

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**PEMANFAATAN INOKULASI GANDA BAKTERI PELARUT FOSFAT DAN
PELARUT KALIUM PADA MEDIA BAGASE TEBU GUNA PENINGKATAN
KETERSEDIAAN HARA TANAH DAN PERTUMBUHAN TANAMAN**

Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

Ketua Peneliti:

**Dr. Ir. Tri Candra Setiawati, MSi
Ir. Marga Mandala, MP, Ph.D
Ir. Arie Mudjiharjati, MS**

**NIDN. 0023056501
NIDN. 0010116209
NIDN 0015075001**

UNIVERSITAS JEMBER

DESEMBER, 2015

Judul : Pemanfaatan Inokulasi Ganda Bakteri Pelarut Fosfat dan Pelarut Kalium pada Media Bagase Tebu Guna Peningkatan Ketersediaan Hara Tanah dan Pertumbuhan Tanaman

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : TRI CANDRA SETIAWATI
Perguruan Tinggi : Universitas Jember
NIDN : 0023056502
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Agroteknologi
Nomor HP : 085335613353
Alamat surel (e-mail) : candra.setiawati@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : MARGA MANDALA
NIDN : 0010116209
Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Anggota (2)

Nama Lengkap : ARIE MUDJIHARJATI
NIDN : 0015075001
Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -

Alamat : -

Penanggung Jawab : -

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

Biaya Tahun Berjalan : Rp 67.000.000,00

Biaya Keseluruhan : Rp 200.000.000,00

Mengetahui,
Dekan

(Dr. Ir. Iwan Januar, MT)
NIP/NIK 19901021988031002

Jember, 22 - 1 - 2016
Ketua,


(TRI CANDRA SETIAWATI)
NIP/NIK 196505231993022001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian


(Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D)
NIP/NIK 196905171992011001

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Pengesahan	2
Daftar isi	3
Ringkasan	4
I Pendahuluan	5
II Tinjauan Pustaka	8
2.1 Peranan mikrobia pelarut fosfat dalam meningkatkan ketersediaan P tanah dan mendukung pertumbuhan tanaman	8
2.2 Peranan mikrobia dalam siklus K Tanah	10
2.3 Medium tumbuh dan viabilitas Mikrobia pada media bahan organik	12
III Metodologi Penelitian	15
3.1 Uji viabilitas dan kapabilitas mikroba pelarut kalium dan pelarut fosfat pada media bagasse tebu	15
3.2 Uji akselerasi dekomposisi bagasse tebu dengan isolat pendegradasi lignoselulosa	17
IV Hasil dan Pembahasan	20
4.1 Isolasi Mikroba Pelarut Kalium	20
4.2. Isolasi Mikroba pelarut fosfat	24
4.3 Uji pelarutan Kalium secara kuantitatif	24
4.4 Produksi Asam Organic	26
V Kesimpulan	31
Daftar Pustaka	32

DOUBLE INOCULATION OF PHOSPHATE AND POTASSIUM SOLUBILIZING BACTERIA ON SUGARCANE BAGASSE MEDIUM TO IMPROVE SOIL NUTRIENT AND PLANT GROWTH

Tri Candra Setiawati
Departement of Soil Science, University of Jember
candra.setiawati@gmail.com

Potassium solubilizing microorganisms (KSM) and phosphate solubilizing microorganisms (PSM) isolated from sugarcane rhizosphere and their capability on solubilization from some insoluble potassium and insoluble phosphate were examined. Isolation of microorganisms was carried out from three sugarcane plantations area, on Aleksandrov's and Pikovskaya agar medium. From the 41 isolated microorganisms were selected 15 isolates potassium solubilizing microorganisms which exhibiting highest potassium solubilization (solubility index) on solid medium. All the KSM were found to be capable of solubilizing K from insoluble K-bearing minerals source, and the solubilization zone ranging from 0.15 to 4.5 cm. 13.3% isolate has Solubility Index (SI) more than four on solid medium. Quantitative test result of KSM conducted on liquid medium containing potassium mineral trachyte, feldspar, leucite (Pati and Situbondo), released water soluble-K (exchangeable-K) ranging from 0.13 to 12.25 mg.L⁻¹ (Feldspar); 1.24 to 15.57 mg L⁻¹ (Leucite pati); 1.01 to 4.59 mg L⁻¹ (Leucite Situbondo); and 0.16 to 6.34 mg L⁻¹ (Trachyte). KSM strain Sbr3 caused maximum solubilization on feldspar (12.25 mg L⁻¹), KSM strain Asb3 on leucite Pati (18.17 mg L⁻¹), KSM strain Prj3 on leucite Situbondo (16.14 mg L⁻¹), whereas KSM strain Prj5 caused maximum solubilization on trachyte (6.92 mg L⁻¹). All isolates produce organic acid citric, ferulic and coumaric, some isolates also produce malic and syringic acid. Total organic acid produced by isolated ranging from 130.42 to 434.44 mg.L⁻¹. Ferulic acid was produced by all isolates on all of K sources higher than other organic acid.

Keywords: Leucite, Trachyte, Feldspar, Aleksandrov's agar medium, Potassium solubilizing microorganisms, ferulic acid

Pemanfaatan Inokulasi Ganda Bakteri Pelarut Fosfat dan Pelarut Kalium Pada Media Bagase Tebu Guna Peningkatan Ketersediaan Hara Tanah dan Pertumbuhan Tanaman

RINGKASAN

Ketersediaan hara fosfat dan kalium dalam tanah secara actual adalah rendah, namun secara potensial cukup tinggi. Didalam tanah terdapat agen hayati (mikroorganisme) yang mampu merubah hara potensial khususnya P dan K menjadi hara yang tersedia untuk tanaman dengan beberapa mekanisme. Untuk aplikasinya diperlukan suatu media pembawa yang baik sesuai kriteria, yaitu tidak bersifat toksik, mudah didapat, memberikan carbon dan nutrisi bagi mikrobia, dll. Bagase merupakan limbah padat dari industry gula yang masih potensial untuk dimanfaatkan salah satunya sebagai biofertilizer. Namun, cukup tingginya kadar lignin dan selulosa diperlukan agen decomposer untuk mengakselerasi proses dekomposisinya. Selain itu, agar lebih menguntungkan bagi perbaikan hara tanah, *enrichment* dengan mikroba terutama mikroba pelarut kalium dan pelarut fosfat sangat menguntungkan. Peningkatan ketersediaan hara K dan P, kadar bahan organik tanah, akan berkorelasi dengan kualitas tumbuh tanaman dan juga produksi tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk (1) optimalisasi pemanfaatan mikroba pelarut kalium dan pelarut fosfat untuk meningkatkan ketersediaan hara kalium dan fosfat tanah; (2) akselerasi dekomposisi limbah tebu (bagasse) dengan penggunaan decomposer unggul; (3) pemanfaatan hasil dekomposisi limbah padat industry gula tebu (bagasse) sebagai biofertilizer yang diperkaya dengan mikroba pelarut kalium dan pelarut fosfat; (3) meningkatkan kandungan bahan organik tanah; (4) memperbaiki kualitas pertumbuhan dan produksi tanaman.

Untuk mencapai tujuan, penelitian dilakukan secara bertahap selama dua tahun yaitu: (a) screening mikroba pelarut kalium dan pelarut fosfat unggul; (b) Uji kapabilitas mikroba terhadap kemampuan pelarut P dan pelarut K secara kualitatif pada media selektif modified *Alexsandrov* media dan *Pikovskaya* menggunakan *spot test method*; (c) Uji viabilitas mikroba pelarut fosfat dan pelarut kalium pada media bagasse tebu (*in vitro*); (d) Uji sinergitas mikroba; (e) Uji akselerasi dekomposisi bagase tebu dengan isolat pendegradasi lignoselulosa; (f) Uji kuantifikasi metabolit sekunder; (g) Uji ekologi mikroba; (h) Pengujian efektivitas *dual inoculation* mikroba pada media bagasse secara *in vivo* di rumah kaca; (i) Pengujian viabilitas mikroba melalui teknik re-isolasi dengan metode time series; (j) Pengujian efektivitas *dual inoculation* mikroba pada media bagasse secara *in vivo* di lapang.

Hasil isolasi telah diperoleh 15 isolat mikroba pelarut Kalium yang mempunyai kemampuan melarutkan cukup baik dengan Indeks kelarutan dan zona bening cukup besar berasal dari 3 lokasi rhizosfer tebu, serta 3 isolat Mikroba pelarut Fosfat. Semua isolate mempunyai kemampuan melarutkan K terhadap sumber Feldspar, dengan konsentrasi K terlarut 0.17 hingga 12.25 mg.L⁻¹, namun hanya 5 isolates yang melarutkan K dengan konsentrasi > 1 mg.L⁻¹. Strain Sbr3 and Prj2 melarutkan K dari sumber feldspar paling tinggi. Dalam penelitian ini efektivitas pelarutan yang dilakukan oleh KSM maksimum 3.89%. Sedangkan dengan sumber trachyte efektivitas pelarutan K maksimum 4.23% oleh isolate Prj5 yaitu sebesar 6.34 mg.L⁻¹, dan hanya 5 isolates yang mampu melarutkan K dengan konsentrasi > 1 mg.L⁻¹.

Semua isolat menghasilkan asam organik sitrat, ferulic dan coumaric, beberapa isolate juga menghasilkan asam malat dan asam syringic. Total asam organik yang

diproduksi berkisar 130.42 hingga 434.44 mg.L⁻¹. Berdasarkan hasil uji sinergisme pada media solid, kedua mikroba tidak saling antagonis dan memberikan sinergitas yang cukup baik.

BAB I. PENDAHULUAN

Inovasi teknologi penggunaan sumberdaya alam dan hayati untuk meningkatkan efisiensi system produksi tanaman pangan dan komoditas perkebunan sangat dibutuhkan untuk dikembangkan dan diaplikasikan, Sesuai dengan RIP Universitas Jember 2012-2016 telah disepakati 7 penelitian prioritas utama untuk bidang pertanian. Salah satu bidang unggulan untuk bidang pertanian adalah *Swasembada gula nasional dan pengembangan tebu sebagai sumber karbon dan energy terbarukan*. Dengan topic penelitian Optimalisasi pemanfaatan limbah industry gula tebu sebagai sumber carbon yang dipadukan dengan optimalisasi pemanfaatan sumber daya hayati akan mampu memperbaiki sifat tanah dan aspek keharaan guna meningkatkan produksi tanaman.

Sebagai salah satu wilayah di Indonesia yang dikembangkan untuk industry gula, maka perkebunan tanaman tebu sebagai bahan baku produksi gula tersebar banyak di Jawa Timur, termasuk Jember dan sekitarnya. Produksi yang secara rutin dilaksanakan menuntut Pemerintah, PTPN, atau petani tebu untuk selalu membudidayakan sepanjang tahun. Konsekuensi dari aktivitas ini adalah adanya translokasi hara dari tanah ke tanaman. Aktivitas pabrik industry gula tebu akan memberikan dampak adanya limbah yang cukup besar yang perlu dipikirkan untuk memanfaatkan secara optimal, mengembalikan hara ke dalam tanah dan memperbaiki sifat-sifat tanah.

Perkembangan industri gula nasional semakin meningkat dalam hal areal maupun produksi sejak tahun 2000 hingga 2009. Pada tahun 2009 luas lahan mencapai 441.318 ha, dengan produksi 2.850.188 ton gula dengan rendemen 8,21. Perkembangan ini mengakibatkan besarnya produk samping (*by product*) cairan berupa molase dan padatan (bagasse/blotong). Menurut Isabirye *et all*, 2013) produksi bagasse mencapai 40% dari produksi tebu, kelembaban bagasse sebesar 50%.

Table 1. Komposisi produk samping industri gula berbasis tebu

	Dry matter	Protein	Fibre	Carbohydrates	Ash
	%	%DM	%DM	%	%DM
Tops	20-25	5.4	34.5	53.2	5-9
Molasses	83-85	2.5-3.7	-	34-36	9-13
Bagasse	50-53	-	90.0*	4-7	1.5-2.5
Filter mud		12-16	-	10-14	8-12
Juice	12-20	-	-	95-99	-
Slurry	23	27	-	80	-

Keterangan : * Cellulose 65.6%; Hemicellulose 17.5%; Lignin 17% (Monroy, Torres, Viniegra, 1980)

By product hasil pengolahan tebu pada saat giling antara lain: 32% ampas, 3,64% - 7,5% blotong, sedangkan diareal lahan diperoleh 24 ton seresah/ha. Dari perhitungan ini maka kuantitas produk samping suatu industri gula berbasis tebu cukup besar

Ketersediaan fosfat dalam tanah rata-rata adalah rendah, meskipun kandungan P-potensial adalah tinggi. Hal ini disebabkan adanya jerapan (fiksasi) oleh logam (tanah masam/basa), maupun oleh mineral alofan (tanah Andisol). Hasil penelitian Setiawati (1998, 2000, 2001, 2005) menunjukkan keefektifan Mikrobia pelarut fosfat dalam meningkatkan ketersediaan P dari sumber P sukar larut maupun pada beberapa jenis tanah, juga mempunyai kemampuan merubah bentuk-bentuk P (fraksionasi) pada tanah masam (Setiawati, 2000; 2005).

Potensi kandungan kalium tanah sangat besar terdapat dalam mineral-mineral seperti mika, feldspar maupun mineral liat kaolinit, namun ketersediaannya bagi tanaman hanya <2% dari K-potensial. Mikroba pelarut kalium berperan dalam meningkatkan ketersediaan hara kalium pada tanah.

Inokulasi ganda oleh kedua jenis mikroba pelarut tersebut, akan memberikan pengkayaan pengetahuan, utamanya dalam memperbaiki kesuburan tanah dan meningkatkan produktivitas lahan, konservasi terhadap sumberdaya hayati spesifik dan sebagai dasar untuk pengembangan pemanfaatan yang lain seperti potensi bioremediasi oleh mikroba. Pengkayaan bagase dengan mikroba akan sangat memberikan nilai tambah penggunaannya dalam skala besar, juga adanya akselerasi dekomposisi oleh mikroba perombak akan mempercepat pemanfaatannya.

Penelitian yang akan dilaksanakan sesuai dengan sub topik penelitian dalam RIP Unej yaitu *Modifikasi agronomis termasuk teknologi pengelolaan air, hara dan lahan untuk meningkatkan produktivitas dan mutu*, juga sesuai dengan upaya *Peningkatan teknologi pengelolaan limbah industri gula tebu*. Selain itu pemanfaatan mikroba sebagai agen pengkayaan juga sesuai dengan sub topic penelitian *Explorasi potensi hayati untuk agrofarmaka dan pangan*.

Tujuan khusus

Penelitian ini memiliki tujuan khusus dan tujuan jangka panjang. **Tujuan khusus** yang akan dicapai adalah:

1. memperoleh isolate mikrobia pelarut kalium dan pelarut fosfat serta decomposer yang mempunyai kapabilitas bagus dalam meningkatkan ketersediaan hara tanah

2. mengakselerasi proses dekomposisi bahan organik (bagasse) sehingga dapat digunakan sebagai pupuk organik untuk perbaikan sifat fisik dan kimia tanah
3. memperkaya dan mengakselerasi dekomposisi pupuk organik bagasse dengan isolate-isolate yang potensial
4. Menganalisa perubahan beberapa sifat kimia dan biologi tanah setelah aplikasi bagasse yang diperkaya
5. Meningkatkan kualitas pertumbuhan dan produksi tanaman tebu

Tujuan jangka panjang yang diharapkan dari beberapa kegiatan dalam hasil penelitian ini adalah:

1. Meningkatkan kesuburan tanah dan efisiensi pemupukan karena ketersediaan hara bagi tanaman tercukupi.
2. Memanfaatkan limbah industri gula tebu secara optimal untuk mengurangi penumpukan limbah
3. Meningkatkan produktivitas tanah mineral bereaksi masam (marginal) sebagai lahan yang mempunyai potensi besar untuk ekstensifikasi pertanian (perluasan lahan) melalui pendekatan ramah lingkungan.
4. Inventaris sumber daya hayati yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk jenis tanaman yang lain

BAB II. STUDI PUSTAKA

Dalam tanah ditemukan banyak mikroorganisme yang berperan dalam siklus hara tanah yang mampu memperbaiki sifat tanah, meningkatkan ketersediaan hara tanah dan peran yang lain.

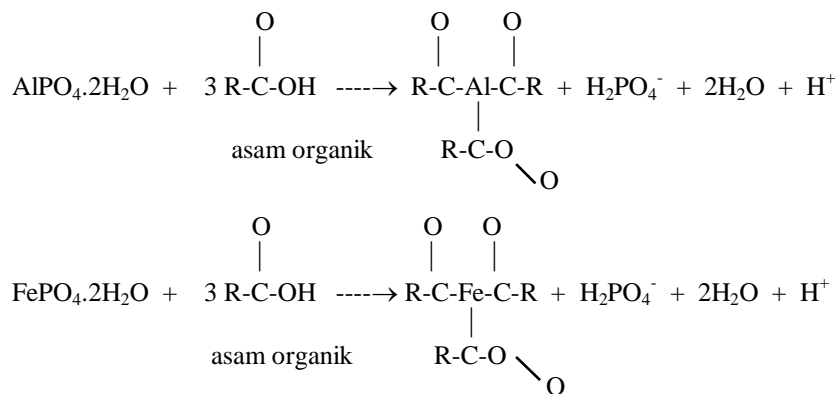
2.1 Peranan mikrobia pelarut fosfat dalam meningkatkan ketersediaan P tanah dan mendukung pertumbuhan tanaman

Mikrobia tanah berperan penting dalam mobilisasi P untuk tanaman, dalam proses mineralisasi/transformasi hara, weathering dan degradasi bahan organik. Mikrobia yang mempunyai kemampuan melarutkan P-anorganik terdiri dari beberapa spesies bakteri dan fungi, antara lain *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Penicilium*, *Sclerotium*, *Fusarium* dan *Aspergillus* (Setiawati, 2000; Premono, 1994).

Setiawati (2000) mengisolasi dari beberapa rhizosfer tanaman di daerah Jawa Timur, diperoleh 5 bakteri pelarut fosfat unggul yaitu : *Pseudomonas aerogenusa* (J2.1), *Pseudomonas diminuta* (B1.9), *Beneckea sp* (P1.12), *Chromobacterium violaceum* (J2.4) dan *Bacillus sp* (J10.20) dan 2 fungi pelarut fosfat yaitu *Aspergillus niger* dan *Penicilium sp* dengan menguji: (1) kemampuan pelarutan P dari beberapa sumber P sukar larut, (2) indeks pelarutan, (3) kemampuan pelarutan P dari beberapa jenis tanah (masam, netral dan alkalin) serta (4) kemampuan fraksionasi.

Melalui metabolismenya, Mikrobia pelarut P akan menghasilkan asam-asam organik, diantaranya ialah asam sitrat, glutamat, suksinat, laktat, oksalat, glioksalat, malat, fumarat, tartrat dan α -ketobutirat (Subba Rao, 1982). Illmer, Barbato dan Schinner (1995) dalam penelitiannya menemukan bahwa spesies *Aspergillus niger* dan *Penicillium simplicissimum* mempunyai kemampuan yang tinggi dalam melarutkan P-anorganik karena menghasilkan asam organik yang tinggi terutama asam sitrat. Bakteri *Pseudomonas putida* dan *P. diminuta* menghasilkan total asam organik dengan konsentrasi sebesar 70.3 dan 61.9 ppm (Setiawati, 2004), Premono (1994) bakteri dan fungi pelarut fosfat menghasilkan asam-asam organik dengan konsentrasi masing-masing asam berkisar 1.4– 67.7 ppm tergantung kepada spesiesnya. Asam-asam organik mampu meningkatkan P tersedia tanah melalui beberapa mekanisme, diantaranya adalah: (1) anion organik bersaing dengan ortofosfat pada permukaan tapak jerapan koloid yang bermuatan positif (Nagarajah *et al.*, 1970 dalam Premono, 1994); (2) pelepasan ortofosfat dari ikatan logam-P melalui pembentukan

kompleks logam organik (Earl *et al.*, 1979); dan (3) modifikasi muatan permukaan tapak jerapan oleh ligan organik (Tisdale *et al.*, 1993). Pelarutan fosfat oleh asam-asam organik:



Adanya asam organik mempengaruhi proses asorpsi-desorpsi P dalam tanah. Asam sitrat dan oksalat mempunyai kemampuan mendesorpsi P yang diadsorpsi oleh Al-OH, Al-P maupun oleh Al-organik (Al-osalat dan Al-citrat) sampai 4,75%, sedangkan tidak adanya asam organik dalam larutan tanah proses desorpsi hanya 2% sehingga meningkatkan ketersediaannya dalam tanah (Hu Hongqing *et al.*, 2002).

Ligan organic seperti asam tartrat, oxalate, malat dan sitrat yang mengandung gugus carboxyl (COOH), aliphatic-OH, phenolic-hidroksil sangat efektif dalam pelarutan mineral dan pembentukan chelat dengan unsure Al, Fe, Ca serta unsure lain dan menurunkan pH media (Violante and Gianfreda, 2000).

Selain asam organik, Bakteri *Pseudomonas putida* dan *P. diminuta* menghasilkan enzim alkaline phosphatase dengan konsentrasi sebesar 104.35 dan 146.20 $\mu\text{g pNP.g}^{-1}$ (Setiawati, 2004).

Kemampuan fraksionasi *P.putida* dan *P. diminuta* telah diuji oleh Setiawati (2000; 2005) pada beberapa karakteristik tanah yang berbeda. Proses fraksionasi oleh aktivitas mikroorganisme terutama menurunkan konsentrasi bentuk-bentuk yang sukar larut karena berikatan dengan logam ataupun terjerap oleh koloid tanah, sehingga persentase bentuk occ-P, red-P menjadi menurun. Hasil penelitian ini menunjukkan terjadinya penurunan yang tajam dari bentuk occ-P menjadi bentuk yang lain. Bentuk occ-P rata-rata menurun dari 34.21% menjadi 8.97%.

Aplikasi mikrobial pelarut fosfat (MPF) berpengaruh langsung dan tidak langsung terhadap tanaman. Hasil metabolit selain asam-asam organik dan enzim fosfatase, MPF menghasilkan hormon tumbuh (ZPT), vitamin dan antibiotik. Beberapa tanaman telah dipergunakan sebagai bahan percobaan untuk menguji antara lain tebu, jagung, kedelai, tembakau, gandum dll (Premono, 1994; Setiawati, 1998; Rao, 1982). Sobieszczanski dan

Stempniewicz (1989) mengemukakan bahwa *Pseudomonas putida* yang hidup di sekitar akar tanaman memanfaatkan 73-76% eksudat akar dan menghasilkan zat pengatur tumbuh antara lain IAA (*indole acetic acid*), IAM (*indole-3-acetamide*), ILA (*indole-3-lactic acid*), IAH (*indole-3-acetaldehyde*), GA3 (*gibberelic acid*), aneurin, biotin, mesoinositol, pyridoksin, pantotenic acid dan nicotinic acid, sedangkan *Pseudomonas fluorescens* memproduksi auksin, giberelin dan juga IAA (Sobieszczanski, Stempniewicz dan Krzysko, 1989), bakteri *Bacillus firmus* memproduksi *indole-3-acetic acid* yang mempunyai kemampuan tinggi dalam melarutkan P-tak larut (Datta *et al.*, 1982). BPF *Azotobacter chroococcum* yang ditumbuhkan pada media Jensen dengan rock phosphate sebagai sumber P menghasilkan *Indole acetic acid* (IAA) sebesar 139 - 184 μ M dan mempengaruhi pertumbuhan bibit gandum, selain kemampuannya melarutkan P dari RP sebesar 0.18 – 0.22 μ g.ml⁻¹ (Kumar and Nerula, 1999).

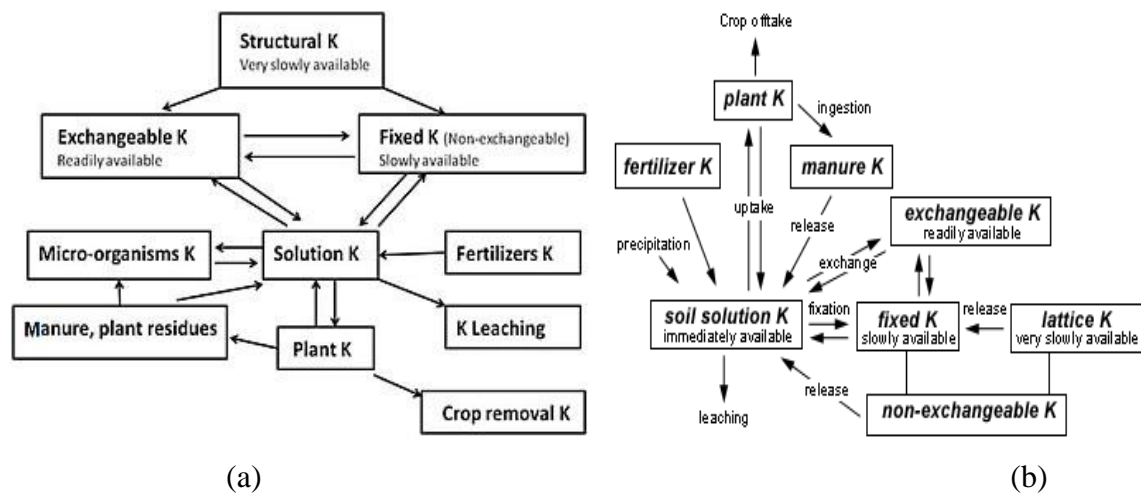
Upaya perbaikan yang telah dilakukan antara lain dengan penambahan bahan organik, pemanfaatan fungi mikoriza dan mikrobia pelarut fosfat (Setiawati, 2005; Premono, 1994). Penambahan bahan organik ke dalam tanah menyebabkan terjadinya reaksi-reaksi tanah yang bekerja a.l: (1) fosfat dalam ikatan Ca-P, Al-P dan Fe-P dapat dibebaskan ke dalam larutan tanah oleh aktivitas asam-asam organik dan ligan organik yang dihasilkan dari dekomposisi BO tersebut melalui pembentukan senyawa kompleks humat-P; (2) terjadinya mineralisasi unsur hara organik (P-org, N-org); (3) perbaikan siklus hara dalam tanah.

2.2 Peranan mikrobia dalam siklus K tanah

Kalium merupakan unsur makro esensial untuk pertumbuhan dan perkembangan biologi. Tanaman membutuhkan kalium dari larutan tanah sebagai ion K⁺ yang biasanya konsentrasi dalam larutan sangat rendah. Proporsi terbesar K tanah dalam bentuk batuan, mineral dan deposit kalium lainnya yang merupakan sumber kalium dalam tanah. Pada kondisi yang sesuai Kalium potensial tersebut dapat terlarut dan tersedia bagi tanaman. Mikroba berperan dalam siklus K melalui mekanisme produksi asam organik untuk proses mineralisasi K-organik dalam tanah. Populasi K-solubilizing mikroba cukup banyak di rhizosfer tanaman dan tanah.

Hasil penelitian Basak dan Biswas (2009) menunjukkan bahwa aplikasi bakteri pelarut kalium *Bacillus Mucilaginosus* memberikan pengaruh signifikan terhadap hasil biomasa, serapan kalium pada tanaman *Sorghum vulgare*. Selain itu juga mempengaruhi dinamika K tanah, antara lain mengimprove K dapat ditukar maupun yang sukar bertukar

sehingga lebih tersedia bagi tanaman. Berdasarkan hasil X-ray diffraction analysis mengindikasikan terjadi pelarutan dari mika selama periode pertumbuhan.



Gambar 1. Siklus kalium



(a)



(b)

Gambar 2. Pelarutan kalium pada media Aleksandrov padat oleh mikroba pelarut kalium (a) dan pelarutan fosfat oleh mikroba pelarut fosfat (b)

Hasil penelitian Prajapati and Modi (2012) diperoleh 5 BPK (Bakteri pelarut kalium) yang memproduksi asam-asam organik seperti *Citric*, *Oxalic*, *Malic*, *succinic* dan *Tartric acid*. Uji kualitatif menunjukkan indeks pelarutan berkisar 1,04 hingga 1,66. Selain itu beberapa BPK memproduksi enzyme antara lain: *Amylase*, *Protease*, *Lipase*, *Catalase*, *Glucose*. Resistensi antibiotika dari BPK antara lain terhadap antibiotika Ampicillin, Tetracyclin, Amoxicillin, dan Novoblocin.

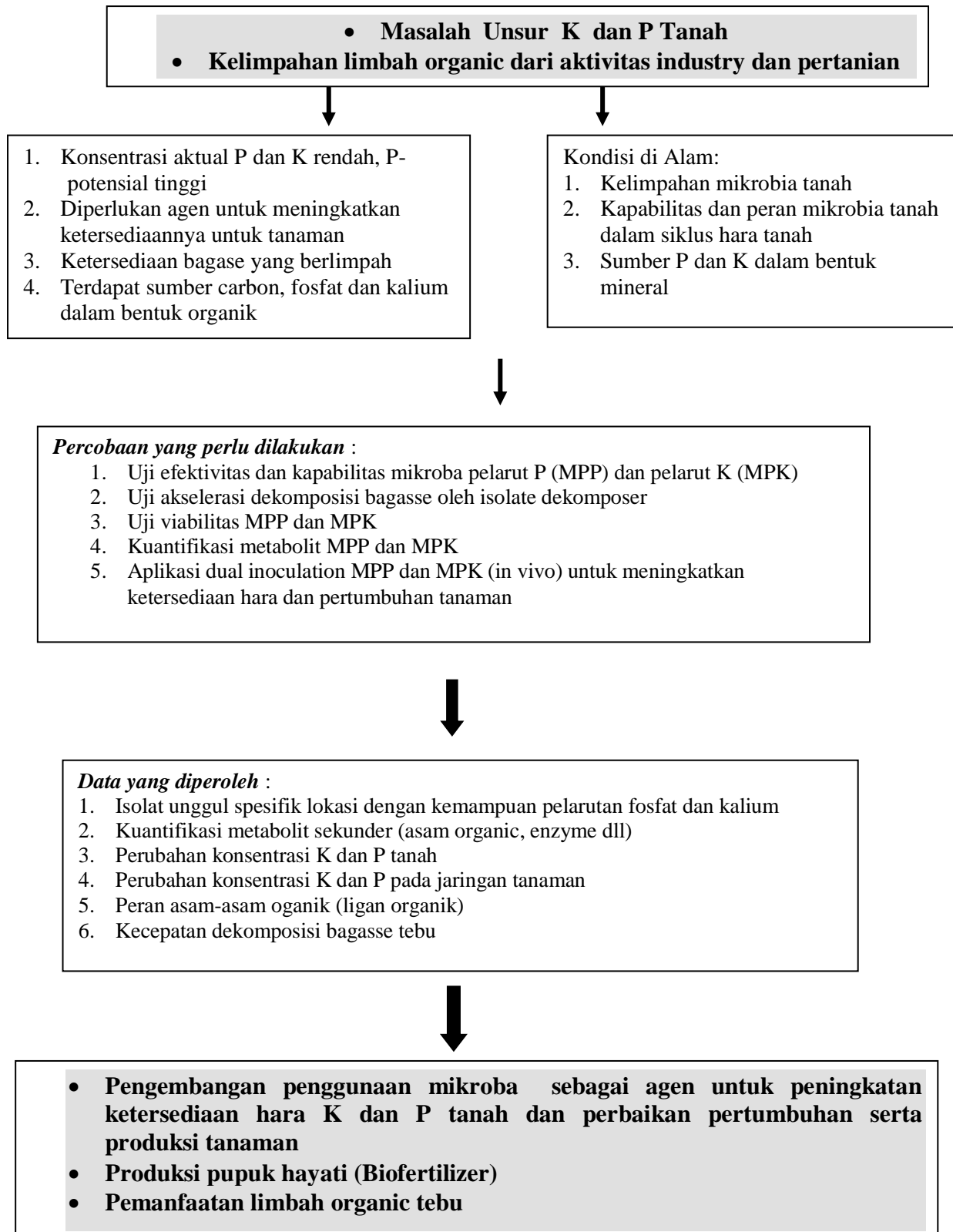
2.3 Medium tumbuh dan viabilitas Mikrobia pada media bahan organik

Untuk menginokulasikan mikroba ke dalam tanah atau akar tanaman diperlukan medium pembawa. Ciri-ciri media pembawa yang baik adalah: (1) tidak bersifat racun bagi mikroba, (2) mempunyai daya absorpsi yang baik, (3) tidak keras, mudah dihancurkan dan

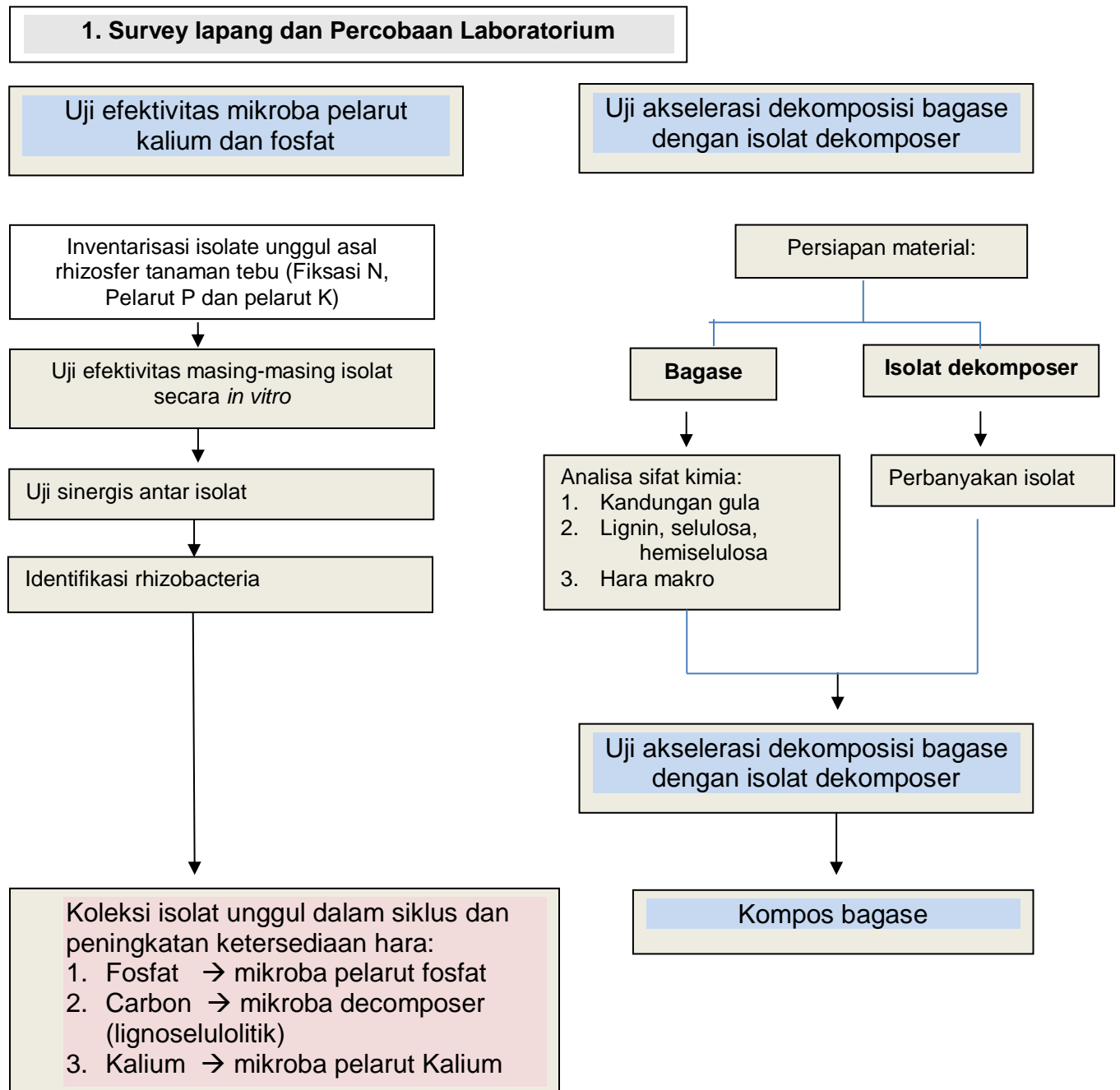
disterilisasi, (4) mempunyai daya adhesi yang baik terhadap biji, (5) murah dan mudah tersedia, (6) mempunyai kapasitas menahan air cukup tinggi, serta (7) mengandung cadangan makanan yang cukup untuk menjamin pertumbuhan mikroba. Salah satu yang dapat digunakan sebagai media pembawa adalah kompos atau bahan organik karena peranannya sebagai sumber energi bagi mikroba.

Hasil penelitian Razikordamahalleh (2006) menunjukkan pengkayaan compost bagase tebu dengan bakteri penambat N *Azotobacter croococcum* dan bakteri pelarut fosfat *Enterobacter cloacae* dapat memproduksi N, P dan sulfat dalam waktu lebih singkat dan menyediakan bagi tanaman dibanding tanpa inokulan. Sedangkan Hayed and Abdel-Motaal (2005) menambahkan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* pada bagase tebu dan memperoleh hasil adanya peningkatan ketersediaan P yang tinggi dalam tanah 14di banding penggunaan bagase tanpa inokulan.

Kerangka Dasar Pemikiran Penelitian



TAHUN KE-1



Keterangan:

- Isolat dekomposer merupakan koleksi Fak. Pertanian UNEJ

BAB 3. METODE PENELITIAN

Penelitian tahun pertama meliputi: (1) eksplorasi; (2) inventarisasi melalui penelitian di Laboratorium Biologi Tanah, Lab. Kimia dan Kesuburan Tanah, dan (3) pengujian isolat

3.1 Tahun ke-1. Uji viabilitas dan kapabilitas mikroba pelarut kalium dan pelarut fosfat pada media bagasse tebu

3.1.1 Inventarisasi isolate unggul asal rhizosfer tanaman tebu

Eksplorasi isolat unggul di laksanakan pada beberapa lahan tebu di Jawa Tmur dengan mengambil sampel tanah di perakaran tebu dengan beberapa umur tebu yang berbeda. Lahan tebu dibedakan pada jenis tanah atau karakteristik sifat kimia tanahnya.

Isolasi, identifikasi dan inventarisasi mikrobia

Tanah diambil di perakaran tanaman tebu sebanyak masing-masing 3 kantong komposit pada setiap lokasi. Pada saat dilapang digunakan *cold storage box* untuk menjaga kesegaran kondisi tanah. Tanah yang diperoleh dari lapang untuk selanjutnya disimpan pada suhu 4°C (refrigerator) untuk dilakukan tahap berikutnya.

Metode isolasi mikrobia spesifik dengan menggunakan media selektif dengan menggunakan metode plate count sesuai Tabel 2.

Tabel 2. Metode isolasi mikrobia fungsional

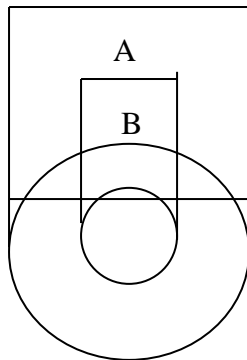
No	Fungsional	Media	Keterangan
1	Mikroba pelarut kalium	Aleksandrov medium	Sugumaran, P. and Janarthanam, B., (2007) Lampiran bahan
2	Mikrobia pelarut fosfat	Pikovskaya	Subba Rao (1981) Lampiran bahan

3.1.2 Uji kapabilitas rhizobacteria terhadap kemampuan pelarut P dan pelarut K secara kualitatif (in vitro) menggunakan *spot test method*.

- A. Pelarutan kalium menggunakan *modified Aleksandrov medium* dengan menggunakan 2 sumber kalium yaitu (A) insoluble kalium (*mica powder*) and (B) soluble kalium (K_2HPO_4).
- B. Pelarutan fosfat menggunakan *modified Pikovskaya medium* dengan menggunakan 2 sumber fosfat yaitu (A) insoluble fosfat (*phosphate Rock*) and (B) soluble fosfat (Ca_3PO_4).

Pelaksanaan:

- Uji kemampuan terhadap pelarutan fosfat dan kalium dilakukan dengan menggunakan media selektif Pikovskaya padat dan media *Aleksandrov*. Efektivitas pelarutan secara kualitatif diamati dengan menghitung indeks pelarutan sebagai berikut:



$$\text{Indeks Pelarutan} = \frac{A}{B} \quad (1)$$

Dimana A = diameter koloni + halo zone
B = diameter koloni

Inkubasi dilakukan selama 1 minggu dan pengamatan dilakukan setiap hari. Karakteristik yang diamati adalah adanya zona terang (Halo zone). Indeks pelarutan dihitung dengan menggunakan formula 1 (Premono, *et al*, 1996; Sugumaran, P. and Janarthanam, B., 2007).

3.1.3 Uji sinergis isolat secara in vitro

Isolat-isolat terpilih melalui tahap 3.1.2 selanjutnya saling diuji sifat antagonismenya dengan menggunakan media nutrisi agar. Zona penghambatan diukur setelah H+3 setelah inokulasi. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga H+7. Isolat yang tidak mampu berkembang dengan baik dengan zona penghambatan lebih dari 70%. Berdasarkan uji tahap ini akan dipilih maksimal 10 isolat.

3.1.4 Kuantifikasi produksi metabolit sekunder

Isolat terpilih diuji kemampuannya dalam menghasilkan metabolit sekunder berupa asam organik. Metode pengukuran dilakukan dengan HPLC. Pengukuran asam-asam organik dilaksanakan di laboratorium Pasca Panen Bogor.

3.1.5 Identifikasi isolat terpilih

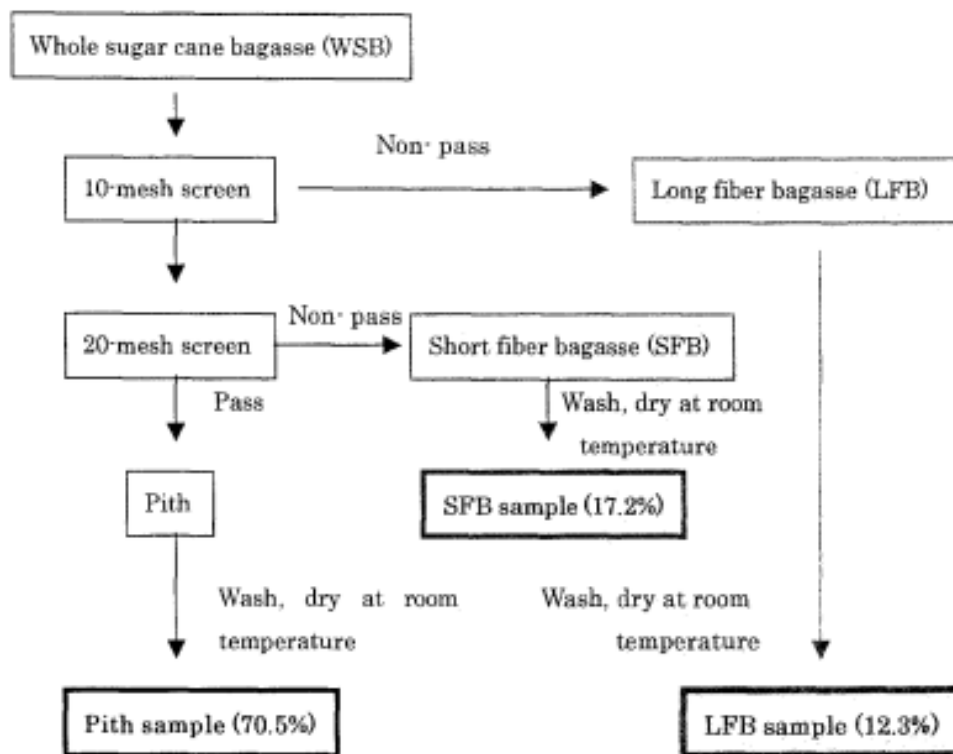
Isolat yang terpilih diidentifikasi menggunakan 2 metode, yaitu: (a) melalui reaksi biokimia untuk bakteri dan berdasarkan morfologi untuk fungi; (b) melalui analisis DNA. Hasil identifikasi masing-masing isolat akan dipelajari lebih lanjut berdasarkan sifatnya, yaitu: sifat patogenitas terhadap manusia dan lingkungan, serta sifat antagonisme dengan patogen tanaman. Identifikasi dilaksanakan di LIPI.

3.2 Uji akselerasi dekomposisi bagase tebu dengan isolat pendegradasi lignoselulosa

Langkah awal untuk mempelajari akselerasi dekomposisi bagase tebu, dilakukan tahapan fraksinasi dengan melakukan pengayakan sesuai gambar 3. Penggunaan bagase

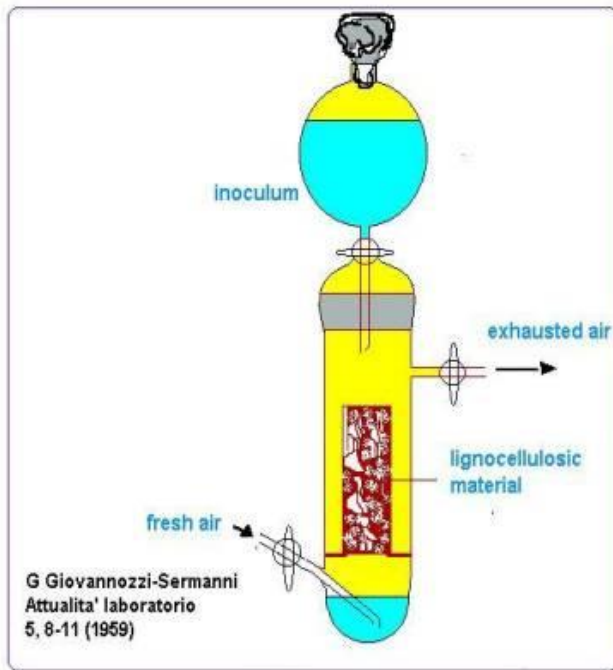
sebagai material yang diuji awal tidak dengan volume yang besar, namun dibedakan berdasarkan fraksinya yaitu: *Long fiber bagasse* (LFB), *short fiber bagasse* (SFB), dan *pith bagasse* (PB). Bagase yang diperoleh dari lapang/pabrik gula selanjutnya dibersihkan, dikeringanginkan untuk selanjutnya dilakukan fraksionasi. Tujuan dilakukan fraksionasi adalah untuk mengetahui kemampuan dekomposer dalam mengakselerasi dekomposisi bagase berdasarkan ukuran dan luas permukaan bagase.

Pelaksanaan:



Gambar 3. Skema fraksionasi bagase

Uji akselerasi dekomposisi bagase menggunakan isolat dekomposer lignoselulolitik yang berasal dari tandan kosong kelapa sawit yang telah diuji kemampuannya dalam mendegradasi tandan kelapa sawit koleksi Laboratorium Mikrobiologi MIPA Unej. Sebanyak 25 g bahan bagase dimasukkan pada rangkaian alat, diinokulasi dengan $\pm 10^6$ cfu/ml isolat dekomposer. Secara periodik setiap minggu diamati aktivitas mikrobarespirasi, perubahan kadar selulosa dan kadar ligninnya sesuai formula 2 dan 3.



Gambar 4. Uji akselerasi dekomposisi bagase skala laboratorium

Perubahan kandungan selulosa diestimasi dengan cara 1 g hasil dekomposisi ditambah 15 ml asam asetat 80% dan 1.5 ml HNO₃. Dipanaskan 20 menit dan disaring dengan kertas whatman #1 dan dicuci dengan air panas. Kemudian dioven pada suhu 105°C semalam, ditimbang dan dipanaskan pada muffle furnace suhu 550°C selama 3 jam. Perhitungan selulosa sesuai formula (Irfan *et all*, 2011) :

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{\text{Berat bahan digest} - \text{berat abu}}{\text{Berat kering bahan}} \times 100 \quad (2)$$

Kandungan lignin diestimasi dengan cara sejumlah bahan (± 2 g) dihidrolisis dengan menggunakan 1,25% H₂SO₄ selama 2 jam dan 1,25% H₂SO₄ selama 4 jam. Residue dicuci dengan air untuk menghilangkan asam sulfat dan kemudian di oven 105°C semalam.

Persentase lignin dihitung sesuai formula (Irfan *et all*, 2011):

$$\text{Lignin (\%)} = \frac{\text{Berat lignin}}{\text{Berat bahan}} \times 100 \quad (3)$$

BAB. IV. HASIL YANG DICAPAI

4.1 Isolasi Mikroba Pelarut Kalium

Berdasarkan uji kualitatif pada media modified Alexandrov diperoleh 41 isolat yang mempunyai kemampuan melarutkan kalium (Tabel 1). Isolasi dilakukan dengan mengamati zona bening (*Clear zone*) yang terbentuk disekitar koloni.

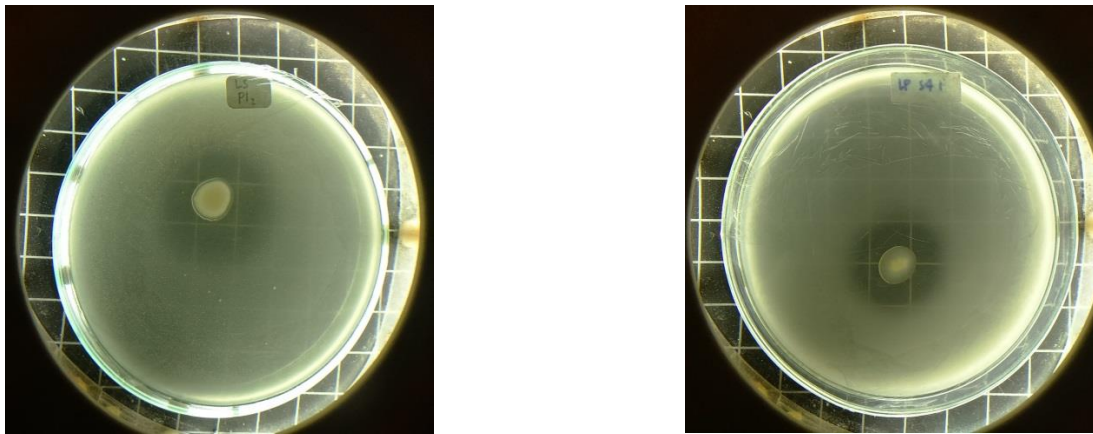
Tabel 1. Hasil Isolasi KSM (K-Solubilizer Microorganisms)

Lokasi Pengambilan Contoh Tanah	Titik Pengambilan	Jumlah Isolat Bakteri	Total Isolat Bakteri
Asembagus	A1	3	14
	A2	4	
	A3	2	
	A4	2	
	A5	3	
Pradjekan	P1	2	11
	P2	2	
	P3	2	
	P4	3	
	P5	2	
Semboro	S1	3	16
	S2	3	
	S3	4	
	S4	2	
	S5	4	

Kemampuan pelarutan isolat secara kualitatif didasarkan pada nilai indeks kelarutan atau *Solubilizing Index* (SI), dengan mengukur ratio antara diameter zona bening dengan diameter total (Tabel 2). Dari 41 isolat yang terdeteksi mempunyai kemampuan melarutkan, diuji lebih lanjut secara kualitatif sebanyak 15 isolat dari masing-masing rhizosfer tanaman tebu yang mewakili tiga lokasi (Asembagus, Prajekan dan Semboro). Nilai SI yang diperoleh bervariasi pada setiap isolat dan terhadap sumber kaliumnya. Nilai SI diukur mulai H+4, H+7, H+14 untuk mengukur kecepatan isolat dalam melarutkan sumber K.

Solubilization index (SI) dari 15 isolat jika dianalogkan dengan pengklasifikasian strain mikroba pelarut fosfat Berraquero *et al.*, (1976) dalam Marra *et al* (2011) berdasarkan kecepatan pelarutan yaitu “cepat” jika pelarutan terjadi sebelum hari ke tiga, “lambat” jika pelarutan > 3 hari serta “*non-solubilising*” jika setelah hari ke-lima tidak bisa melarutkan, maka semua isolat KSM termasuk cepat melarutkan kalium. Selain itu berdasarkan nilai SI dari semua sumber kalium (Tabel 3) diklasifikasikan kemampuan pelarutan K rendah

($SI < 2,00$) sebesar 53.33%, intermediate ($2,00 \leq SI \leq 4,00$) sebesar 33.33% dan hanya 13.33% isolat yang pelarutannya tinggi ($SI \geq 4,00$). Diameter zona bening berkisar 0.1cm sampai dengan 6.69 cm. Dalam penelitian ini menunjukkan semakin besar diameter koloni berkorelasi positif dengan besarnya zona bening dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0.93. Bervariasinya nilai SI dari isolat antara lain dipengaruhi oleh kecepatan pertumbuhan mikroba dan kemampuan metabolisme mikroba. Besarnya nilai SI tidak dapat digunakan untuk menghitung banyak sedikitnya K yang terlarut oleh aktivitas mikroorganisme.



Gambar 1: The growth of KSM in the media Aleksandrov with insoluble potassium Leucite Situbondo (a); Leucite Pati (b) characterized by the clear zone around the colony.

Pada sumber feldspar, 5 isolat (33.33%) mempunyai kemampuan melarutkan rendah dengan nilai $SI < 2$; pada sumber trachyte dan Leucite Situbondo sebanyak 8 isolats (53.33%); dan pada leucite Pati sebanyak 10 isolats (66.67%). Kemampuan isolat dengan pelarutan kalium tinggi ($SI > 4$) sangat sedikit yaitu 4 isolat (26.67%) untuk sumber feldspar, masing-masing 1 isolat (6.67%) untuk trachyte dan leucite Pati dan 2 isolat (13.33%) untuk leucite Situbondo. Nilai SI yang paling tinggi dalam Alexandrov's medium dengan sumber feldspar adalah isolat Asb4, sedangkan isolat Prj1 menunjukkan nilai IK yang tinggi untuk trachyte dan leucite (Pati dan Situbondo).

Tabel 2. Data Indeks Kelarutan Kalium H+7

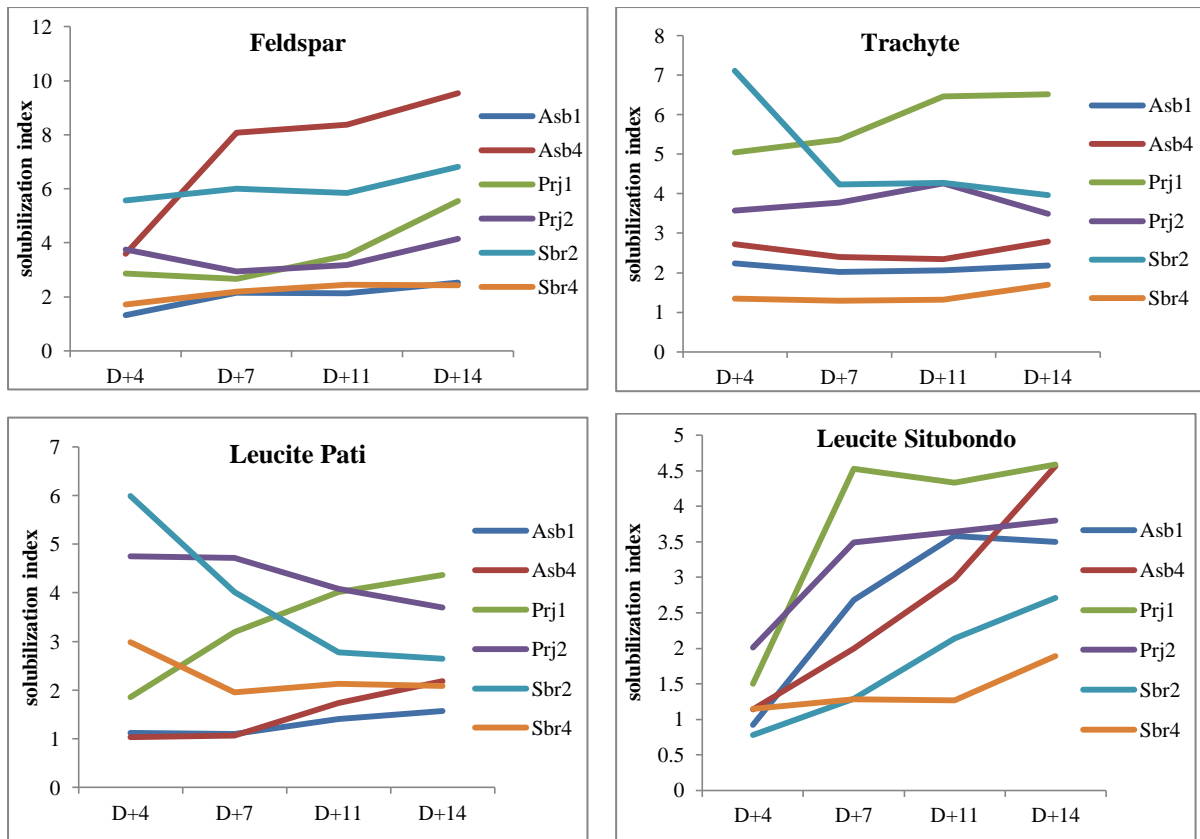
LOKASI	KH ₂ PO ₄		FELDSPAR		TRAKHIT		LEUSIT PATI		LEUSIT SITUBONDO	
	Clear zone	SI	Clear zone	SI	Clear zone	SI	Clear zone	SI	Clear zone	SI
ASEMBAGUS										
Asb1	5,62	6,56	2,18	2,15	2,10	2,02	1,26	1,10	2,34	2,68
Asb2	0,20	0,26	0,15	0,15	0,10	0,08	0,20	0,28	0,25	0,31
Asb3	0,41	0,78	1,85	1,99	1,58	1,55	0,84	1,02	0,52	0,48

Asb4	4,18	5,27	4,55	8,07	2,48	2,40	0,97	1,07	1,65	2,00
Asb5	0,29	0,35	2,20	2,00	1,52	1,30	0,93	0,84	0,71	0,69
PRAJEKAN										
Prj1	4,49	5,34	2,05	2,66	3,39	5,37	2,61	3,19	3,15	4,53
Prj2	4,15	3,68	1,75	2,95	2,53	3,77	3,73	4,72	2,58	3,49
Prj3	0,85	0,98	1,63	1,44	1,43	1,33	0,90	1,19	2,89	3,11
Prj4	3,38	3,53	2,27	1,43	1,54	2,44	1,78	3,06	1,87	2,91
Prj5	0,42	0,48	1,73	1,94	1,35	1,38	1,10	1,09	1,08	1,15
SEMBORO										
Sbr1	0,38	0,92	1,15	1,36	1,11	0,83	0,76	1,04	1,02	1,20
Sbr2	2,28	2,86	2,67	6,01	3,13	4,24	3,03	4,01	1,26	1,29
Sbr3	0,45	0,69	1,81	1,78	1,14	1,38	1,07	1,32	1,18	1,33
Sbr4	0,71	0,82	2,06	2,20	1,39	1,29	1,68	1,96	1,03	1,28
Sbr5	0,72	0,52	1,42	1,81	1,23	0,91	0,74	0,81	0,96	0,93

Tabel 3. Data Indeks Kelarutan Kalium H+14

LOKASI	KH ₂ PO ₄		FELDSPAR		TRAKHIT		LEUSIT PATI		LEUSIT SITUBONDO	
	Clear zone	IK	Clear zone	IK	Clear zone	IK	Clear zone	IK	Clear zone	IK
ASEMBAGUS										
KAsb1	5,91	6,55	2,84	2,52	2,78	2,18	2,07	1,57	3,97	3,50
KAsb2	0,25	0,31	0,20	0,18	0,10	0,07	0,10	0,11	0,20	0,16
KAsb3	0,42	0,65	2,27	2,18	2,17	1,74	1,35	1,21	1,40	1,09
KAsb4	6,28	7,68	6,59	9,54	3,77	2,79	2,63	2,18	5,21	4,57
KAsb5	0,41	0,42	2,30	1,82	2,11	1,50	1,18	0,87	0,83	0,58
PRAJEKAN										
KPrj1	5,90	5,98	5,15	5,55	5,27	6,52	5,19	4,37	4,17	4,59
KPrj2	5,62	4,33	2,84	4,15	3,62	3,49	4,25	3,70	3,67	3,80
KPrj3	1,00	1,06	2,57	2,07	2,58	2,10	1,26	1,18	3,51	2,36
KPrj4	3,59	3,41	5,09	2,50	2,10	2,65	2,05	1,80	2,67	2,96
KPrj5	0,49	0,51	2,28	1,69	1,85	1,50	1,12	0,94	1,77	1,44
SEMBORO										
KSbr1	0,42	0,71	1,70	1,64	2,05	1,30	1,14	0,79	1,63	1,33
KSbr2	3,31	3,72	3,94	6,81	4,88	3,96	3,30	2,64	3,60	2,71
KSbr3	0,64	0,84	2,22	2,01	1,83	1,48	1,13	1,12	1,93	1,57
KSbr4	2,32	2,20	2,71	2,43	2,53	1,70	2,28	2,09	1,95	1,89
KSbr5	0,93	0,63	1,40	1,09	1,31	0,69	0,93	0,77	1,08	0,71

Berdasarkan nilai SI yang diperoleh, 6 isolat yaitu Asb1, Asb4, Prj1, Prj2, Sbr



Gambar 2: Potassium solubilization index of six isolats at Days+4 to Days+14 on insoluble potassium sources (a) feldspar; (b) Trachyte; (c) Leucite Pati and (d) Leucite Situbondo

Kemampuan melarutkan pada medium *modified Alexandrov* oleh isolate KSM pada umumnya baik, 100% isolate dapat melarutkan kalium pada pengamatan pertama yaitu < hari ke-4 setelah inokulasi. (Gambar 2). Secara umum semakin lama waktu pengamatan model kemampuan pelarutan berdasarkan nilai SI bervariasi dari keenam isolat yang terpilih. nilai SI untuk isolat Asb4 dan Prj1 pada semua sumber potassium selalu meningkat, sedangkan nilai SI dari isolat Prj2 dan Stb2 meningkat pada sumber Feldspar dan Leucite Situbondo dan menurun pada sumber trachyte dan Leucite Pati. Isolat Sbr4 tidak melarutkan secara drastis setelah hari ke-7 kecuali pada sumber Leucite Situbondo (Gambar 2). Pengukuran kelarutan K secara kuantitatif dilakukan dengan AAS (Gambar 3). Dalam penelitian ini tidak terdapat korelasi antara nilai SI dengan konsentrasi K larut air pada semua sumber K. Meskipun beberapa strain isolat mempunyai SI yang rendah (<2) namun kemampuan pelarutannya cukup baik, dan sebaliknya yang mempunyai nilai SI yang tinggi tidak selalu melarutkan K secara kuantitatif dengan tinggi juga.

4.2. Isolasi Mikroba pelarut fosfat

Isolasi mikroba pelarut fosfat (PSM) dilakukan dengan menggunakan media Pikovskaya. Sebanyak 11 isolat yang diperoleh selanjutnya diuji kemampuannya secara kualitatif pada media padat Pikovskaya dengan sumber P yaitu K_2HPO_4 dan sumber batuan fosfat (*Rock phosphate*).

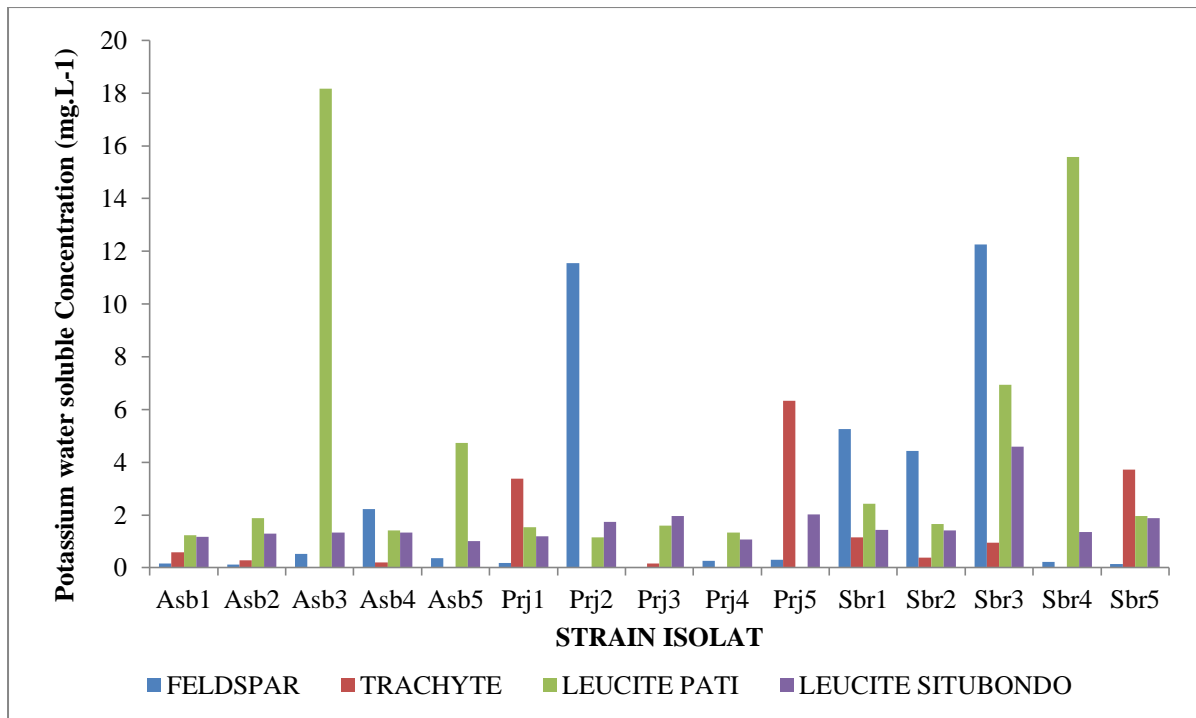
Tabel 4. Indeks Kelarutan Fosfat pada Media Pikovskaya hari ke-3 dan ke-4

KODE ISOLAT	Sumber K_2HPO_4				Sumber Rock Phosphate			
	Hari ke-3		Hari ke-4		Hari ke-3		Hari ke-4	
	Clear Zone (cm)	SI	Clear Zone	SI	Clear Zone	SI	Clear Zone	SI
PRAJEKAN								
P1	1.40	1.56	1.50	1.50	1.10	1.38	1.3	1.6
P3	1.30	0.93	1.10	0.65	1.50	1.50	1.4	1.2
P4	2.00	1.67	2.10	1.62	1.20	1.00	1.7	1.4
P5	1.90	1.12	0.90	0.31	1.10	0.52	1.0	0.4
P6	1.30	1.86	1.30	1.63	1.40	2.80	1.4	2.3
P8	1.10	0.79	1.20	0.80	1.30	1.00	1.1	0.7
P9	0.40	0.24	0.50	0.26	0.30	0.17	0.5	0.3
P11	0.30	0.33	0.30	0.30	0.20	0.20	0.3	0.3
ASEMBAGUS								
A4	0.20	0.29	0.20	0.25	0.50	0.63	0.4	0.4
A7	0.90	0.41	1.20	0.50	1.10	0.58	1.2	0.6
SEMBORO								
S1	0.20	0.25	0.30	0.33	0.4	0.5	0.50	0.71

Berdasarkan zona bening yang terbentuk dan nilai SI, semua isolat yang diperoleh mempunyai kecepatan pelarutan yang baik, walaupun zona bening yang terbentuk masih kecil (Tabel 4). Diameter zona bening hingga hari ke-4 berkisar 0,2 hingga 2,1 cm pada sumber K_2HPO_4 dan 0,4 hingga 1,7 dengan sumber batuan fosfat. Berdasarkan nilai SI, hanya 1 isolat yaitu P6 yang mempunyai nilai $SI > 2$, sedangkan isolat yang lain nilai $SI < 2$, nilai SI menunjukkan kemampuan pelarutan P.

4.3 Uji pelarutan Kalium secara kuantitatif

Kemampuan mikroba dalam merelease K tergantung kepada komposisi mineral. Pelarutan K oleh 15 strain isolates terhadap 4 sumber K sangat bervariasi. Namun dalam penelitian ini, efektivitas pelarutan isolates masih rendah (Gambar 3).



Gambar 3. Konsentrasi K larut air pada beberapa sumber K

Semua isolate mempunyai kemampuan melarutkan K terhadap sumber Feldspar, dengan konsentrasi K terlarut 0.17 hingga 12.25 mg.L⁻¹, namun hanya 5 isolates yang melarutkan K dengan konsentrasi > 1 mg.L⁻¹. Strain Sbr3 and Prj2 melarutkan K dari sumber feldspar paling tinggi. Dalam penelitian ini efektivitas pelarutan yang dilakukan oleh KSM maksimum 3.89%. Sedangkan dengan sumber trachyte efektivitas pelarutan K maksimum 4.23% oleh isolate Prj5 yaitu sebesar 6.34 mg.L⁻¹, dan hanya 5 isolates yang mampu melarutkan K dengan konsentrasi > 1 mg.L⁻¹. Hasil penelitian Chengsheng Zhang dan Fanyu Konga (2014), juga menunjukkan kemampuan pelarutan K oleh KSB dengan konsentrasi 0.59 mg L⁻¹ to 4.4 mg L⁻¹ dengan sumber feldspar. Demikian juga hasil penelitian Sugumaran and b. Janartham (2007), isolat *Bacillus mucilaginosus* MCRCp1 melarutkan K dari sumber mineral muscovit mica, microline and orthoclas sebesar 0.85 hingga 4.29 mg.L⁻¹. Jumlah K⁺ yang direlease dari mika muscovit dalam media broth oleh isolat telah diteliti pada 7, 15 dan 20 hari setelah inkubasi (Kunoto Y. Chishi, 2010). Hasil tersebut mengindikasikan jumlah K⁺ yang dilepas dari mineral K oleh semua isolat meningkat dengan meningkatnya waktu inkubasi, dan maksimum pada 20 DAI dengan kisaran konsentrasi 2.41µg/ml hingga 44.64µg/ml. K feldspar dari Mesir juga dapat dilarutkan dengan KSB hingga 490 mg.L⁻¹ (M.A. Badr, A.M. Shafei and S.H. Sharaf El-Deen, 2006).

Semua isolate yang diuji melarutkan K dari sumber leucite (Pati dan Situbondo) dengan konsentrasi $> 1 \text{ mg.L}^{-1}$, namun efektivitas pelarutannya sangat rendah. Hanya 4 isolates dengan efektivitas pelarutan $>1\%$ (leucite Pati) dan hanya 1 isolate untuk leucite Situbondo. Isolate Asb3 dan Sbr3 yang paling banyak melarutkan K masing-masing 18.17 mg.L^{-1} atau 5.28% (Leucite Pati) dan 4.59 mg.L^{-1} atau 1.92% (Leucite Situbondo). Adanya perubahan mineralogi mengakibatkan perubahan morfologi sumber mineral dan, khususnya, peningkatan spesifik area permukaan (Yi Wai Chiang dan Rafael M. Santos, 2013). Efisiensi pelarutan kalium oleh bakteri yang berbeda ditemukan bervariasi bergantung pada struktur dan komposisi kimia mineral yang mengandung kalium.

4.4 Produksi Asam Organik

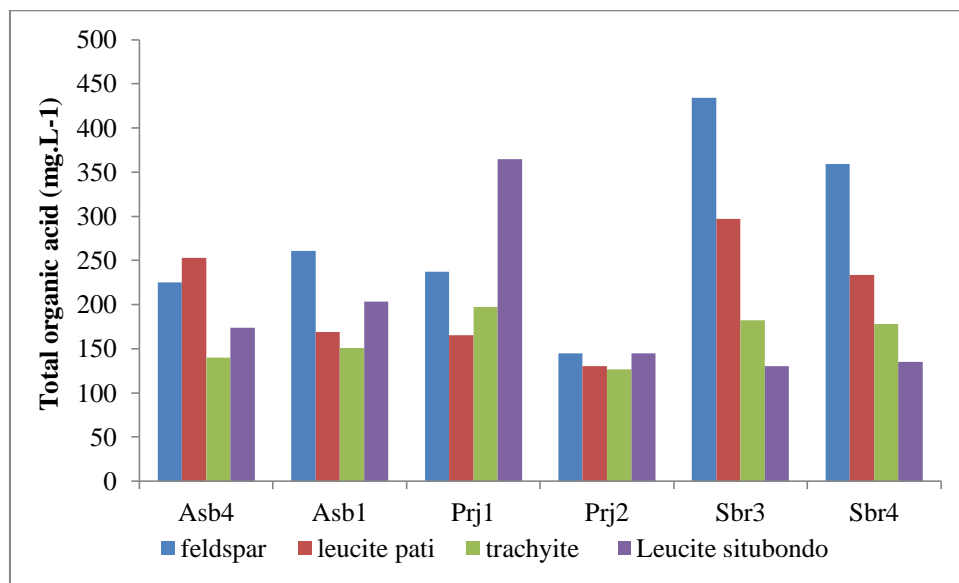
Keenam isolat bakteri melarutkan kalium dari sumber sukar larut yaitu feldspar, leucite, and Trachyte melalui produksi asam-asam organik. Asam organik yang diproduksi antara lain citric, ferulic, coumaric, syringic, and malic acid. Tidak semua isolate terdeteksi memproduksi 5 jenis asam organik tersebut, hanya citric, ferulic dan coumaric yang diproduksi oleh semua isolat yang diuji, sedangkan malic acid hanya dihasilkan oleh isolat Sbr4.

Total organic acid yang dihasilkan oleh semua isolates paling besar pada media Alexandrov cair dengan sumber K feldspar kecuali isolat Asb4. Total organic acid yang dihasilkan oleh tiga isolates yaitu Asb4, Prj2 dan Sbr3 mempunyai korelasi positif dengan pelarutan kalium yang berasal dari insoluble potassium, sebaliknya ketiga isolates yang lain berkorelasi negatif.

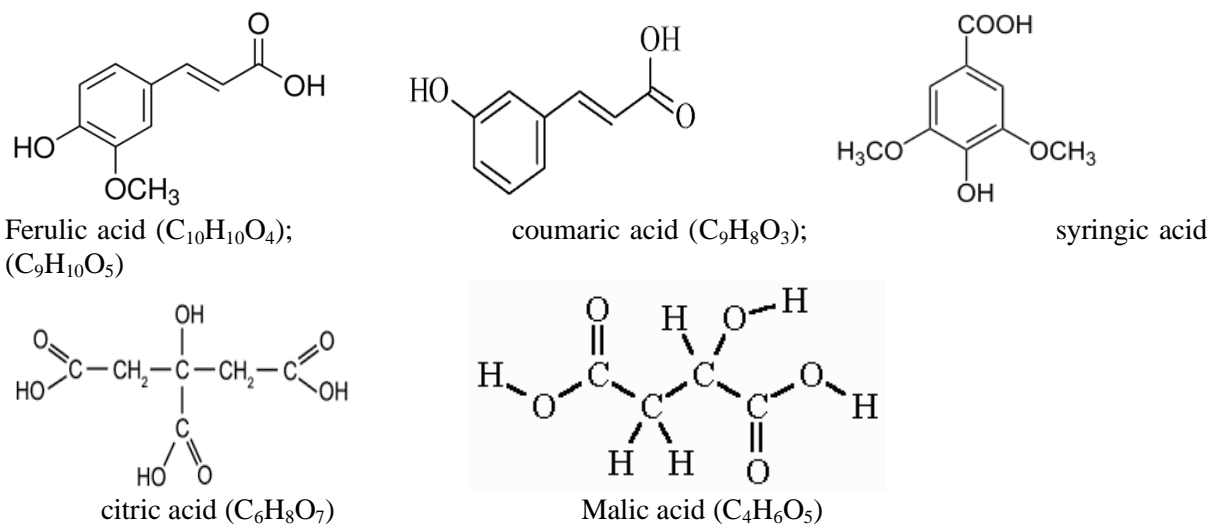
Korelasi positif konsentrasi total asam dengan konsentrasi K larut air dari semua isolat hanya pada sumber K trachyte ($r=0.85$), semakin besar total asam organik yang dihasilkan semakin besar K asal trachyte yang dapat dilarutkan, sedangkan dengan sumber feldspar dan leucite berkorelasi negatif. Komposisi mineral dan kimia dari sumber mineral dapat menentukan kemudahan pelarutan kalium dan mobilisasi silikon oleh mikroba.

Asam organik yang dihasilkan dari aktivitas metabolisme isolates lebih banyak merupakan asam organik polyphenol (ferulic, syringic and coumaric acid) yang mengandung gugus hydroxil (OH) dibandingkan dengan asam organik carboxylic (COOH) (Fig...), Kehadiran asam organik secara umum akan menurunkan pH media (Badr, AM Shafei and SH Sharaf El-Deen, 2006; Xia Fang Sheng and Lin Yan He, 2006), namun penurunan pH dengan meningkatnya total asam bukan merupakan satu-satunya alasan untuk merelease kalium.

Pelarutan Kalium dari sumber mineral dicapai melalui produksi metabolit yang mengandung asam-asam organik sebagai bahan aktif.



Gambar 4. Konsentrasi total asam organik yang diproduksi oleh enam isolate pada media liquid modified Alexandrov dengan beberapa sumber insoluble potassium

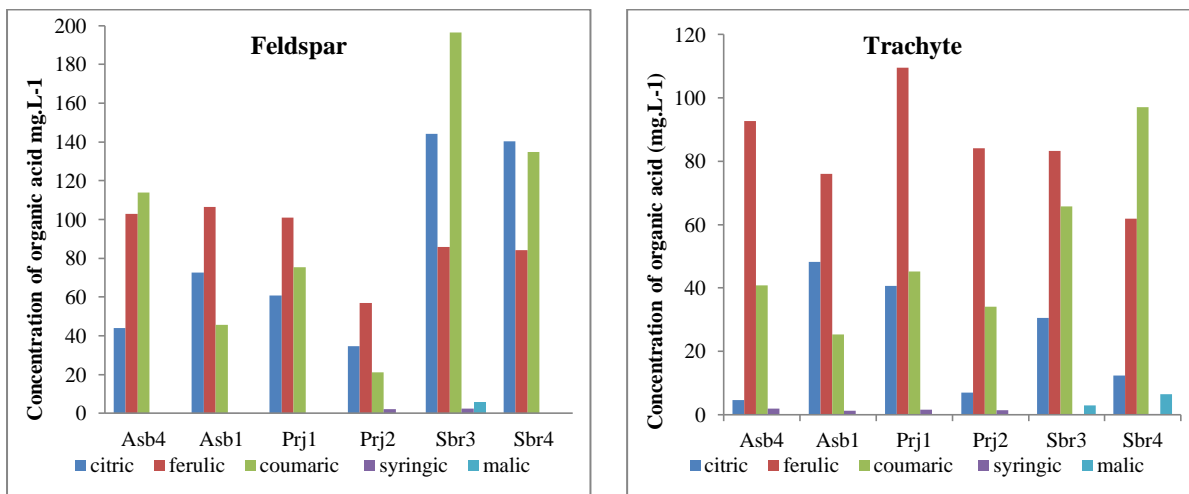


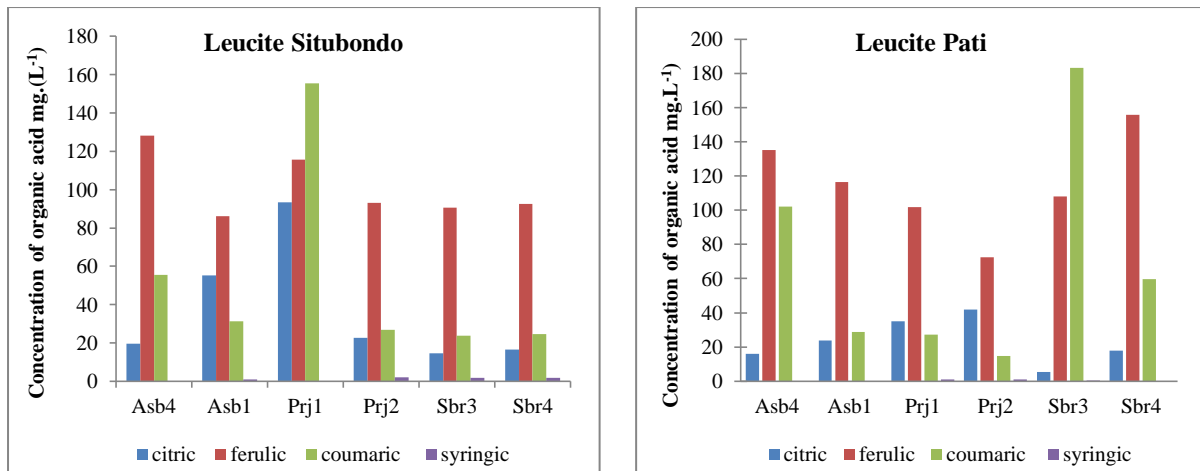
Gambar. 5. Struktur Molecular dari asam organik aromatic (ferulic coumaric dan syringic acid) dan asam aliphatic (citric, pyruvic and malic acid) yang ditemukan dalam penelitian

Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan adanya asam organik meningkatkan kelarutan K dari mineral. Hasil Bevan and D. Savage (1989) penambahan asam oksalat meningkatkan kelarutan K-feldspar pada kondisi pH 4 dan 9, hasil riset tersebut mengindikasikan bahwa mekanisme pelarutan feldspar yang meningkat bukanlah karena preferensial kompleksasi aluminium, tetapi dengan meningkatkan kelarutan keseluruhan

feldspar pada area pH netral. Kehadiran asam2 organik dapat menjadi buffer pH untuk tetap pada pH netral.

Semua isolates memproduksi citric, ferulic and coumaric acid pada modified Alexandrov liquid medium pada semua sumber K (Fig 6), type asam organic yang diproduksi oleh isolat dalam riset ini berbeda dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya (Xia Fang Sheng and Lin Yan He, 2006) yang menemukan Oxalic and tartaric acids diproduksi oleh KSB *Bacillus edaphicus*, dan Prajapati1 dan HA Modi (2012) menemukan Citric, Oxalic, Malic, succinic dan Tartaric acid dari aktivitas beberapa strain KSB. Perbedaan asam organic yang dihasilkan tergantung kepada karakteristik microorganisms, selain itu jenis produksi asam terutama tergantung pada sumber karbon. Jumlah besar asam oksalat, sitrat, dan asam gluconic yang diproduksi oleh *Penicilium frequentans* merupakan agen yang kuat untuk melarutkan K dari feldspar, biotite dan phyllosilicates, (Torre et al., 1993). Secara umum, produksi asam ferulic oleh semua isolates pada semua sumber K lebih besar dibanding produksi asam organic yang lain. Adanya asam ferulic merupakan salah satu faktor terjadinya pelarutan K. Hasil penelitian Blum et al, (1987). menunjukkan penambahan ferulic acid pada tanah secara substansi meningkatkan aktivitas microba tanah.





Gambar 6. Produksi asam organik pada beberapa sumber K

Beberapa asam organik yang diproduksi di periplasma dapat secara mudah terdifusi ke lingkungan yang berdekatan dan kemudian melarutkan bentuk mineral sulit larut seperti muscovit Mika, microline dan orthoclass (Sugumaran and Janartham, 2007), feldspar dan illite (Xia Fang Sheng and Lin Yan He, 2006), feldspar, biotite, dan phyllosilicates (Torre et al., 1993), ability of the isolates to reduce the pH of the growth medium was taken as an indication of medium acidification. While those that dissolve water insoluble K were assumed to have the capability of producing organic acids in high quantity. The result of Jie Chen, Blume and Beyer, (2000) explain that generally the great effect of oxalic acid on dissolution of rocks and minerals is attributed to the presence of hydrogen ions and the formation of cation-complexes. The structural cations, released from minerals as a result of the attack of hydrogen ions, tend to form cation–organic complexes with oxalic acid, which has OH⁻ and COOH⁻¹ groups in the ortho position. The chemisorption of the cation–organic complexes on the mineral surfaces causes a shift of electron density toward the framework of the mineral. This charge transfer increases the electron density of the cation–oxygen bonds and makes them more susceptible to hydrolysis.

Review oleh Sand (1997) disarankan bahwa pada proses pelapukan yang disebabkan oleh komunitas mikroba, meskipun banyak mikroorganisme yang dikenal untuk berpartisipasi dalam proses pelapukan, aktivitasnya dapat disimpulkan menjadi sembilan kategori utama: 1) kehadiran sel mikroba secara fisik (koneksi kontak listrik); (2) melapukkan dengan adanya asam mineral seperti sulfat, nitrat, asam karbonat (hidrolisis bahan); (3) melapukkan dengan asam-asam organik seperti gluconic asetat, sitrat, asam oksalat, dan asam lain (hidrolisis bahan); (4) pelapukan karena pelarut organik seperti asetat butirat asam atau alkohol seperti etanol atau propanol atau ketons (merekah dan hidrolisis bahan); (5) stres garam karena

produk reaksi asam mineral dan asam-asam organik (penahan air dalam bahan-bahan berpori menyebabkan meningkatnya kerentanan terhadap serangan cairan-beku dan terjadi kristalisasi); (6) produksi senyawa yang berbahaya seperti hidrogen sulfida, nitrogen oksida (produksi asam mineral) atau pengendapan logam sulfida dan oksidan/reductants; (7) efek biofouling dan biofilm (exopolymers menyebabkan sel-sel korosi; menahan air dalam bahan-bahan berpori; hidrofobik efek pada permukaan; penurunan efisiensi transfer panas; penurunan kecepatan aliran atau peningkatan tekanan); (8) perombakan dengan exoenzymes (perusakan bahan organik tak larut menjadi lebih kecil, molekul larut air); dan (9) produksi chelating agen emulsifying senyawa (meningkatkan kelarutan zat 'larut' dan/atau hidrofobik).

Hasil tersebut juga menunjukkan variasi yang besar antara isolat untuk melarutkan sumber kalium larut yang sama atau berbeda. Kemampuan KSM untuk melarutkan K tergantung pada sifat dari senyawa mineral, jenis dan konsentrasi produksi asam organik dan karakteristik mikroba. Variabilitas di antara mikroba menunjukkan pentingnya eksplorasi untuk bakteri pelarut kalium yang berbeda dan mekanisme pelarutannya.

BAB V. KESIMPULAN

Hasil isolasi telah diperoleh 15 isolat mikroba pelarut Kalium yang mempunyai kemampuan melarutkan cukup baik dengan Indeks kelarutan dan zona bening cukup besar berasal dari 3 lokasi rhizosfer tebu, serta 3 isolat Mikroba pelarut Fosfat. Semua isolate mempunyai kemampuan melarutkan K terhadap sumber Feldspar, dengan konsentrasi K terlarut 0.17 hingga 12.25 mg.L⁻¹, namun hanya 5 isolates yang melarutkan K dengan konsentrasi > 1 mg.L⁻¹. Strain Sbr3 and Prj2 melarutkan K dari sumber feldspar paling tinggi. Dalam penelitian ini efektivitas pelarutan yang dilakukan oleh KSM maksimum 3.89%. Sedangkan dengan sumber trachyte efektivitas pelarutan K maksimum 4.23% oleh isolate Prj5 yaitu sebesar 6.34 mg.L⁻¹, dan hanya 5 isolates yang mampu melarutkan K dengan konsentrasi > 1 mg.L⁻¹.

Semua isolat menghasilkan asam organic acid sitrat, ferulic dan coumaric, beberapa isolate juga menghasilkan asam malat dan asam syringic. Total asam organic yang diproduksi berkisar 130.42 hingga 434.44 mg.L⁻¹. Berdasarkan hasil uji sinergisme pada media solid, kedua mikroba tidak saling antagonis dan memberikan sinergitas yang cukup baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Basak B. B. and D. R. Biswas. 2009. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols. *Plant Soil* (2009) 317:235–255
- Badr, M.A. 2006. Efficiency of K-feldspar Combined with Organic Materials and Silicate Dissolving Bacteria on Tomato Yield. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(12): 1191-1198.
- Badr, M.A., A.M. Shafei and S.H. Sharaf El-Deen. 2006. The Dissolution of K and P-bearing Minerals by Silicate Dissolving Bacteria and Their Effect on Sorghum Growth. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2(1): 5-11.
- Bevan J. and D. Savage. 1989. The effect of organic acids on the dissolution of K-feldspar under conditions relevant to burial diagenesis. *Mineralogical Magazine*, September 1989, Vol. 53, pp. 415-425
- Blum, U., Sterling B. Weed and Barry N Dalton. 1987. Influence of various soil factors on the effects on ferulic acid on leaf expansion of cucumber seedlings. *Plant and Soil* 98, 111-130.
- Datta, M., S. Banik and R. K. Gupta. 1982. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. *Plant and Soil* 69 : 365-373
- Earl K. D., J. K. Syers And J. R. McLaughlin 1979. Origin of the Effects of Citrate, Tartrate, and Acetate on Phosphate Sorption by Soils and Synthetic Gels. *Soil Sci Soc Am J* 43:674-678.
- Guntoro, D., Purwono dan Sarwono. 2003. Pengaruh pemberian kompos bagase terhadap serapan hara dan pertumbuhan tanaman tebu (*Sacharum officinarum*). *Bul. Agron.* (31) (3) 112-119
- Hartatik W., Markus Anda, Hadi Purnomo, Mohammad Masjkur dan Tri Candra Setiawati. 2014. Potensi dan Pemanfaatan Bahan Mineral Sebagai Bahan Alternatif Pupuk K. Laporan Penelitian. Balai Penelitian Tanah
- Hu Hongqing, Li Xueyuan, and He Jizheng. 2002. Effects of organic acids on desorption of phosphate from the surfaces of aluminum hydroxide and complexes. *World Congress Soil Science*, 17th. Thailand. Symposium 47, paper 170.
- Illmer, P., A. Barbato and F.Schinner. 1995. Solubilization of hardly-soluble $AlPO_4$ with P-solubilizing microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* Vol 27 (3):265-270.
- Isabirye, M., Raju, D.V.N., Kitutu, M., Yemeline, V., Deckers J. and Poesen, J. 2015. Sugarcane Biomass Production and Renewable Energy. *Biomass Now – Cultivation and Utilization*. 355-368
- Irfan, M., M. Gulsher., S.Abbas., Q. Syed, M. Nadeem and S. Baig. 2011. Effect of various pretreatment conditions on enzymatic saccharification. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33 (4), 397-404,
- Jie Chen, Blume H, Lothar, B. 2000. Weathering of rocks induced by lichen colonization: a review. *Catena* 39:121–146.
- Kunoto Y. Chishi. 2010. Studies on Dual Inoculation of Potassium Solubilizing Bacteria and Phosphorus Solubilizing Bacteria on Growth and Yield of Maize (*Zea mays* L.). Thesis University of Agricultural Sciences, DharwadKumar, V dan N. Narula. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biol. Of Fertil. Soils* (1999) 28:301-305.
- McAfee J. 2008. Potassium, A Key Nutrient for Plant Growth. Department of Soil and Crop Sciences

- Marcos, M.L., E.A. Rodriques and C. Monterroso. 1995. Phosphorus sorption of coal-mine soils in Galicia, NW Spain. In: Date, R.A., N.J. Grundon, G.E. Rayment and M.E. Probert (Eds.). 1995. Plant-Soil Interactions at Low pH: Principles and Management. Kluwer Academic Publishers. London.
- Marra, L.M, S. M. de Oliveira, C. R. F.S. Soares, and F. M. S. Moreira. 2011. Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.68, n.5., p.603-609
- Monroy, O, F Torres, G Viniegra. 1980. Perspectives on The Integration of Livestock Production and The Small Scale Sugar Industry. *Trop Anim Prod* 1980: 5:21
- Prajapati K.B. And H.A. Modi. 2012. Isolation and Characterization of Potassium Solubilizing Bacteria From Ceramic Industry Soil. *Cibtech Journal of Microbiology. Vol. 1 (2-3) Jul.-Sept. & Oct.-Dec., Pp.8-14*
- Premono, M.E. 1994. Jasad Renik Pelarut Fosfat : Pengaruhnya terhadap P-tanah dan Efisiensi Pemupukan P Tanaman Tebu. Disertasi Doktor. Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Razikordmahalleh, I. 2006. Enriching sugarcane bagasse compost by sulfur, nitrogen fixing (*Azotobacter chroococcum*) and phosphate solubilizing bacteria (*Enterobacter cloacae*). 18th Word congresso of soil science. Pennsylvania. USA
- Sand, W. 1997. Microbial Mechanisms of Deterioration of Inorganic Substrates—A General Mechanistic Overview. The III International Symposium on Biodeterioration and Biodegradation. Volume 40, Issues 2–4, Pages 183–190.
- Setiawati, T.C., 1998. Efektivitas Mikroba Pelarut P dalam meningkatkan Ketersediaan P dan Pertumbuhan Tembakau Besuki Na-Ogst (*Nicotiana tabacum*. L). Tesis. Institut Pertanian Bogor
- Setiawati, T.C., 2000. Viabilitas Mikroba Pelarut Fosfat dalam Media Pembawa Cair dan Serta Efektifitasnya dalam Meningkatkan ketersediaan P. Laporan Penelitian Matching-Grand Asian Development Bank (ADB). Fakultas Pertanian Universitas Jember
- Setiawati, T.C., 2000. Identifikasi Dan Uji Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Asal Jawa Timur. Prosiding Seminar HITI Jawa Timur
- Setiawati, T.C., 2001. Uji Viabilitas dan Kepekaan Mikroba Pelarut P terhadap Beberapa Media Pembawa dan Antibiotika. Laporan Penelitian DUE Project. Fakultas Pertanian Universitas Jember
- Setiawati, T.C., 2002. Uji Antagonistik antara Bakteri Pelarut Fosfat dengan *Pseudomonas Solanacearum* secara in Vitro dan pengaruhnya pada tanaman Tembakau. Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Pertanian Universitas Jember
- Setiawati, T.C., dan. S. Winarso. 2003. Viabilitas Bakter Pelarut Fosfat Pada Kombinasi Media Senyawa Humik Dan Zeolit Serta Uji Kemampuan Pelarutan P-Tanah. Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Pertanian Universitas Jember
- Setiawati, T.C., dan. A.M.Paniman. 2004. Identifikasi dan Kuantifikasi Metabolit dalam Culture Media dari Bakteri Pelarut Fosfat dan Pengaruhnya Pada Penghambatan Aktivitas *Rhizoctonia Solani* Pada Tanaman Kedelai. Laporan Penelitian Dasar. Fakultas Pertanian Universitas Jember
- Setiawati, T.C., dan. A. Mudjiharjati. 2005. Pola Perubahan Fraksionasi Fosfat Tanah Masam yang Diinokulasi Ganda Bakteri Pelarut Fosfat Golongan *Pseudomonads* dan *Endomikoriza Gigaspora Margarita* serta Pengaruhnya Terhadap Pengambilan Fosfat Oleh Tanaman Jagung (*Zea Mays*). Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Pertanian Universitas Jember

- Sobieszczanski, J., R. Stempniewicz and T. Krzysko. 1989. *Pseudomonas sp* as producer of plant growth regulators. In : Vancura, V and F. Kunc (Ed's) *Interrelationship Between Microorganisms and Plant in Soil*. Elsevier Amsterdam. 201-206
- Sugumaran, P. and B. Janarthanam,., 2007, Solubilization of potassium obtaining minerals by bacteria and their effect on plant growth. *World J. Agric. Sci.*, 3(3) : 350- 355.
- Tisdale, S.A., W.L. Nelson, J.M. Beaton and J.L. Havlin. 1993. *Soil Fertility and Fertilizers*. Macmillan Publishing co. New York.
- Torre, M. A. D. L, Gonzalo Gomez-Alarcon, Carmen Vizcaino and M. Teresa Garcia. 1993. Biochemical mechanisms of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments . *Biogeochemistry* 19:129-147.
- Violante, A., and L. Gianfreda. 2000. Role of biomolecules in the formation of variable charge minerals and organo-mineral complexes and their reactivity with plant nutrients and organic in soil. In J.B. Bollag and G. Stotzky (Eds). *Soil Biochemistry Vol 10:207-270*. Marcell Dekker New York
- Wahyudi A, and Tatang Wahyudi. 2013. Literature Study of benefiting k-bearing silicate rocks as raw materials for potassium fertilizer. *Indonesian Mining Journal Vol. 16, No. 2, June 2013 : 101 - 110*
- Xia Fang Sheng and Lin Yan He. 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. *Can. J. Microbiol.* 52: 66–72
- Yi Wai Chiang, Rafael M. Santos, Annick Monballiu, Karel Ghyselbrecht, Johan A. Martens, Maria Laura T. Mattos, Tom Van Gerven and Boudewijn Meesschaert. 2013. Effects of bioleaching on the chemical, mineralogical and morphological properties of natural and waste-derived alkaline materials. *Minerals Engineering* 48 116–125
- Zayed, G and H, Andel-Motaal . 2005. Bio-production of compost with low pH and high soluble phosphorus from sugarcane bagasse enriched with rock phosphate. *Word journal of Microbiology and Biotechnology.* 21.
- Zhang Chengsheng and Fanyu Konga. 2014. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. *Applied Soil Ecology.* 82 18–25.