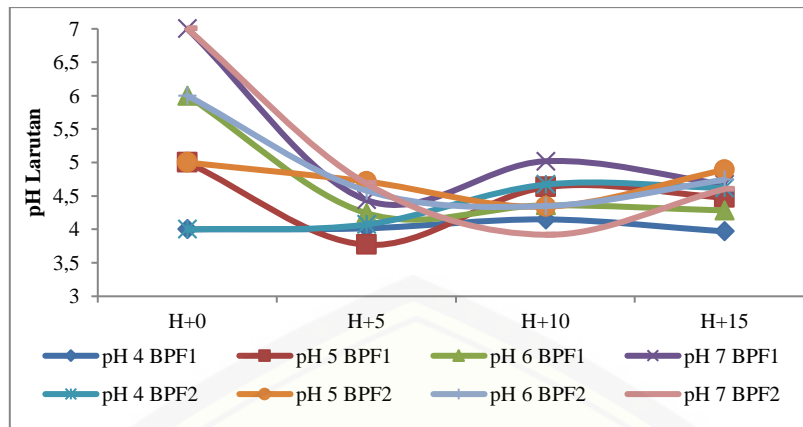
Berdasarkan indeks pelarutan fosfat pada media Pikovskaya agar, diketahui bahwa indeks pelarutan bakteri *Pseudomonas sp* lebih besar dibanding bakteri *Bacillus valezensis* pada sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> maupun sumber AlPO<sub>4</sub>, hal tersebut dipengaruhi oleh adanya metabolit yang disekresikan oleh bakteri berupa asam-asam organik yang berbeda sehingga dapat mengakibatkan adanya perbedaan dalam proses pelarutannya (Gambar 1).

Marra *et al*, (2012) mengkategorikan kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat berdasarkan indeks pelarutannya (IP) menjadi 3 kategori yaitu rendah (IP<2), sedang (IP 2-4) dan tinggi (IP>4). Pada H+7 hasil uji pelarutan pada media Pikovskaya agar dengan sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> diperoleh IP bakteri *Pseudomonas sp* sebesar IP 2,59, sedangkan dengan sumber AlPO<sub>4</sub> sebesar IP 2,48. Bakteri *Bacillus valezensis* menunjukkan IP fosfat yang sama baik dengan sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> maupun AlPO<sub>4</sub> sebesar 2,21 (Gambar 1). Berdasarkan IP kedua bakteri tersebut baik dengan sumber Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> maupun AlPO<sub>4</sub> kemampuan pelarutannya dalam kategori “sedang”.



Gambar 1. Indeks pelarutan BPF.





Gambar 2. Pengaruh kombinasi perlakuan BPF dengan pH media Pikovskaya cair terhadap pH larutan.

Tabel 1. Interaksi BPF dengan media cair Pikovskaya terhadap pH pada hari ke-5.

Media Pikovskaya (A)	pH Larutan H+5	
	Jenis Bakteri	
	<i>Pseudomonas sp</i> (BPF 1)	<i>Bacillus valenzensis</i> (BPF 2)
pH 4	4,02 bc A	4,07 b A
pH 5	3,77 c B	4,72 a A
pH 6	4,24 ab A	4,58 a A
pH 7	4,44 a A	4,69 a A

Keterangan: Huruf kapital (horizontal) dan huruf kecil (vertikal). Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji DMRT taraf kepercayaan 5%.

### Uji Pelarutan P secara Kuantitatif

Tahap uji pada beberapa kondisi kemasaman (pH) larutan menunjukkan kedua BPF dapat beraktivitas pada pH 4 hingga pH 7. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan pH dan pelarutan dari sumber P yang terjadi pada media. Secara umum pada semua media, terjadi penurunan pH dengan inokulasi BPF pada rentang waktu 0-15 hari dengan pola yang bervariasi dari pengamatan hari ke-5, ke-10 dan ke-15 (gambar 2).

Penurunan pH terjadi karena adanya proses metabolisme dari BPF yang menghasilkan asam-asam organik dan mengekskresikan keluar dinding sel hingga dapat membantu melarutkan fosfat yang terikat pada sumber P dengan menyumbangkan proton pada media (Pande *et al.*, 2017). Berdasarkan proses metabolismenya bakteri pelarut fosfat memanfaatkan glukosa yang ada pada media Pikovskaya dan mampu menghasilkan asam-asam organik yang dapat menurunkan pH. Asam organik yang dihasilkan oleh bakteri pelarut fosfat antara lain yaitu asam sitrat, glutamat, suksinat, laktat, oksalat, malat, fumarat dan tartarat (Seshachala *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil sidik ragam, interaksi kedua faktor yaitu pH media dan jenis bakteri terhadap perubahan pH terjadi pada hari ke-5 (Tabel 1), interaksi BPF dengan kondisi pH 5 nyata mempengaruhi penurunan pH, *Pseudomonas sp* menurunkan pH menjadi 3,77 sedangkan *B.valenzensis* menurunkan pH menjadi 4,72. Adanya interaksi yang nyata pada hari ke-5, disebabkan kedua BPF beraktivitas lebih tinggi untuk beradaptasi dengan kondisi media, sehingga metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme mempengaruhi pH media. Hasil yang sama di peroleh Suleman *et al* (2018) juga menunjukkan terjadi penurunan pH pada media menjadi 3,7 pada hari ke-5 setelah inokulasi dengan bakteri *Pseudomonas sp* MS16 dan *Enterobacter sp* MS32.

Pada hari ke 10 dan 15 terjadi interaksi berbeda tidak nyata antara factor pH media dengan jenis bakteri. Aktivitas kedua BPF pada kondisi pH yang berbeda, tidak memberikan pengaruh perubahan pH yang nyata pada media. Semakin lama aktivitas BPF menurun karena semakin terbatasnya sumber energy dan menyebabkan penurunan populasi, sehingga proses metabolisme sel juga menurun.

Aktivitas *Pseudomonas sp* pada semua perlakuan kondisi pH media menurunkan pH media lebih besar dibanding *Bacillus vaezensis*. Perbedaan penurunan pH karena setiap bakteri memiliki kemampuan masing-masing dalam memproduksi asam-asam organik (Dewanti dkk, 2016). Asam organik yang dihasilkan oleh bakteri genus *Pseudomonas sp* antara lain yaitu asam laktat, asam tartrat dan asam malat (Setiawati dkk, 2014). Bakteri *Bacillus vaezensis* juga dapat menghasilkan asam-asam organik yang berbeda dengan bakteri *Pseudomonas sp*. Secara spesifik asam organik yang dihasilkan *B.vaezensis* yang diuji belum teridentifikasi, namun umumnya bakteri *Bacillus sp* menghasilkan antara lain asam asetat dan asam oksalat (Husna dkk, 2019), asam malat dan asam glukonat dihasilkan oleh bakteri pelarut fosfat *Bacillus sp NE4* (Kaur, C., G. Selvakumar and K. K. Upreti, 2021) glukonat, acetat, tartaric, sitrat, suksinat, format, malat dan oksalat dihasilkan oleh BPF

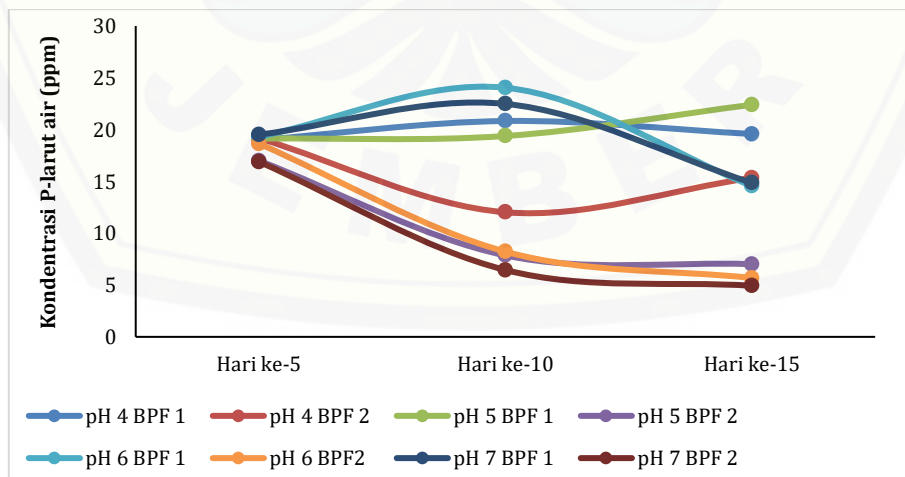
*B.cereus* dan *B.subtilis* (Chawngthu L., R. Hnamte and R. Lalfakzuala, 2020). Hasil perubahan pH disebabkan oleh adanya perbedaan bakteri dalam menghasilkan konsentrasi dan jenis asam organiknya.

Kondisi pH mempengaruhi secara nyata aktivitas BPF baik *Pseudomonas sp* maupun *B. vaezensis* dalam melarutkan P dari sumber  $Ca_3PO_4$  dari media Pikovskaya (Tabel 2). Hasil sidik ragam menunjukkan adanya interaksi berbeda nyata antara BPF dengan kondisi pH pada media Pikovsyaka cair hari ke 15 dan interaksi tersebut mampu mempengaruhi pelarutan P dari sumber  $Ca_3PO_4$  (Tabel 2). Pada kondisi pH Media yang sama, aktivitas *Pseudomonas sp* berbeda nyata dengan aktivitas *Bacillus vaezensis* dalam melarutkan P. Konsentrasi P larutan terbesar pada kondisi media pH 5 sebesar 22,40 ppm dan berbeda tidak nyata dengan konsentrasi pada pH 4 sebesar 19,58 ppm, pada saat hari ke-15.

Tabel 2. Interaksi BPF dengan media cair Pikovskaya terhadap P-terlarut ekstrak air H+15.

Media Pikovskaya (A)	P-Larut Air (ppm) H+15	
	Jenis Bakteri	
	<i>Pseudomonas sp</i> (BPF1)	<i>Bacillus vaezensis</i> (BPF2)
pH 4	19,58 a A	15,34 a B
pH 5	22,40 a A	7,01 b B
pH 6	14,56 b A	5,68 b B
pH 7	14,86 b A	4,93 b B

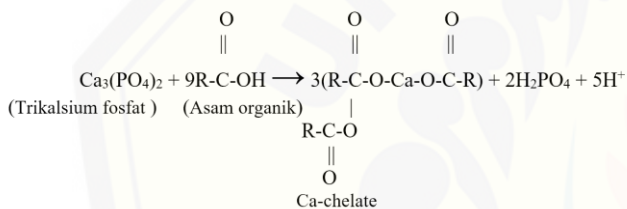
Keterangan: Huruf kapital (horizontal) dan huruf kecil (vertikal). Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji DMRT taraf kepercayaan 5%.



Gambar 3. Pengaruh kombinasi perlakuan BPF dengan media cair Pikovskaya terhadap P-larut air.

Pola pelarutan antara bakteri *Pseudomonas sp* dengan *Bacillus valezensis* menunjukkan perbedaan mulai H+5 (Gambar 3). Pada semua kondisi pH media, bakteri *Pseudomonas sp* meningkatkan pelarutan fosfat pada H+5 ke H+10 dan kemudian terjadi penurunan aktivitas pelarutan pada H+10 ke H+15. Sebaliknya bakteri *Bacillus valezensis* pelarutan fosfat menurun mulai H+5 hingga H+15 (Gambar 3). Pelarutan yang terjadi diduga berkaitan dengan fase pertumbuhan bakteri dan setiap bakteri memiliki fase yang berbeda-beda. Selama masa inkubasi terjadi, nutrisi media sebagai tempat tinggal bakteri akan mulai habis yang dapat berakibat terjadi kompetisi nutrisi yang dapat mengakibatkan beberapa sel mati sehingga dapat terjadi penurunan pelarutan P (Sulistijowati, 2012).

Bakteri pelarut fosfat yang menghasilkan asam-asam organik mampu melarutkan P sehingga bakteri tersebut mampu mengkelat kation pada  $Ca^{2+}$ . Asam organik yang dihasilkan terdisosiasi menjadi gugus fungsional karboksil ( $COO^-$ ) dan gugus hidroksil ( $OH^-$ ) yang bermuatan negatif, sehingga bisa berikatan dengan ion  $Ca^{+}$  seperti reaksi berikut (Santosa, 2007):



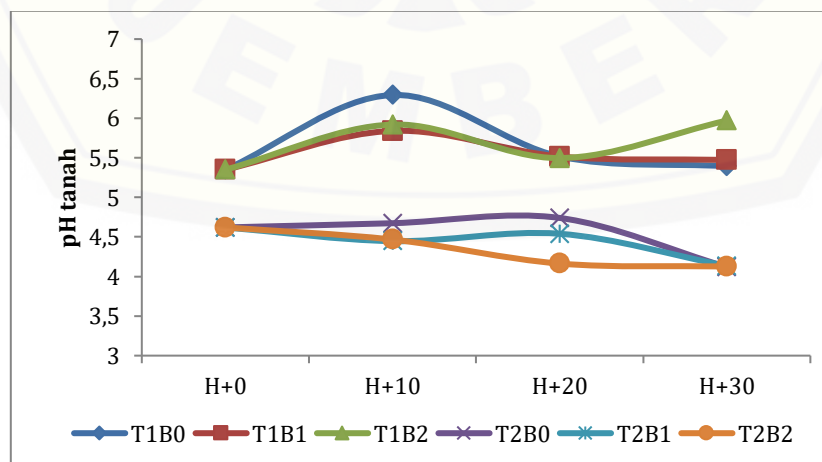
### Uji Pelarutan Fosfat pada Media Tanah Masam

Pada tanah-tanah masam, dua masalah dasar adalah defisiensi hara, khususnya P dan kehadiran material fitotoksik seperti Al dan Mn (Haynes and Mokolobate, 2001). Dua jenis tanah masam yang diuji berasal dari kabupaten Bogor yaitu Inceptisol dan Ultisol dengan karakteristik yaitu: pH tanah 5,35 dan 4,62 dengan status pH tanah tergolong masam.

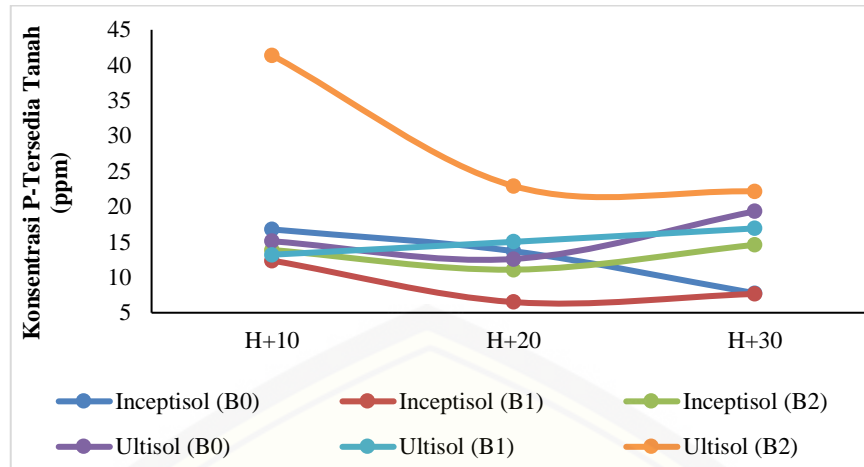
Rendahnya pH pada tanah masam disebabkan oleh tingginya curah hujan pada suatu daerah sehingga mengakibatkan pelarutan mineral lebih cepat. Rendahnya pH tanah diikuti oleh rendahnya kandungan unsur hara didalam tanah khususnya unsur fosfor (Nurhidayati, 2017). Konsentrasi fosfor total pada Inceptisol sebesar 69,31 mg/100g tanah, namun ketersediaan P hanya 4.60 ppm dikategorikan sangat rendah. Sedangkan pada Ultisol konsentrasi P total sebesar 46,53 mg/100 g tanah termasuk ke dalam kategori tinggi, namun P yang tersedia bagi tanah dengan nilai 6.46 ppm tergolong rendah. Rendahnya kandungan P di dalam tanah disebabkan oleh tingginya kandungan unsur Al dan Fe pada tanah masam sehingga unsur Al dan Fe mampu menjerap P menjadi ikatan  $AlPO_4$  dan  $FePO_4$  (Sari dkk, 2017) serta diikuti oleh rendahnya mikroba dalam tanah (Habi dkk, 2018). Konsentrasi Al pada tanah Inceptisol sebesar 2,34 cmol/kg (Halasan, 2018) sedangkan konsentrasi Fe-Totalnya sebesar 8,16 ppm yang dikategorikan tinggi.

Pola perubahan pH pada tanah Inceptisol dan Ultisol dengan adanya inokulasi BPF berbeda dari H+0 hingga H+30 setelah masa inokulasi (Gambar 4). Pada Inceptisol terjadi peningkatan pH tanah awal 5,35 menjadi 5,47 dan 5,97 oleh adanya aktivitas bakteri *Pseudomonas sp* dan *Bacillus valezensis*. Sebaliknya pada Ultisol terjadi penurunan pH dari pH awal 4,62 menjadi 4,13 dan 4,12. Perbedaan pola perubahan pH dipengaruhi oleh karakteristik masing-masing tanah dan aktivitas BPF. Tanah yang memiliki nilai pH tidak optimal sebagai tempat tinggal BPF akan berpengaruh terhadap mekanisme pelarutan fosfat yang akan menghasilkan asam organik serta dapat melarutkan ikatan yang membentuk senyawa fosfat (Firdausi dkk, 2016).

Menurut Ulfiyati dkk (2015) penurunan pH selama masa inkubasi dapat disebabkan oleh bakteri yang menghasilkan asam organik atau proton yang menyebabkan pelarutan kompleks mineral fosfat melalui pertukaran ion mineral yang mengikat fosfat. Asam organik yang dihasilkan oleh bakteri genus *Bacillus* antara lain asam asetat, asam laktat, asam oksalat dan asam malat (Husna dkk, 2019).



Gambar 4. Pengaruh inokulasi BPF dengan tanah masam terhadap nilai pH tanah



Gambar 5. Pengaruh kombinasi perlakuan BPF dengan tanah masam terhadap P-tersedia.

Tabel 3. Interaksi BPF dengan tanah masam terhadap P-tersedia tanah (ekstrak Bray) pada hari ke-10

Jenis Tanah (T)	P-Tersedia Tanah (ppm) Hari ke-10		
	Jenis Bakteri (B)		
	Kontrol (B0)	<i>Pseudomonas sp</i> (B1)	<i>Bacillus Valezensis</i> (B2)
Inceptisol (T1)	15,10 a B	13,20 a B	41,38 a A
Ultisol (T2)	15,40 a A	12,37 a B	13,87 b AB

Keterangan: Huruf kapital (horizontal) dan huruf kecil (vertikal). Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom/baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji DMRT taraf kepercayaan 5%.

Tabel 4. Total Populasi Bakteri pada tanah

Perlakuan	Rata-rata Populasi H+30(cfu/g)
Inceptisol B1	$3,8 \times 10^7$
Inceptisol B2	$3,9 \times 10^7$
Ultisol B1	$7,9 \times 10^7$
Ultisol B2	$6,8 \times 10^7$

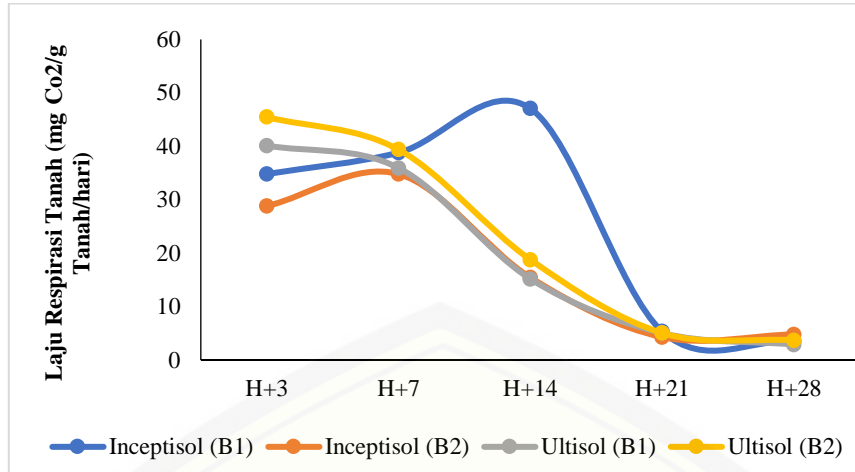
Keterangan: B1 = *Pseudomonas sp* ; BPF2 = *Bacillus valezensis*

Peningkatan ketersediaan konsentrasi fosfat pada tanah mulai terjadi pada saat hari ke-10 setelah inokulasi, selanjutnya penurunan terjadi pada H+20 (Gambar 5). Peningkatan konsentrasi P-tersedia dibandingkan dengan konsentrasi awal yaitu 4.60 ppm pada Inceptisol dan 6.46 ppm pada Ultisol, maka terjadi peningkatan yang signifikan dengan adanya inokulasi BPF. Pada Inceptisol dengan inokulasi *Pseudomonas sp* pada hari ke-30 meningkat 65%, sedangkan pada Ultisol meningkat 162%. Aktivitas *Bacillus valezensis* pada Inceptisol meningkatkan 217% sedangkan pada Ultisol meningkat sebesar 243% (Gambar 5).

Interaksi antara faktor BPF dengan jenis tanah berbeda sangat nyata pada variabel pengamatan P-tersedia hari ke-10

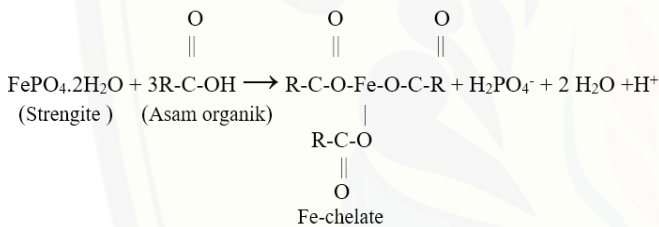
(Tabel 3) dan 20, namun berbeda tidak nyata pada hari ke 30. Adanya inokulasi *Bacillus valezensis* pada tanah Inceptisol memberikan pengaruh berbeda nyata dibanding control tanpa BPF, dengan peningkatan 174%. Pengaruh *Bacillus vaezensis* juga berbeda nyata terhadap tanah Ultisol, namun terjadi penurunan jika dibanding control (Tabel 3). Sebaliknya inokulasi *Pseudomonas sp* tidak berpengaruh secara nyata terhadap ketersediaan P pada Inceptisol maupun Ultisol. Penurunan ketersediaan P pada tanah juga disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri yang memanfaatkan fosfat sebagai sumber energi dalam proses metabolismenya (Respati, 2017).





Gambar 6. Laju respirasi tanah masam.

Tanah masam Inceptisol dan Ultisol merupakan salah satu tanah yang memiliki kandungan unsur Fe tinggi serta memiliki kandungan fosfat yang rendah, karena unsur Fe mampu mengikat fosfat (PO<sub>4</sub>) menjadi FePO<sub>4</sub> sehingga unsur P menjadi tidak tersedia karena terbentuknya chelate dengan Fe seperti reaksi berikut (Santosa, 2007):



Proses pelepasan ikatan FePO<sub>4</sub> untuk melepaskan unsur P sehingga menjadi tersedia di dalam tanah dibantu oleh mikroorganisme pelarut fosfat yang menghasilkan asam organik seperti asam sitrat, asam glutamat, asam laktat, dan asam suksinat. Bakteri pelarut fosfat juga akan menghasilkan enzim fosfatase apabila pada media tumbuhnya jumlah P tersedia rendah. Enzim fosfatase tersebut dihasilkan untuk membantu pelarutan fosfat organik menjadi fosfat anorganik melalui proses mineralisasi sehingga dapat tersedia dalam tanah.

Re-isolasi BPF dalam tanah dilakukan pada H+30 dengan menggunakan media selektif Pikovskaya, bertujuan untuk memastikan keberadaan BPF, selain dilakukan pengukuran aktivitasnya dengan mengukur respirasi secara periodik (Gambar 6).

Hingga H+30, kedua BPF masih ditemukan dengan populasi *Pseudomonas sp* pada tanah Inceptisol pada akhir masa inkubasi jumlah populasinya yaitu  $3,8 \times 10^7$  cfu/g, dan bakteri *Bacillus valezensis* pada akhir masa inkubasi jumlah populasinya  $3,9 \times 10^7$  cfu/g. Sedangkan pada tanah Ultisol populasi bakteri *Pseudomonas sp* pada akhir masa inkubasi sebesar  $7,9 \times 10^7$  cfu/g, dan jumlah populasi bakteri *Bacillus valezensis* pada akhir masa inkubasi sejumlah  $6,8 \times 10^7$  cfu/g. Kedua BPF yang diinokulasikan pada kedua tanah masam mengalami penurunan populasi pada H+30 setelah

inokulasi (Tabel 4) dari inokulasi awal  $\pm 64$  hingga  $650 \times 10^8$  cfu. Secara umum penurunan jumlah populasi bakteri dalam tanah masam tersebut karena terbatasnya sumber karbon, sumber energy yang digunakan oleh BPF untuk bermetabolisme. Selain itu, penelitian ini diduga selama masa inkubasi ketersediaan oksigen menurun dan hal ini berkaitan dengan sifat aerob kedua bakteri tersebut (Puspita *et al*, 2017).

Respirasi tanah diukur sebanyak lima kali pada H+3, H+7, H+14, H+21 dan H+28 setelah inokulasi (Gambar 6). Respirasi merupakan salah satu metode untuk mengetahui aktivitas mikroorganisme tanah. Dalam aktivitasnya bakteri mengeluarkan CO<sub>2</sub> dan menunjukkan adanya metabolisme sel yang aktif.

Laju respirasi selama masa inkubasi mengalami kenaikan dan penurunan secara fluktuatif. Besaran respirasi pada H+3 pada kisaran 28,80 hingga 45,47 mgCO<sub>2</sub>/g tanah/hari, sedangkan pada H+28 laju respirasi dari kedua BPF sangat rendah (Gambar 6).

Aktivitas bakteri optimum terjadi pada hari 3 hingga hari ke 14 pada bakteri *Pseudomonas sp* sedangkan pada bakteri *Bacillus valezensis* terjadi pada hari ke 3 hingga hari ke 7 dan kedua bakteri tersebut mengalami penurunan laju respirasi. Penurunan laju respirasi pada kedua tanah masam tersebut diduga karena faktor ketersediaan bahan organik di dalam tanah yang berkurang serta adanya kandungan liat yang tinggi menyebabkan kandungan O<sub>2</sub> rendah, karena dalam prosesnya oksigen tanah diperoleh dari ruang pori tanah (Utomo dkk, 2018). Meningkatnya laju respirasi di tanah maka akan meningkatkan laju dekomposisi bahan organik pada tanah (Putri dkk, 2017) sehingga ketersediaan substrat yang tersedia mencukupi pada saat awal hingga H+7. Secara umum respirasi mikroorganisme bergantung pada kualitas dan kuantitas substrat, kelembaban dan temperature serta aktivitas maksimum enzim yang berperan pada respirasi (Ryan, M.G and Beverly E. L., 2005).

### KESIMPULAN

Aktivitas kedua BPF yang di uji pada media padat Pikovskaya ditunjukkan dengan adanya Indeks pelarutan



kategori “sedang” yaitu sebesar 2,31 hingga 2,48. Pengujian aktivitas BPF pada media cair dengan beberapa kondisi pH menunjukkan adanya aktivitas pelarutan fosfat hingga hari ke-15. Kondisi pH 6 memberikan aktivitas pelarutan fosfat yang tertinggi yaitu 21,87 ppm oleh bakteri *Pseudomonas sp.*

Aktivitas kedua BPF pada tanah masam (Inceptisol dan Ultisol) memberikan pengaruh terhadap peningkatan konsentrasi ketersediaan P dibandingkan konsentrasi awal. Pada Inceptisol dengan inokulasi *Pseudomonas sp* pada hari ke-30 meningkat 65%, sedangkan pada Ultisol meningkat 162%. Aktivitas *Bacillus valesensis* pada Inceptisol meningkatkan 217% sedangkan pada Ultisol meningkat sebesar 243%

#### DAFTAR PUSTAKA

- Asrul., dan I.N.P. Aryantha. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Tanah Rhizosfer Kelapa Sawit. *Lambung*. 19(1): 30-39.
- Chawngthu, L. R. Hnamte and R. Lalfakzuala. (2020). Isolation and Characterization of Rhizospheric Phosphate Solubilizing Bacteria from Wetland Paddy Field of Mizoram, India. *Geomicrobiology Journal*, 37(4), 366-375.
- Dewanti, A.W., E.Pratiwi., dan Y. Nuraini. (2016). Viabilitas dan Aktivitas Enzim Fosfatase serta Produksi Asam Organik Bakteri Pelarut Fosfat pada Beberapa Suhu Simpan. *Tanah dan Sumberdaya Lahan*. 3(1): 311-318.
- Firdausi, N., W. Muslihatin dan T. Nurhidayati. (2016). Pengaruh Kombinasi Media Pembawa Pupuk Hayati Bakteri Pelarut Fosfat Terhadap pH dan Unsur Hara Fosfor dalam Tanah. *JTSL*. 5(2): 53-56.
- Fitriatin, B.N., D.F. Manurung., E.T. Sofyan., and M.R. Setiawati. (2020). Compatibility Phosphate Solubility and Phosphatase Activity by Phosphate Solubilizing Bacteria. *Haya Saudi J Life Sci*. 5(12): 281- 284.
- Habi, M.L., J.I. Nendissa., D. Marasabessy., dan A. M. Kalay. (2018). Ketersediaan Fosfat Serapan Fosfat dan Hasil Tanaman Jagung (*Zea mays L.*) Akibat Pemberian Kompos Granul Ela Sagu dengan Pupuk Fosfat pada Inceptisol. *Agrologia*. 7(1): 42-52.
- Halasan., Anandyawati., Hasanudin., dan Riwandi. (2018). Perubahan Sifat Kimia Tanah dan Hasil Jagung pada Inceptisol dengan Pemberian Kompos. *J. Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 20(2): 33-39.
- Handayanto, E., N. Muddarisna., A. Fiqri. (2017). *Pengelolaan Kesuburan Tanah*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Haynes, R.J., and M.S Mokolobate. (2001). Amelioration of Al toxicity and P deficiency in acid soils by additions of organic residues: a critical review of the phenomenon and the mechanisms involved. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 59(1): 47-63.
- Husna, M., Sugiyanta., dan E. Pratiwi. (2019). Kemampuan Konsorsium *Bacillus* pada Pupuk Hayati dalam Memfiksasi N<sub>2</sub> Melarutkan Fosfat dan Mensintesis Fitohormon Indole 3-Acetic-Acid. *Tanah dan Iklim*. 43(2): 117-125.
- Kaur, C. G. Selvakumar and K. K. Upreti (2021). Organic acid profiles of phosphate solubilizing bacterial strains in the presence of different insoluble phosphatic sources under in vitro buffered conditions. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(2), 1006-1015
- Marra, L. M., C.R.F.S Soares., S.M.D Oliveira., P.A.A Ferreira., B.L Soares., R.D.F. Carvalho., J.M.D Lima., and S. Moreira. (2012). Biological Nitrogen Fixation and Phosphate Solubilization By Bacteria Isolate from Tropical Soils. *Plant Soil*. 257:289-307.
- Marra, L.M., S.M.D Oliveira., C.R.F.S Soares., and F.M.D.S Moreira. (2011). Solubilisation of Inorganic Phosphates by Inoculant Strains from Tropical Legumes. *Sci Agric*. 68(5): 603-609.
- Mindari, W., B.W. Widjajani., dan R. Priyadarsini. (2018). *Kesuburan Tanah dan Pupuk*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Mohamed, E.A.H., A.G. Farag., and S.A Youssef. (2018). Phosphate Solubilization by *Bacillus Subtilis* and *Serratia Marcescens* Isolated from Tomato Plant Rhizosphere. *J. Environmental Protection*. 9: 266-277.
- Mulyani, A., dan M. Sarwani. (2013). Karakteristik dan Potensial Lahan Sub Optimal untuk Pengembangan Pertanian di Indonesia. *Jurnal Sumberdaya Lahan*. 7(1): 47-55.
- Munawar, A. (2011). *Kesuburan Tanah dan Nutrisi Tanaman*. Bogor: IPB Press.
- Nurhidayati. (2017). *Kesuburan dan Kesehatan Tanah*. Malang: Intimedia.
- Pande, A., P. Pandey., S. Mehra., M. Singh., and S. Kaushik. (2017). Phenotypic and genotypic Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Efficiency on the Growth of Maize. *Genetic Engineering and Biotechnology*. 15 : 379-391.
- Puspita, F., Hadiwiyono., S.H. Poromorto and D.I. Roslim. (2017). Morphology Physiology and Molecular Characteristics of Oil Palm (*Elaeis guineensis Jacq*) endophytic *Bacillus sp.* *International Journal of Biosciences and Biotechnology*. 5(1):-80-91.
- Putri, N.A.R., A. Niswati., S. Yumnaini dan H. Buchari. (2017). Pengaruh Sistem Olah Tanah dan Aplikasi Mulsa Bagas Terhadap Respirasi Tanah pada Pertanaman Tebu (*Saccharum Officinarum L*) Ratoon ke-1 Periode 2 di PT Gunung Madu Plantations. *Agrotek Tropika*. 5(2):109-112.
- Respati, N.Y., E. Yulianti dan A. Rakhmawati. (2017). Kemampuan Pelarutan Fosfat oleh Bakteri Termofilik pada Variasi Suhu dan pH. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi*. 1-10.
- Riwat, P., S. Das., D. Shankhdhar., and S.C Shankhdhar. (2020). Phosphate Solubilizing Microorganisms Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*.
- Ryan, M.G, and B.E. Law. (2005). Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*.73: 3–27.

- Santosa, E. (2007). Metode Analisis Biologi Tanah (Mikroba Pelarut Fosfat). Bogor: Balai Besar Sumberdaya Lahan Pertanian
- Sari, M.N., Sudarsono dan Darmawan. (2017). Pengaruh Bahan Organik Terhadap Ketersediaan Fosfor pada Tanah-tanah Kaya Al dan Fe. *Buletin Tanah dan Lahan*. 1(1): 65-71.
- Seshachala, U., and P. Tallapragada. (2012). Phosphate Solubilizer from the Rhizosphere of Piper Nigrum L. in Karnataka, India. *Chilean Journal of Agricultural*. 72(3): 397-403.
- Setiawati, M.R., P. Suryatmana., R. Hindersah., B.N. Fitriatin., dan D. Herdiyantoro. (2014). Karakterisasi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat untuk Meningkatkan Ketersediaan P pada Media Kultur Cair Tanaman Jagung. *Bionatura*. 16(1): 30-34.
- Sharon, J.A., L.T Hathawaik., G.M. Glenn., S.H., Imam., and C.C Lee. (2016). Isolation of Efficient Phosphate Solubilizing Bacteria Capable of Enhancing Tomato Plant Growth. *Soil Science and Plant Nutrition*. 16(2): 525-536.
- Sugianto, S.K., M. Shovitri., dan A. Hidayat. (2019) Potensi Rhizobakteri Sebagai Pelarut Fosfat. *Sains dan Seni ITS*. 7(2): 71-74.
- Suleman, M, S.Yasmin, M. Rasul, M.Yahya, B. M. Atta, and M.S. Mirza (2018). Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS ONE* 13(9):e0204408.
- Sulistijowati, Rieny. (2012). Potensi Filtrat *Lactobacillus Acidophilus* ATTC 4796 Sebagai Biopreservatif pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. *IJAS*. 2(2): 58-63.
- Utomo, M., Sudarsono., B. Rusman., T. Sabrina., J. Lumbanraja dan Wawan. (2018). *Ilmu Tanah dan Dasar Pengelolaan*. Jakarta: Prenadamedia Group.
- Widati, S. (2007). *Metode Analisis Biologi Tanah (Respirasi Tanah)*. Bogor: Balai Besar Sumberdaya Lahan Pertanian. 145-149.
- Zulkifli, L., P. Sedijani., D.A.C. Rasmi., and L.W.Z. Amrullah. (2020). Screening and Molecular Identification of Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria from Mangrove Ecosystem of the Lombok Island. *Biologi Tropis*. 20(3): 475-484.