



**UJI SELEKTIVITAS MIKROBA PELARUT FOSFAT PADA
MEDIA CAIR (MOLASSE) DENGAN BEBERAPA
KONSENTRASI**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana (S1)

Jurusan Tanah
pada Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

FIKRY ALI

NIM. 961510103085

**JURUSAN TANAH
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER
Pebruari, 2001**

Asal : Hadiah
Pembelian
Terima : Tgl. 01 MAR 2001
No. Induk : 102235336
Klass
631.8
A1
11

PEMBIMBING :

Ir. Tri Candra Setiawati, M.Si (DPU)

Ir. Wustamidin, M.Agr.Sc (DPA I)

Ir. Sugeng Winarso, M.Si (DPA II)



Diterima oleh :

Fakultas Pertanian Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (SKRIPSI)

Dipertahankan pada :

Hari : Sabtu

Tanggal : 27 Januari 2001

Jam : 08.00 WIB

Tempat : Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji
Ketua

Ir. Tri Candra Setiawati, M.Si.

NIP. 132 046 359

Anggota I

Ir. Wustamidin, M.Agr.Sc.

NIP. 130 145 578

Anggota II

Ir. Sugeng Winarso, M.Si.

NIP. 131 860 601

Mengesahkan
Dekan

Ir. Hj. Arie Mudjiharjati, MS.

NIP. 130 609 808

KATA KEHIDUPAN :

- ✧ Janganlah kamu bersikap lemah, dan janganlah (pula) kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi (derajatnya) jika kamu orang-orang yang beriman (Ali Imron : 139)

- ✧ Allah menganugerahkan al-hikmah (kepahaman yang dalam tentang al-Qur'an dan As-sunnah) kepada siapa yang Dia kehendaki. Dan barang siapa yang dianugerahkan al-hikmah itu, ia benar-benar telah dianugerahi karunia yang banyak. Dan hanya orang-orang yang berakallah yang dapat mengambil pelajaran (dari firman Allah) (al-Baqarah : 269)

Kupersembahkan karya ilmiah tertulis ini kepada :

- * Ayahanda H. Rosdjidi Ambary dan Bunda Durrotul Bahiyyah yang telah menanamkan kasih sayang dan iringan doa di setiap langkah kehidupanku.
- * Kakak-kakakku mas Anwar, mba Yetty dan keluarga, mba Evi dan keluarga dan adikku Toni yang selalu bersatu dalam kebersamaan.
- * Almamater tercinta.

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama ALLAH Yang Maha Pengasih dan Penyayang, atas rahmat dan karunia-NYA, karya ilmiah tertulis ini dapat terselesaikan. Salawat serta salam kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW yang telah menuntun ke jalan kebenaran. Karya ilmiah tertulis ini berjudul "Uji Selektivitas Mikroba Pelarut Fosfat Pada Media Cair (molasse) dengan Beberapa Konsentrasi" di susun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu pada Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Pada kesempatan ini tidaklah berlebihan kiranya penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah banyak membantu atas terselesaikannya karya ilmiah tertulis ini. Rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Kabul Santoso, MS. Rektor Universitas Jember.
2. Ir. Hj. Arie Mudjiharjati, MS. Selaku Dekan fakultas Pertanian Universitas Jember
3. Ir. Gatot Sukarno, MP. Ketua Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan ijin dalam pelaksanaan penelitian.
4. Ir. Tri Candra Setiawati, MSi. Sebagai DPU, Ir. Wustamidin, M.Agr.Sc. sebagai DPA I dan Ir Sugeng Winarso, MSi sebagai DPA II yang telah memberikan arahan sampai dengan penyusunan karya ilmiah tertulis ini.
5. Ir. Budi Suhartono, MSi. Selaku dosen wali yang telah mengarahkan penulis selama masa perkuliahan.
6. Seluruh sahabatku di PMII rayon pertanian UNEJ yang telah menumbuhkan semangat perjuangan.
7. Seluruh sahabatku di Griya Citra yang selalu membangun semangat kebersamaan serta teman-teman di Brantas XXV/70 yang telah berbagi suka dan duka.
8. Teman-teman soil '96 yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan penulisan karya ilmiah ini.

9. Seluruh rekan-rekan HIMAHITA atas dorongan semangat dan bantuannya.
10. Almamater tercinta Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang selalu aku junjung tinggi.

Dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa masih terdapat beberapa kekurangan yang terjadi dalam penyusunan karya ilmiah tertulis ini. Karenanya saran serta kritik yang membangun sangat kami harapkan sebagai cambuk meraih kesuksesan.

Jember, 2 Pebruari 2001

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
PEMBIMBING	ii
PENGESAHAN	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SUMMARY	xiv
RINGKASAN	xv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Hipotesa	4
1.4 Manfaat	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Unsur Hara Fosfor	5
2.2 Keberadaan Fosfat di dalam Tanah	6
2.3 Mikroba Pelarut Fosfat	7
2.4 Peranan Bakteri Pelarut Fosfat di dalam Tanah	9
2.5 Media Tumbuh Bakteri	10
2.6 Media Cair Molasse	11
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	
3.2.1 Bahan Penelitian	13
3.2.2 Alat Penelitian	13
3.3 Rancangan Penelitian	13
3.4 Metode Penelitian	
3.4.1 Tahap Peremajaan Mikroba	14

3.4.2 Tahap Uji Ulang pada Media Pikovskaya	14
3.4.3 Tahap Persiapan Media Molasse	15
3.4.4 Tahap Inokulasi Mikroba pada Media Molasse	15
3.4.5 Tahap Uji selektivitas pada Tanah	
3.4.5.1 Persiapan Media Tanah	16
3.4.5.2 Inokulasi Bakteri pada Tanah	16
3.4.6 Analisis Laboratorium	
3.4.5.1 Analisis Pendahuluan	17
3.4.5.2 Analisis pada saat Penelitian	17
3.4.7 Analisis Data Pengamatan	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengamatan Penunjang	
4.1.1 Analisis Pendahuluan Media Molasse	18
4.1.2 Uji Viabilitas Bakteri pelarut Fosfat pada Media Pikovskaya .	20
4.1.3 Analisis Tanah Awal Sebelum Inokulasi	20
4.2 Pengamatan Utama	
4.2.1 Fosfat Terlarut pada Media Molasse	21
4.2.2 Pengaruh Isolat terhadap Kelarutan P Selama Inkubasi	28
4.2.3 pengaruh Konsentrasi Media terhadap Kelarutan P Selama Inkubasi	31
4.2.4 Populasi Bakteri Pelarut Fosfat dalam Media Molasse	36
4.2.5 Fosfat Tersedia Tanah Selama Inkubasi	39
4.2.6 Perubahan pH Tanah Selama Inkubasi	41
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Komposisi rata-rata bahan molasse	12
2.	Penambahan unsur mikro dan sumber P-sukar larut pada media cair molasse	15
3.	Analisis pendahuluan media cair molasse pada beberapa konsentrasi	19
4.	Komposisi gula pada media molasse	19
5.	Pengaruh isolat terhadap pelarutan P (ppm) dalam media molasse pada inkubasi minggu kedua	22
6.	Pengaruh konsentrasi molasse terhadap pelarutan P (ppm) pada inkubasi minggu kedua	22
7.	Interaksi antara jenis isolat dan perbedaan konsentrasi molasse terhadap pelarutan P (ppm) pada inkubasi minggu keempat	23
8.	Pengaruh isolat terhadap pelarutan P (ppm) dalam media molasse pada inkubasi minggu keenam	25
9.	Pengaruh konsentrasi molasse terhadap pelarutan P (ppm) pada inkubasi minggu keenam	25
10.	Pengaruh isolat terhadap pelarutan P (ppm) dalam media molasse pada inkubasi minggu kedelapan	26
11.	Pengaruh konsentrasi molasse terhadap pelarutan P (ppm) pada inkubasi minggu kedelapan	27
12.	Pertumbuhan rata-rata populasi bakteri (CFU) selama waktu inkubasi	37
13.	Kenaikan rata-rata P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu kedua	39
14.	Kenaikan rata-rata P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu keempat	40
15.	Pengamatan pH tanah pada inkubasi minggu kedua	41
16.	Pengamatan pH tanah pada inkubasi minggu keempat	41

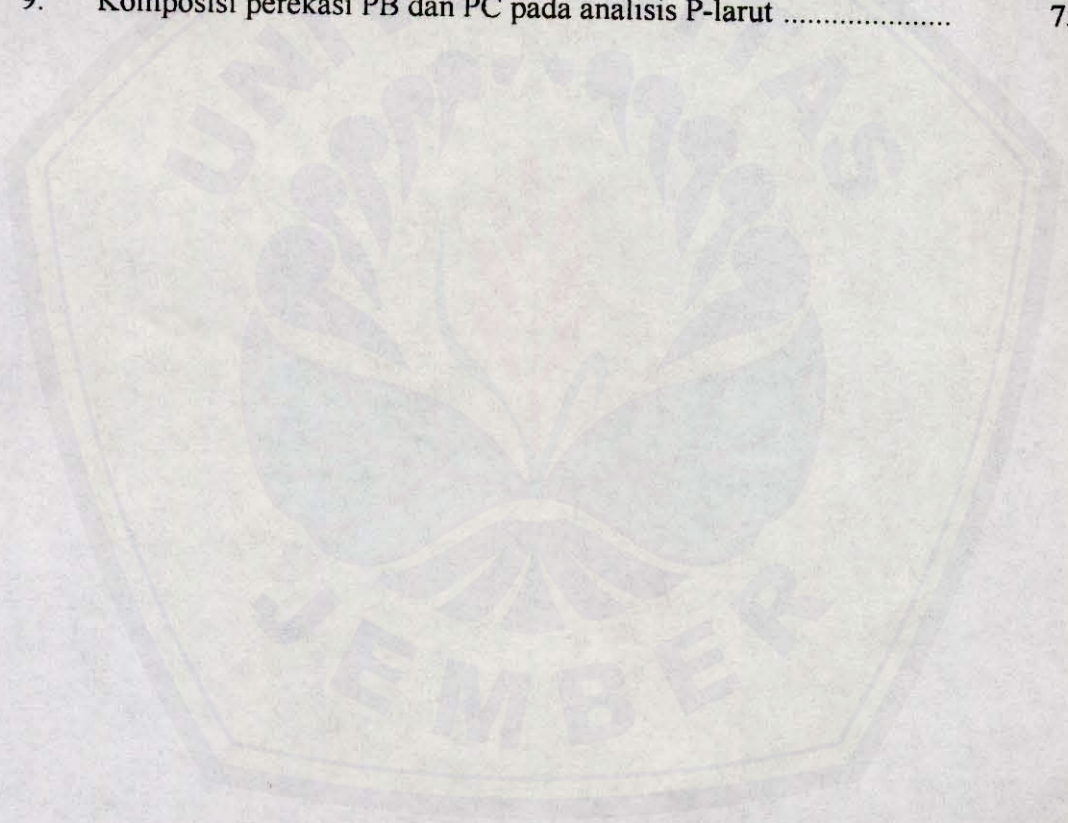
DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Pengaruh <i>Pseudomonas putida</i> terhadap P-larut (ppm) pada beberapa konsentrasi molasse selama waktu inkubasi	29
2.	Pengaruh <i>Pseudomonas aerogenusa</i> terhadap P-larut (ppm) pada beberapa konsentrasi molasse selama waktu inkubasi	29
3.	Pengaruh isolat TP. 4 terhadap P-larut (ppm) pada beberapa konsentrasi molasse selama waktu inkubasi	30
4.	Pengaruh <i>Chromobacterium violaceum</i> terhadap P-larut (ppm) pada beberapa konsentrasi molasse selama waktu inkubasi	31
5.	Pengaruh konsentrasi M1 terhadap P-larut (ppm) pada beberapa jenis isolat selama waktu inkubasi	32
6.	Pengaruh konsentrasi M2 terhadap P-larut (ppm) pada beberapa jenis isolat selama waktu inkubasi	33
7.	Pengaruh konsentrasi M3 terhadap P-larut (ppm) pada beberapa jenis isolat selama waktu inkubasi	34
8.	Pengaruh konsentrasi M4 terhadap P-larut (ppm) pada beberapa jenis isolat selama waktu inkubasi	35
9.	Pengaruh konsentrasi M5 terhadap P-larut (ppm) pada beberapa jenis isolat selama waktu inkubasi	36
10.	Grafik pertumbuhan bakteri dalam suatu medium	37

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1a.	Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu kedua	49
1b.	Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu keempat	50
1c.	Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu keenam	51
1d.	Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu kedelapan	52
1e.	Fosfat terlarut (ppm) selama waktu inkubasi	53
1f.	Pengaruh isolat terhadap P-larut (ppm) pada media molasse selama waktu inkubasi	54
1g.	Pengaruh konsentrasi molasse terhadap rata-rata P-larut (ppm) selama waktu inkubasi	55
2a.	Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu kedua	56
2b.	Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu keempat	57
2c.	Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu keenam	58
2d.	Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu kedelapan	59
2e.	Populasi rata-rata dari setiap isolat selama waktu inkubasi	60
3a.	Pengamatan P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu kedua	61
3b.	Pengamatan P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu keempat	62
3c.	Pengamatan P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu keenam	63
3d.	Pengamatan P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu kedelapan	64
3e.	Pengamatan rata-rata P-tersedia tanah (ppm) selama waktu inkubasi	65
4a.	Pengamatan pH tanah pada inkubasi minggu kedua	66
4b.	Pengamatan pH tanah pada inkubasi minggu keempat	67

4c.	Rata-rata pH tanah dalam kombinasi perlakuan pada inkubasi minggu kedua	68
4d.	Rata-rata pH tanah dalam kombinasi perlakuan pada inkubasi minggu keempat	69
4e.	Pengamatan rata-rata pH tanah selama waktu inkubasi	70
5.	Diameter zona bening (hallo zone) pada media pikovskaya	71
6.	Analisis tanah pendahuluan	72
7.	Komposisi media selektif pikovskaya	73
8.	Penilaian karakteristik tanah	74
9.	Komposisi perekasi PB dan PC pada analisis P-larut	75





Fikry Ali, 9615103085, "The Assay of Selectivity Phosphate-Solubilization Microbia in the Mollass Medium of a Difference Concentrations", under guide Ir. Tri Candra Setiawati, M.Si and Ir. Wustamidin, M.Agr.Sc.

Phosphate-solubilizing microorganisms (PSM) consisted of four species bacteria, were incubated in mollass liquid medium of a difference concentrations. This research were tested the microbial growth and they ability to dissolve P from hardly soluble phosphate source. Experiment was conducted in laboratory of soil biology and used randomized complete design based on factorial design with two factor and three replication. The first factor is four kinds of isolates i.e:1) isolat I (*Pseudomonas putida*), 2) isolat II (*Pseudomonas aerogenusa*), 3) isolat III (TP. 4), 4) isolat IV (*Chromobacterium violaceum*) and the second factor is mollass concentration consisted of five levels i.e:1) M1 (2 ml/l aq), 2) M2 (4 ml/l aq), 3) M3 (6 ml/l aq), 4) M4 (8 ml/l aq), 5) M5 (10 ml/l aq).

Each of isolates was inoculated in the medium with a population density amount $1,25 \times 10^5$ then the medium was incubated for 8 weeks, where each of two weeks observe availability of P soluble and the increased of population bacteria in the medium. The result showed that at the fourth weeks incubation *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas aerogenusa* have highest influent to dissolve P by about 126.77 ppm and 130.40 ppm, respectively. While the best concentration is happened at fourth concentration (8 ml/l aq) and fifth concentration (10 ml/l aq)

The next step is to examine microbial activity for solubilizing soil phosphate. Two species bacteria have been choosed from species were make, which better at the test before. An incubation experiment was conducted for 4 weeks. The experiment indicated that micobial activity were capable for solubilizing soil P during the incubation (four weeks) by all of treatments. Although each of treatments was not statistically difference except by control. This result suggest that inoculation with PSM can improve availability P solubilization.

Key words: phosphate solubilizing bacteria, phosphate solubilization, mollasse

**SOIL SCIENCE, FACULTY OF AGRICULTURE
JEMBER UNIVERSITY**

RINGKASAN

Fikry Ali, 9615103085, "**Uji Selektivitas Mikroba Pelarut Fosfat pada Media Cair (Molasse) dengan Beberapa Konsentrasi**", di bawah bimbingan Ir. Tri Candra Setiawati, Msi. (DPU) dan Ir. Wustamidin, M.Agr.Sc. (DPA)

Suatu pengujian dilakukan terhadap empat jenis bakteri pelarut fosfat, terdiri dari isolat I (*Pseudomonas putida*), isolat II (*Pseudomonas aerogenusa*), isolat III (TP. 4) dan isolat IV (*Chromobacterium violaceum*). Keempat isolat di atas ditumbuhkan pada media cair molasse. Penelitian dilakukan secara faktorial dengan rancangan dasar RAL, faktor pertama yaitu jenis isolat dan faktor kedua yaitu konsentrasi molasse dengan empat taraf, yaitu M1 (2 ml/l aq), M2 (4 ml/l aq), M3 (6 ml/l aq), M4 (8 ml/l aq) dan M5 (10 ml/l aq). Masing-masing isolat diinokulasikan ke dalam media molasse dengan populasi sekitar $1,25 \times 10^5$ dan diinkubasikan selama dua bulan, dimana setiap dua minggu dilakukan analisis P-larut pada media tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas aerogenusa* mempunyai pengaruh pelarutan P yang tertinggi dibandingkan dua isolat lainnya yang masing-masing 126.77 ppm dan 130.40 ppm pada inkubasi minggu keempat. Sedangkan konsentrasi yang mengandung jumlah P-larut tertinggi dicapai pada M4 (8 ml/l aq) dan M5 (10 ml/l aq).

Langkah selanjutnya yaitu melakukan pengujian terhadap isolat *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas aerogenusa* pada konsentrasi M4 dan M5 dalam kemampuannya melarutkan P-tanah. Masing-masing perlakuan menunjukkan peningkatan jumlah P-tersedia tanah dari inkubasi minggu kedua sampai dengan waktu inkubasi yang terakhir (minggu keempat). Pada penelitian ini menyimpulkan bahwa inokulasi bakteri pelarut fosfat yang dilakukan dapat membantu ketersediaan unsur fosfor.

Kata kunci : bakteri pelarut fosfat, fosfat terlarut, molasse

**JURUSAN TANAH FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan tanaman akan berlangsung dengan baik apabila cukup unsur hara dan air bagi perkembangannya (Poerwowidodo, 1992). Kebutuhan unsur hara bagi tanaman bergantung dari jenis tanaman dan kondisi tanah setempat. Di lain pihak ketersediaan unsur hara di dalam tanah ada yang tersedia dan ada yang tidak tersedia. Keberadaan unsur hara yang tidak tersedia inilah yang menjadi hambatan bagi tanaman dalam memenuhi kebutuhan hidupnya. Salah satu unsur hara yang menjadi masalah karena ketersediaannya yang lambat bagi tanaman adalah fosfor.

Fosfor merupakan salah satu unsur hara esensial terpenting kedua setelah nitrogen. Keberadaannya tidak dapat digantikan dengan unsur lain. Unsur fosfor sangat berperan di dalam metabolisme sel tanaman baik sebagai penyusun protein, asam-asam amino serta dalam penyusunan energi dalam bentuk ATP dan ADP (Dwidjosaputro, 1991).

Menurut Sutedjo *et al.* (1991) keberadaan fosfat di dalam tanah ada dua macam yaitu : (1) peredaran biologi (yang penting bagi tanaman) dan (2) peredaran geologi (yang kurang penting bagi tanaman karena memerlukan waktu yang lama). Pada tanah-tanah yang bereaksi alkalin maupun masam ion fosfat menjadi sulit tersedia akibat jerapan dari kation-kation seperti : Al^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} dan Ca^{2+} (Tan, 1995). Karena tingkat kebutuhan fosfat oleh tanaman tidak dapat digantikan oleh unsur lain sedangkan kelarutannya berjalan lambat maka akan terjadi penimbunan fosfat tanah secara berlebihan.

Pemupukan yang dilakukan pada umumnya diterapkan secara periodik, artinya pemberian unsur hara makro (N, P, K) diberikan sepanjang periode tanam. Apabila unsur hara yang ada tidak dimanfaatkan secara optimal sedangkan pemberiannya dilakukan sepanjang tahun maka akan terjadi penimbunan unsur hara yang pada akhirnya terjadi inefisiensi pemupukan.

Kondisi tersebut perlu ditanggulangi melalui upaya pemanfaatan kembali senyawa-senyawa fosfat yang tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman, mengingat banyaknya akumulasi senyawa fosfat di dalam tanah yang belum dimanfaatkan. Hal ini dilakukan sebagai upaya untuk menekan inefisiensi penggunaan pupuk fosfat secara berlebihan.

Salah satu metode yang dapat diterapkan dalam menangani permasalahan di atas yaitu dengan pemanfaatan mikroba pelarut fosfat. Berdasarkan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Gerretsen (1947) menunjukkan hasil dimana mikroorganisme di dalam tanah mampu mengubah fosfat yang sukar larut menjadi bentuk yang tersedia. Hal ini disebabkan karena adanya interaksi antara mikroba dan jaringan akar tanaman. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Maningsih dan Anas (1996) menunjukkan beberapa mikroorganisme khususnya fungi seperti *Aspergillus niger* mampu melarutkan P yang berasal dari fraksi Fe-P, Al-P dan Ca-P.

Keberadaan bakteri ini di dalam tanah secara umum diharapkan mampu menjaga keseimbangan unsur hara, khususnya unsur hara P sebagai unsur hara makro yang dibutuhkan tanaman. Aktivitas mikroba ini secara langsung maupun tidak langsung mampu mengubah persenyawaan fosfat dengan unsur lain menjadi ion-ion orthophosphat yang larut dan tersedia (Satpal dan Kapoor, 1998).

Untuk menjalankan aktivitasnya secara optimal bakteri pelarut fosfat juga memerlukan lingkungan hidup yang mendukung. Sebagian besar bakteri ini bersifat heterotrof, artinya mikroba ini memerlukan cukup bahan organik untuk melangsungkan hidupnya. Bahan organik inilah yang digunakan sebagai sumber karbon bagi penyusunan asam-asam amino dalam sintesa bahan selnya.

Dalam upaya merealisasikan pemanfaatan bakteri pelarut fosfat maka diperlukan usaha untuk dapat mengembangkan populasinya. Selama ini banyak penelitian yang dilakukan guna mengujicobakan pengembangan beberapa jenis bakteri pelarut fosfat pada beberapa media tumbuh. Seperti pemanfaatan dari media padatan yaitu, kompos, gambut dan jenis bahan organik lainnya. Seperti yang dilaporkan oleh Maningsih dan Anas (1996) dimana terdapat pengaruh yang nyata terhadap kemampuan pelarutan P oleh bakteri pelarut fosfat melalui

penambahan bahan organik. Dijelaskan pula oleh Illmer *et al.* (1994) media glukosa dimana di dalamnya terkandung nutrien makro maupun mikro sangat membantu penyusunan energi bagi mikroba.

Namun dari sekian banyak jenis media tumbuh bakteri, pengembangan pada media cair masih jarang dilakukan. Pengujian melalui media ini diharapkan juga mampu memberikan lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan bakteri. Pemanfaatan media ini juga perlu diperhatikan akan ketersediaan unsur hara serta senyawa-senyawa organik dalam media tersebut yang sangat diperlukan oleh mikroba. Salah satu media yang dapat digunakan yaitu melalui pemanfaatan molasse (tetes tebu).

Molasse atau yang dikenal dengan tetes tebu merupakan bahan sisa dari pembuatan gula. Bahan ini dapat dimanfaatkan kembali sebagai pupuk organik, berbentuk cairan kental yang berwarna hitam kecoklatan dan umumnya mengandung protein, gula, asam amino dan lain-lain. Molasse dapat berfungsi sebagai sumber energi bagi mikroorganisme tanah apabila diaplikasikan ke dalam tanah. Mikroorganisme tersebut akan cepat sekali berkembang biak, sehingga pembusukan sisa-sisa tanaman dan hewan yang terdapat pada tanah tersebut akan berjalan lebih cepat sambil melepaskan unsur hara yang dikandungnya, pada akhirnya dapat digunakan sebagai sumber hara bagi tanaman (Munthoyah *et al.*, 1994).

Sebuah penelitian yang menjelaskan tentang pengujian bakteri pelarut fosfat dalam suatu media tumbuh serta kemampuannya melarutkan P sangat penting artinya. Hal ini sekaligus berguna dalam menguji beberapa spesies bakteri yang mempunyai selektivitas yang tinggi terhadap lingkungan barunya. Pengujian selektivitas ini didasarkan pada kemampuan untuk bertahan hidup dan berkembang (*viabilitas*) dalam suatu lingkungan (*media*) serta aktivitasnya dalam membantu pelarutan unsur hara, khususnya fosfor. Berdasarkan rekayasa dari suatu media yang dilakukan diharapkan menjadi suatu media yang tepat dan mampu memberikan daya dukung yang optimal dalam mengupayakan pemanfaatan bakteri pelarut fosfat.

Melalui pemanfaatan media cair dari bahan molasse ini diharapkan mampu untuk mendukung sekaligus memberikan lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan mikroba pelarut fosfat sehingga bakteri tersebut mampu bertahan lama pada media tersebut tanpa mengurangi kemampuannya dalam melarutkan unsur fosfor mengingat kandungan bahan-bahan yang dibutuhkan bakteri tersebut terdapat di dalamnya.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari pelaksanaan penelitian ini adalah :

1. Menguji viabilitas beberapa bakteri pelarut fosfat pada media cair (molasse).
2. Menentukan konsentrasi media cair yang terbaik bagi perkembangan mikroba pelarut fosfat.
3. Menguji kemampuan mikroba pelarut fosfat dalam melarutkan P tanah.

1.3 Hipotesa

Dalam penelitian ini akan dilakukan beberapa pengujian hipotesis sebagai berikut :

1. Bakteri pelarut fosfat mampu bertahan hidup pada media cair (molasse) serta mampu melarutkan P dalam media tersebut.
2. Terdapat konsentrasi media cair (molasse) yang terbaik dalam mendukung pertumbuhan populasi mikroba pelarut fosfat.
3. Inokulasi mikroba pelarut fosfat di dalam tanah mampu meningkatkan ketersediaan P tanah.

1.4 Manfaat

Pada penelitian ini diharapkan bermanfaat dalam :

1. Pengembangan mikroba pelarut fosfat pada media cair (molasse)
2. Mendapatkan bakteri pelarut fosfat yang selektif yang mampu melarutkan P pada media molasse dan tanah.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Unsur Hara Fosfor

Fungsi utama P dalam pertumbuhan tanaman antara lain sebagai penyusun metabolit dan senyawa kompleks, sebagai aktifator atau pengatur enzim dalam proses-proses enzimatik dan lain-lain peran penting dalam proses fisiologis. Pengaruh unsur P yang menguntungkan adalah sebagai berikut :

1. pembelahan sel, pembentuk lemak dan albumin
2. pembentukan bunga, buah dan biji
3. perkembangan akan dan bulu akar halus
4. memperkuat batang agar tidak roboh
5. meningkatkan daya tahan terhadap penyakit (Dwijosaputro, 1991).

Unsur P diserap tanaman dalam bentuk ion orthophospat primer (H_2PO_4^-) dan sebagian dalam orthophospat sekunder (HPO_4^{2-}). Sebagian besar fosfat larut yang ada dalam tanah segera bereaksi dengan mineral liat tanah dan berubah menjadi berbagai senyawa fosfat kurang atau tidak larut sebagai fosfat organik maupun fosfat inorganik. Bentuk-bentuk P-organik tersebut terutama adalah phytin (Ca-Mg inositol heksafosfat), sekitar 30–40 % P-organik total, di samping asam nukleat dan turunannya, dan fosfolipid (Paul dan Clark, 1989). Hal senada juga dikemukakan oleh Tisdale dan Nelson (1975) bahwa fosfat diserap tanaman terutama dalam bentuk ion H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} dan PO_4^{3-} yang berada dalam larutan tanah. Keberadaan ion-ion tersebut dalam larutan tanah adalah sangat penting bagi pertumbuhan tanaman.

Besarnya serapan fosfor tanaman tergantung dari : (a) faktor ketersediaan senyawa fosfat dalam larutan tanah dan (b) faktor kondisi biologis tanaman, khususnya perakaran tanaman. Semakin tinggi fosfat tersedia pada zone dekat permukaan akar menyebabkan semakin tinggi peluang terserapnya fosfat tersebut. Sedangkan kondisi biologis dari perakaran tanaman berpengaruh terhadap mekanisme transportasi unsur P dalam tanaman (Aisyah, 1995).

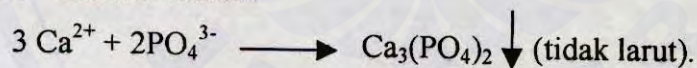


2.2 Keberadaan Fosfat di dalam Tanah

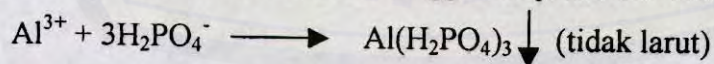
Di dalam tanah fosfat secara terus menerus mendapatkan tambahan dalam berbagai residu organik dan dalam suplai pemupukan. Diantara senyawa-senyawa fosfat organik juga dapat ditemukan di dalam tanah senyawa-senyawa seperti lecithin, asam-asam nukleat dan pithin. Dalam kehadiran sumber-sumber karbon dan nitrogen yang benar-benar tersedia, berbagai bakteri berkemampuan membongkar lecithin dan asam nukleat dan membebaskan fosfat sebagai P-tersedia. Sebanyak 66% dari fosfat lecithin ditransformasikan kedalam fosfat yang dapat larut dalam interval waktu 60 hari, sisanya diasimilasi bakteri untuk sintesa bahan sel (Sutedjo, *et al.*, 1991).

Unsur hara P relatif tidak mudah tercuci seperti halnya unsur nitrogen, akan tetapi karena beberapa faktor maka statusnya berubah dari fosfat yang tersedia bagi tanaman menjadi tidak tersedia dan mengendap sebagai besi fosfat, aluminium fosfat, kalsium fosfat dan jerapan lain dimana P berada dalam bentuk yang tidak tersedia (Poerwowidodo, 1992).

Anion fosfat dapat tertarik ke anasir-anasir tanah melalui suatu ikatan yang mengakibatkan fosfat menjadi sukar larut, atau biasa disebut dengan penyematan fosfat. Pada tanah-tanah yang bereaksi alkalin, ion fosfat akan terikat kuat dengan atom Ca^{2+} melalui reaksi :



Begitu pula pada tanah-tanah yang bereaksi masam dimana dominasi ion Fe^{3+} dan Al^{3+} mengikat kuat ion fosfat sehingga menjadi tidak tersedia, melalui reaksi :



Pada tanah-tanah di atas, pemberian pupuk fosfat umumnya memberikan respon pertumbuhan tanaman yang rendah (Tan, 1995).

Hasil dari peruraian P-alam berupa senyawa fosfat yang berada dalam sistem tanah dengan berbagai jenjang kelarutan. Bentuk fosfat ini akan dikonsumsi oleh jasad hidup, dijerap oleh pelikan liat, bahan organik, kation Al, Fe, Mn, Ca dan kation lain. Fosfat yang dikonsumsi oleh jasad hidup akan dilibatkan dalam sintesis

protoplasma dan kembali memasuki sistem tanah setelah diuraikan oleh bakteri fosfat (Poerwowidodo, 1992).

Persoalan yang umum dihadapi oleh fosfat dalam tanah adalah tidak semua bentuk fosfat di dalam tanah dapat segera tersedia untuk tanaman, karena fosfat dalam tanah dapat mengalami transformasi dari satu bentuk ke bentuk lain tergantung pada lingkungan dan praktek pengelolaan tanah. Bentuk senyawa fosfat yang ada dalam tanah akan mempengaruhi ketersediaan fosfat. Faktor yang mempengaruhi ketersediaan fosfat bagi tanaman yang terpenting adalah pH tanah, adanya besi dan aluminium dapat larut dalam kondisi sangat masam atau adanya kalsium pada nilai pH tinggi, berpengaruh nyata terhadap ketersediaan fosfat. Fosfat paling mudah diserap tanaman pada pH sekitar netral (pH 6 - 7). Dalam tanah banyak ion fosfor baik yang berasal dalam tanah itu sendiri maupun dari pupuk, terikat oleh unsur-unsur Al dan Fe sehingga tidak dapat digunakan oleh tanaman (Hardjowigeno, 1992).

Dengan demikian diperlukan suatu upaya yang efektif didalam membantu ketersediaan beberapa unsur hara khususnya P guna menopang pertumbuhan tanaman yang optimal.

2.3 Mikroba Pelarut Fosfat.

Menurut Buckman dan Brady (1982) bakteri adalah jasad bersel tunggal, yang merupakan salah satu bentuk kehidupan yang sederhana dan terkecil. Bakteri bersama-sama dengan fungi dan *Actinomycetes* menyusun kelompok besar golongan mikroorganisme serbaguna dan berfluktuasi begitu nyata dalam menanggapi keadaan tanah.

Keterangan di atas di perjelas kembali oleh Volk dan Brown (1997) yang menyatakan bahwa bakteri merupakan tumbuhan bersel satu, dengan ukuran yang sangat kecil dan paling banyak dijumpai di dalam tanah. Bakteri ini secara umum dapat dibedakan berdasarkan prinsip-prinsipnya dalam memperoleh karbon dan energi dalam mendukung metabolisme dan pertumbuhan serta reproduksinya. Mikroorganisme mendapat energi ada yang berasal dari matahari atau dari oksidasi bahan organik, yang disebut sebagai fototrop dan kemotrop. Organisme yang

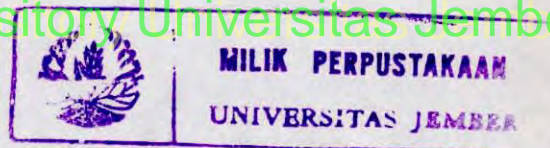
asimilasi karbonnya dari bahan anorganik (CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) disebut organisme autotrof, sedangkan bila sumber karbonnya dari bahan organik disebut organisme heterotrof (Metting, 1993). Mikroba di dalam tanah sangat berperan dalam membantu ketersediaan unsur hara melalui reaksi-reaksinya yang kompleks.

Kebanyakan para ahli beranggapan bahwa mekanisme pelarutan fosfat tanah juga dipengaruhi oleh keberadaan asam-asam organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme tanah. Beberapa jamur dan bakteri (misalnya, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Bacillus* dan *Pseudomonas*) merupakan pelarut potensial dari fosfat yang terikat (Rao, 1994).

Pada umumnya bakteri-bakteri di dalam tanah dapat pula bersifat sebagai bioreaktor dalam reaksi kimia, seperti reaksi pelepasan fosfat yang dilakukan oleh mikroba pelarut fosfat. Pemanfaatan bakteri pelarut fosfat sudah sangat luas dilakukan. Halvorson *et al.* (1990) membuktikan dalam suatu penelitiannya dimana pada pengisolasian bakteri yang berasal dari lingkungan tanah dan air, yang diinkubasikan pada media yang bersifat alkalin bakteri tersebut masih menunjukkan peningkatan populasi yang cepat serta mampu melarutkan P yang berasal dari kalsium fosfat sebagai sumber unsur P. Beberapa jenis bakteri seperti *Pseudomonas cepacia* diketahui bersifat sebagai bioreaktor di dalam tanah karena kemampuannya melarutkan P yang berasal dari batuan fosfat (rock phosphate) (Rogers *et al.*, 1999).

Kemampuan bakteri pelarut fosfat sangat beragam tergantung dari jenis dan daya adaptasi terhadap lingkungan barunya. Bakteri pelarut fosfat yang berasal dari tanah tertentu apabila diinokulasikan pada tanah lainnya belum tentu dapat mempertahankan kemampuannya (Kimura *et al.*, 1990). Oleh sebab itu di dalam pemanfaatannya sebaiknya menggunakan inokulan yang telah teruji kemampuan bertahan hidup maupun daya melarutkan fosfat di dalam tanah.

Beberapa jenis bakteri mempunyai kompetensi yang berbeda dalam melarutkan P-tersedia. Pada spesies *Penicillium aurantiogriseum* lebih efektif dalam melarutkan P yang berasal dari Ca-P. Sedangkan *A. niger* dan *P. Simplicissimum* efektif dalam melarutkan P yang berasal dari Al-P (Illmer dan Schinner, 1994).



Pelarutan unsur-unsur makro oleh bakteri disamping membantu ketersediaan unsur tersebut juga berdampak pada perbaikan sifat-sifat fisik dan biologi tanah, sehingga dapat menjaga keseimbangan dan produktivitas tanah.

2.4 Peranan Bakteri Pelarut Fosfat di dalam Tanah

Keberadaan bakteri yang mempunyai aktifitas yang tinggi sangat tergantung pada lingkungan hidupnya. Populasi bakteri pada daerah perakaran lebih dominan dibandingkan dengan diluar daerah perakaran. Hal ini disebabkan adanya intervensi akar terhadap aktivitas mikroba (Heijnen *et al.*, 1992). Prihatini dan Komariah (1991) melaporkan bahwa pemanfaatan bakteri pelarut fosfat pada jenis tanah latosol mampu meningkatkan ketersediaan P-tanah serta kandungan P di dalam jaringan tanaman. Hal ini merupakan suatu upaya yang dapat dilakukan untuk menjaga keseimbangan unsur hara di dalam tanah.

Mekanisme kerja dari mikroba pelarut fosfat sehingga mampu melarutkan fosfat tanah dan fosfat asal pupuk TSP diduga dari sistem ekskresi mikroba. Bakteri pelarut fosfat menghasilkan asam-asam organik seperti asam sitrat, glutamat, suksinat, laktat, oksalat, glioksalat, malat, fumarat, tartrat dan β -keto butirat. Asam-asam organik tersebut bereaksi dengan aluminium fosfat, besi fosfat dan kalsium fosfat. Dari reaksi tersebut terbentuk khelat organik dari aluminium, besi dan kalsium, sehingga fosfat terbebaskan dan larut. Selanjutnya fosfat menjadi tersedia bagi tanaman (Rao, 1994). Namun pelarutan fosfat dapat juga dilakukan oleh jasad renik yang tidak menghasilkan asam-asam organik, yaitu melalui mekanisme pelepasan proton pada proses respirasi atau asimilasi amonium (Ilmer dan Schinner, 1994). Mekanisme tersebut diuraikan melalui reaksi sebagai berikut :



Perubahan ion-ion fosfor dari bentuk yang tidak tersedia menjadi bentuk yang tersedia sangat penting artinya, mengingat kebutuhan hidup tanaman yang memerlukan unsur hara. Dengan demikian pemanfaatan bakteri pelarut fosfat sangat penting artinya dalam membantu ketersediaan unsur hara tanah.

2.5 Media Tumbuh Bakteri

Menurut Meikle *et al.* (1995) daya tahan hidup serta aktivitas mikroba sangat tergantung pada habitat hidupnya. Seperti kondisi lingkungan yang optimal serta ketersediaan nutrien yang dibutuhkan didalam aktivitasnya. Untuk itu perlunya suatu cara dalam memperbanyak mikroba pelarut fosfat pada suatu media yang mampu meningkatkan populasi biomass tanpa mengurangi kemampuannya dalam melarutkan fosfat di dalam tanah.

Mikroorganisme akan tumbuh pada substansi yang mengandung unsur-unsur C, H, O sebagai penyusun karbohidrat, sebagai contohnya gula (Honig, 1963). Pengembangan bakteri dalam suatu media bertujuan untuk memberikan perkembangan dan pertumbuhan secara optimal. Media ini diharapkan lebih mendukung dibandingkan kondisi tanah yang sangat heterogen.

Banik dan Dei (1982) melaporkan adanya korelasi yang positif dari ketersediaan nutrien dalam medium agar dengan populasi mikroba pelarut fosfat. Hal ini didasarkan pada inokulasi mikroba pelarut fosfat dalam suatu media agar dengan bahan sukrosa dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai sumber fosfat dimana mikroba tersebut juga memproduksi asam-asam organik yang membantu di dalam pelarutan P. Pada penelitian lain yang dilaporkan oleh Susilorukmi *et al.* (1997), telah membuktikan bahwa pada bakteri yang diujicobakan pada dua medium yang mengandung bahan berbeda yaitu fenol dan glukosa didapatkan hasil bahwa bakteri tersebut lebih cepat mengkonsumsi glukosa dari pada fenol. Pada pertumbuhan awal (32 jam inkubasi) eliminasi glukosa yang terdapat pada medium sudah mencapai 50%, sedangkan eliminasi fenol baru mencapai sekitar 30%. Hal ini disebabkan karena bakteri tersebut lebih mengutamakan glukosa sebagai sumber karbon dan energi daripada fenol.

Media lain yang juga sangat populer untuk mengembangkan bakteri pelarut fosfat adalah media pikovskaya. Bakteri yang diinokulasikan ke dalam media pikovskaya mampu melarutkan fosfat dengan sumber P dari batuan fosfat, serta mampu menghasilkan asam-asam organik pada media tersebut (Premono, 1994)

2.6 Media Cair (molasse)

Pemanfaatan media cair bagi pertumbuhan bakteri pelarut fosfat masih jarang dikembangkan. Pada beberapa jenis bakteri ataupun jamur, khususnya yang bersifat anaerob telah diujicobakan melalui media berbentuk cair. Seperti pengujian terhadap dua medium, yaitu media cair dari bahan gula bit (beet molasses) dan bahan padatan berupa sekam, yang ke dalamnya diinokulasikan jamur *Aspergillus niger*. Penelitian menunjukkan bahwa pada media cair (gula bit) menunjukkan substrat yang terbaik bagi pertumbuhan jamur dengan 69% mineralisasi. Jamur ini mampu beraktifitas pada media ini yang mengandung 3.0 g/l batuan fosfat serta meningkatkan kelarutan P sejak awal proses inkubasi (Vassilev *et al.*, 1995)

Tetes atau molasse adalah sisa sirup terakhir dari nira yang telah mengalami pengolahan dari pabrik gula dan telah dipisahkan gulanya melalui kristalisasi berulang kali sehingga sudah tidak mungkin menghasilkan gula kristal melalui kristalisasi secara konvensional (Tedjowahjono, 1978). Tetes tebu (molasse) merupakan salah satu hasil samping industri gula yang dihasilkan pada saat kristalisasi gula putih. Tetes dihasilkan sekitar 4,1% dari total tebu yang digiling. Tetes mengandung 55-60 % gula total sehingga biasanya dimanfaatkan sebagai bahan baku fermentasi dalam industri etanol, spiritus, Monosodium Glutamat (MSG), Glutamic Acid (GA), asam asetat, L-lysine dan berbagai produk lainnya (Toharisman dan Santoso, 1997).

Komposisi molasse secara umum adalah dipengaruhi oleh tanaman tebu itu sendiri, jenis tanah, iklim, pemupukan dan proses pengolahan gulanya. Adapun komposisi rata-rata molasse menurut Olbrich (1963) dalam Munthoyah *et al.* (1994) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi rata-rata bahan molasse (tetes tebu)

Komposisi	(%)
Air	20
Bahan Organik :	
Gula :	
Sakarosa	32
Glukosa	14
Fruktosa	16
Bukan Gula :	
Senyawa N, asam bebas dan terikat, <i>soluble gummy substances.</i>	10
Bahan anorganik (abu) :	
SiO ₂	0.50
K ₂ O	3.50
CaO	1.50
P ₂ O ₅	0.28
MgO	1.10
Sisa sulfat	1.60
Lain-lain	0.60
Total	100

Sumber. Olbrich (1963)

Penggunaan tetes pada garis besarnya dibagi menjadi dua, yaitu penggunaan secara langsung (untuk pupuk dan makanan ternak) serta pemanfaatan yang harus melalui proses seperti bahan baku fermentasi, etanol, serta pembuatan ragi (Tedjowahjono, 1978). Di lain pihak tetes merupakan media kompleks, komponen penyusunnya terdiri dari *macro elements*, *micro elements* maupun *growth factor* di tambah beberapa komponen lain. Molasses atau tetes tebu banyak mengandung unsur-unsur seperti kalium, kalsium, klorida dan sulfat. Berdasarkan komponen tersebut tetes seringkali harus mendapatkan perlakuan pendahuluan terutama untuk menurunkan kadar komponen yang merugikan pertumbuhan mikroorganisme, seperti pada pembentukan produk fermentasi (Mochtar dan Kurniawan, 1996).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biologi Tanah dan Kesuburan Tanah pada Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember Pada bulan November 1999 sampai dengan bulan Juni 2000.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

1. isolat bakteri pelarut fosfat
2. media cair molasse (tetes tebu)
3. media pikovskaya
4. larutan fisiologis
5. sumber phospat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
6. bahan untuk analisis P-larut dan P-tersedia tanah

3.2.2 Alat Penelitian

1. peralatan dalam analisis P-larut dan P-tersedia tanah
2. autoklaf (sterilisasi)
3. erlenmeyer
4. tabung reaksi
5. pipet ukur

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara faktorial dengan rancangan dasar RAL yang terdiri dari dua faktor dan tiga ulangan.

Faktor pertama jenis isolat (I) yang terdiri dari empat taraf, yaitu :

1. Isolat I (*Pseudomonas putida*), koleksi lab.Biotan IPB Bogor.
2. Isolat II (*Pseudomonas aerogenusa*), koleksi lab.Biotan FP Unej.
3. Isolat III (TP 4) koleksi Puslittan Bogor.
4. Isolat IV (*Chromobacterium violaceum*), koleksi lab.Biotan FP Unej.

Faktor kedua konsentrasi media cair molasse (M), terdiri dari lima taraf, yaitu :

1. Konsentrasi I (M1) = 2 ml molasse diencerkan dalam 1 liter aquades
2. Konsentrasi II (M2) = 4 ml molasse diencerkan dalam 1 liter aquades
3. Konsentrasi III (M3) = 6 ml molasse diencerkan dalam 1 liter aquades
4. Konsentrasi IV (M4) = 8 ml molasse diencerkan dalam 1 liter aquades
5. Konsentrasi V (M5) = 10 ml molasse diencerkan dalam 1 liter aquades

3.4 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu :

3.4.1 Tahap Peremajaan mikroba pada media NB (Nutrien Broth)

Bakteri yang berasal dari beberapa isolat murni diremajakan terlebih dahulu dalam media nutrien broth. Media ini disebut dengan larutan NB, dimana sebanyak 8 g NB dilarutkan kedalam 1000 ml aquades. Selanjutnya kedalam erlenmeyer 100 ml dituangkan larutan NB sebanyak 50 ml, kemudian dilakukan sterilisasi selama 20 menit pada suhu 126°C . Langkah selanjutnya yaitu mengambil sebanyak dua ose dari koloni bakteri yang berada pada media agar miring, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi larutan NB steril. Setelah itu diinkubasikan selama kurang lebih dua hari.

3.4.2 Tahap Uji Ulang pada Media Pikovskaya

Bakteri yang telah diremajakan dalam media NB steril kemudian dipindahkan pada media pikovskaya, yang terlebih dahulu dilakukan pengenceran dengan mengambil sebanyak satu mililiter larutan dari media NB yang kemudian diencerkan sampai kurang lebih 10^{-4} dengan larutan fisiologis steril yang dibuat dengan melarutkan 8.5 g kristal NaCl kedalam 1000 ml aquades. Hal ini dilakukan untuk mengetahui jumlah populasi bakteri setelah diinkubasikan selama dua hari. Perhitungan koloni bakteri pada media selektif pikovskaya (lampiran 7) menggunakan metode *plate count*. Pertumbuhan bakteri pelarut fosfat pada media selektif pikovskaya ditunjukkan dengan adanya zona terang yang berada di bagian atas koloni bakteri. Zona terang yang terbentuk menunjukkan adanya pelarutan kalsium fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ oleh bakteri pelarut fosfat.

3.4.3 Tahap Persiapan Media Cair (molasse)

Media cair yang digunakan berasal dari bahan molasse (tetes tebu). Kemudian dilakukan pengenceran sesuai dengan konsentrasi yang diujicobakan. Pengenceran dilakukan dengan mengambil masing-masing 2, 4, 6, 8 dan 10 ml larutan induk molasse dengan pipet ukur 10ml, selanjutnya diencerkan sampai 1000ml dengan aquades. Masing-masing konsentrasi media cair ditempatkan pada botol-botol percobaan yang diisi sebanyak 500ml larutan. Selanjutnya dilakukan penambahan beberapa senyawa guna menyuplai kekurangan unsur hara pada media tersebut, termasuk pemberian $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai sumber P-sukar larut.

Tabel 2. Penambahan hara dan sumber P-sukar larut pada media cair molasse.

Jenis Bahan	Banyaknya (g/l)
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	2
Yeast	0.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
NaCl	0.05
MnSO_4	0.001
FeSO_4	0.001

Sumber : diadaptasi dari komposisi media pikovskaya

Kemudian dilakukan sterilisasi selama 20 menit pada suhu 126°C terhadap media yang digunakan dengan autoclave sebanyak tiga kali untuk mematikan seluruh organisme yang berada di dalamnya. Setelah itu media siap untuk digunakan.

3.4.4 Tahap Inokulasi mikroba pada media cair (molasse)

Inokulasi empat jenis bakteri pelarut fosfat pada media molasse dilakukan setelah bahan yang digunakan telah siap. Inokulum bakteri pelarut fosfat, diberikan dalam bentuk larutan suspensi dari media NB yang diinkubasikan selama dua hari dan ditaksir kepadatan populasi mikroba sebesar 2.5×10^4 CFU per mililiter. Suspensi ini diberikan sebanyak 5 ml pada semua konsentrasi media molasse atau setara dengan kepadatan 1.25×10^5 . Perhitungan populasi berdasarkan penelitian pendahuluan dengan menggunakan metode *plate count*

(jumlah koloni). Selanjutnya media cair molasse ini dipertahankan pada kondisi temperatur ruang (suhu kamar). Media yang telah di inokulasikan bakteri pelarut fosfat tersebut diinkubasikan selama delapan minggu. Setiap dua minggu sekali dilakukan analisis P-larut pada semua konsentrasi molasse, yaitu dengan mengambil kurang lebih 10ml larutan kemudian disentrifuse dengan kecepatan 7500rpm selama 10 menit. Kemudian dilakukan penyaringan guna memisahkan larutan dengan endapannya. Selain itu juga diamati mengenai perubahan jumlah populasi mikroba dengan menggunakan metode *plate count* pada media selektif pikovskaya.

3.4.5 Tahap Uji Selektivitas pada Tanah

Setelah pengamatan selama dua bulan inkubasi pada media cair molasse, kemudian dilanjutkan dengan uji kemampuan melarutkan P-tanah. Dari keempat jenis isolat yang diujicobakan pada media molasse, kemudian dipilih dua jenis isolat yang paling mampu dalam melarutkan fosfat. Selain itu juga ditentukan dua konsentrasi media molasse dengan jumlah P-larut yang tertinggi.

3.4.5.1 Persiapan Media Tanah

Tanah yang digunakan berasal dari tanah sawah yang sebelumnya dilakukan analisis pendahuluan mengenai sifat fisik dan kimia serta kandungan fosfat total dan fosfat terlarut pada tanah tersebut (lampiran 6). Banyaknya tanah yang digunakan sebanyak 50 g yang dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml. Kemudian dilakukan sterilisasi selama 120 menit sebanyak tiga kali.

Selanjutnya tanah tersebut dikondisikan pada 70 – 80 % kapasitas lapang. Pengkondisian ini dilakukan dengan menambahkan larutan fisiologis steril setelah tanah tersebut di sterilisasi.

3.4.5.2 Inokulasi Bakteri pada Tanah

Inokulasi bakteri pelarut fosfat kedalam tanah dilakukan setelah diketahui kepadatan populasi dari masing-masing konsentrasi media cair. Kepadatan populasi bakteri yang diinokulasikan kedalam setiap sampel tanah sama banyaknya, yaitu sekitar 4.7×10^{13} . Sedangkan untuk perlakuan kontrol hanya

dilakukan penambahan larutan fisiologis steril. Untuk temperatur dikondisikan pada temperatur ruang dan selama inkubasi tanah harus selalu dikondisikan pada 70 - 80 % kapasitas lapang. Apabila kadar air dalam tanah mulai berkurang maka dilakukan penambahan air dengan larutan fisiologis steril kedalamnya. Masa inkubasi bakteri pada tanah dilakukan selama empat minggu, dimana setiap dua minggu dilakukan pengamatan kandungan P tersedia dan pH tanahnya.

3.4.6 Analisis Laboratorium

Analisis laboratorium yang dilakukan meliputi :

3.4.6.1 Analisis Pendahuluan

Analisis pendahuluan yang dilakukan meliputi :

1. pH media cair (molasse) menggunakan pH-meter
2. analisis P-total media molasse
3. analisis P-larut media molasse
4. analisis K, Ca, Mg media molasse
5. analisis awal fisika dan kimia tanah
6. analisis gula media molasse

3.4.6.2 Analisis pada saat Penelitian

Analisis pada saat penelitian ini dilakukan pada saat penginkubasian bakteri pelarut fosfat pada media molasse serta pada inkubasi bakteri dalam tanah.

Analisis ini meliputi :

1. analisis P-larut pada media molasse (lampiran 9)
2. perhitungan populasi mikroba (*Plate Count*)
3. analisis P-tersedia tanah (Bray-2)
4. pH tanah (H_2O)

3.4.7 Tahap Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh masing-masing faktor perlakuan serta interaksinya terhadap parameter P-larut, P-tersedia tanah serta perubahan pH tanah dilakukan dengan analisis varian. Untuk membedakan pengaruh rata-rata perlakuan dilanjutkan dengan uji berjarak Duncan pada taraf kepercayaan 95 %.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut :

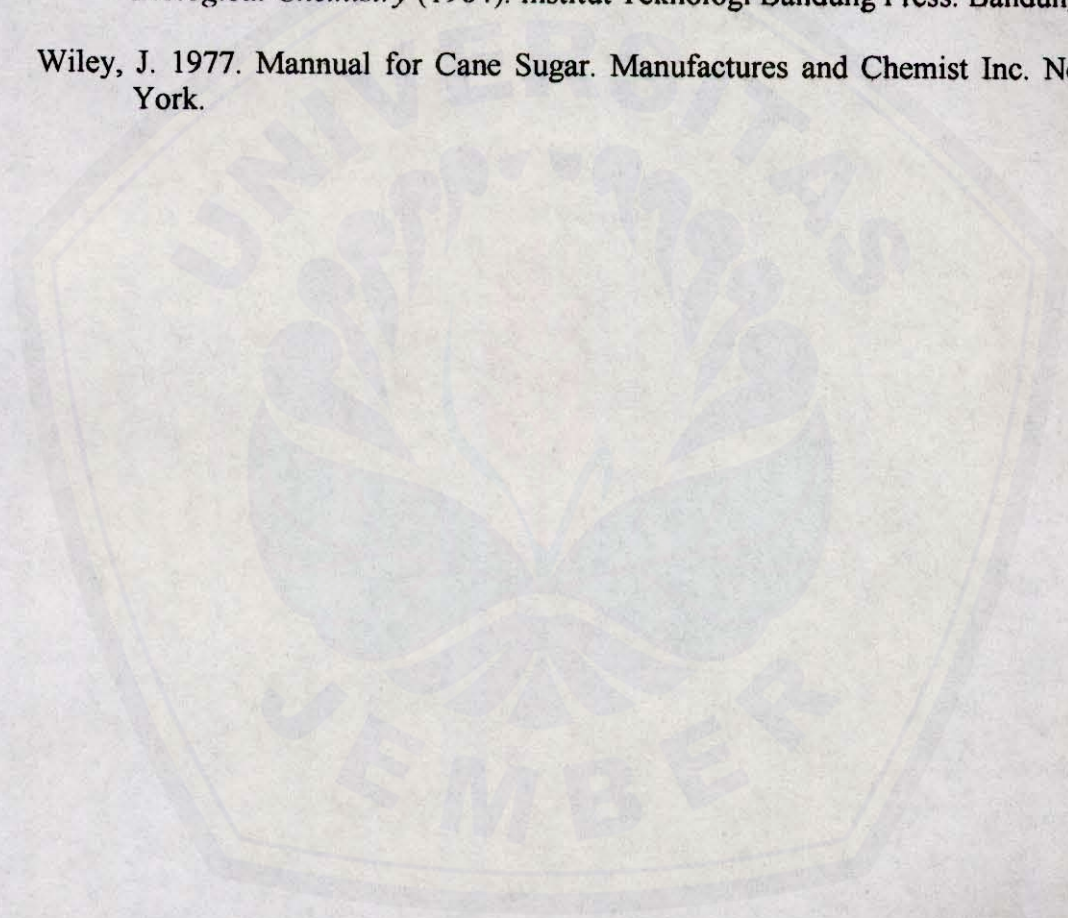
1. Empat jenis bakteri yang diinokulasi kedalam media molasse menunjukkan adanya peningkatan populasi hingga 10^{11} CFU per mililiter sampai dengan delapan minggu inkubasi.
2. *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas aerogenusa* lebih selektif dari dua isolat lainnya dengan kemampuan melarutkan P mencapai 195.97 ppm dan 175.95 ppm, dengan konsentrasi terbaik pada konsentrasi keempat (M4) dan kelima (M5) yang masing-masing mengandung 8 ml dan 10 ml molasse setiap literanya.
3. Pelarutan fosfat tertinggi selama inkubasi terjadi pada minggu yang keempat dan terjadi penurunan jumlah fosfat terlarut pada akhir waktu inkubasi.
4. Inokulasi *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas aerogenusa* pada tanah dapat meningkatkan ketersediaan P selama inkubasi. Rata-rata peningkatan sebesar 182.52% dari sebelum inokulasi dan terus meningkat sampai 165.42% dari waktu inkubasi sebelumnya.
5. Inokulasian bakteri pelarut fosfat berpengaruh terhadap penurunan pH tanah.

5.2 Saran

Pemanfaatan media molasse akan sangat membantu dalam mengupayakan pertumbuhan bakteri pelarut fosfat pada konsentrasi tertentu serta kandungan nutrisi yang memadai. Sehingga dapat diupayakan pemanfaatan bakteri pelarut fosfat dalam membantu ketersediaan unsur hara bagi tanaman. Perlunya penelitian sejenis ini pada skala yang lebih luas dengan menerapkan uji di lapang serta pemanfaatannya bagi pertumbuhan tanaman.

- Prihatini, P. dan S. Komariah. 1991. Peran Inokulum Bakteri Pelarut Fosfat dalam Peningkatan Ketersediaan P Tanah dan Hasil Jagung pada Tanah Latosol Darmaga. Makalah pada Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor.
- Rao, N.S.S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Terjemahan Herawati Susilo dari *Soil Microorganisms and Plant Growth* (1982). Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Rogers, R. D., B. Bar-Yosef, J. H. Wolfram and E. Richman. 1995. *Pseudomonas cepacia*-Mediated Rock Phosphate Solubilization in Kaolinite and Montmorillonite Suspensions. *Soil. Sci. Soc. Am. Journal*.
- Sanchez, P. A. 1992. Sifat dan Pengelolaan Tanah Tropika. Terjemahan J. T. Jayadinata dari *Properties and Managemen of Soil in The Tropics* (1976). Institut Teknologi Bandung Press. Bandung.
- Satpal, S. and K.K. Kapoor. 1998. Effects of Phosphate-Solubilizing Micoorganisms and an arbuscular Mycorizal Fungus on Mungbean Grown under Neutral Soil conditions. *Biology and Fertility of Soils*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, Inc.
- Schiegel, H. G. 1994. Mikrobiologi Umum. Terjemahan R. M. Tedjobaskoro dari *Principle of Microbiollogy* Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Susilorukmi, A., B. A. Ekoputro dan T. Sembiring. 1997. Isolasi Bakteri Aerob Pengurai Fenol. Puslitbang Fisika Terapan. Bandung.
- Sutedjo, M. M., A. G. Kartasapoetra, R. D. S. Sastroatmodjo. 1991. Mikrobiologi Tanah. Rineka Cipta. Jakarta.
- Tan, K.H. 1995. Dasar-dasar Kimia Tanah. Terjemahan Didiek H. Goenadi dari *Principles of Soil Chemistry* (1982). Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tedjowahjono, S. 1978. Diversifikasi Penggunaan Tetes. *Majalah Perusahaan Gula P3GI XIV No.3-September 1978*. Pasuruan.
- Tisdale, S. L. and W. L. Nelson. 1975. *Soil Fertility and Fertilizer*. Mcmillan Publishing Co., Inc. New York.
- Toharisman, A. dan H. Santoso. 1997. Fermentasi Etanol Menggunakan Fraksi Gula Reduksi (sisa separasi sukrosa dari tetes tebu) *Majalah Penelitian Gula P3GI XXXIII No.4-Desember 1997*. Pasuruan.

- Vassilev, N., M. T. Baca, M. Vašsileva, I. Franco, R. Azcon. 1995. Rock Phosphate Solubilization by *Aspergillus niger* Grown on Sugar beet Medium. Applied Microbiology and Biotechnology. Springer-Verlag Berlin heidelberg.
- Volk, W. A. and Jay C. Brown. 1997. Basic Microbiology. Addison-Wesley Educational Publisher Inc. California.
- Wilbraham, A. C. dan S. Matta. 1992. Pengantar Kimia Organik dan Hayati. Terjemahan Suminar Achmadi dari *Introduction to Organic and Biological Chemistry* (1984). Institut Teknologi Bandung Press. Bandung.
- Wiley, J. 1977. Mannual for Cane Sugar. Manufactures and Chemist Inc. New York.



Lampiran 1a. Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu kedua

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Transformasi akar
		I	II	III			
1	M1I1	50.20	49.68	16.49	116.36	38.79	6.23
2	M1I2	53.98	35.92	18.72	108.62	36.21	6.02
3	M1I3	33.69	26.29	28.35	88.33	29.44	5.43
4	M1I4	21.13	26.29	18.38	65.80	21.93	4.68
5	M2I1	70.49	45.21	73.59	189.29	63.10	7.94
6	M2I2	57.42	62.92	48.82	169.16	56.39	7.51
7	M2I3	26.98	36.61	52.60	116.19	38.73	6.22
8	M2I4	17.17	23.37	38.67	79.21	26.40	5.14
9	M3I1	48.13	41.43	39.53	129.09	43.03	6.56
10	M3I2	55.18	39.19	51.40	145.77	48.59	6.97
11	M3I3	25.09	18.72	25.60	69.41	23.14	4.81
12	M3I4	35.23	56.39	20.10	111.72	37.24	6.10
13	M4I1	57.59	64.82	64.64	187.05	62.35	7.90
14	M4I2	27.32	32.31	22.33	81.96	27.32	5.23
15	M4I3	22.33	25.43	24.91	72.67	24.22	4.92
16	M4I4	24.91	13.73	44.52	83.16	27.72	5.26
17	M5I1	73.59	40.74	66.19	180.52	60.17	7.76
18	M5I2	34.72	15.80	20.96	71.48	23.83	4.88
19	M5I3	15.80	20.96	34.89	71.65	23.88	4.89
20	M5I4	33.86	28.01	17.52	79.39	26.46	5.14
Jumlah		784.81	703.82	728.21	2216.84	738.95	119.59

M= konsentrasi molasse I= isolat

ANOVA*

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	19	72.22	3.80	4.09*	1.22
Isolat (I)	3	41.13	13.71	14.79**	2.94
Mollase (M)	4	10.17	2.54	2.74 ^{ns}	2.75
Interaksi (I X M)	12	20.92	1.74	1.90 ^{ns}	2.00
Galad	40	37.09	0.93		
Total	59	109.31			

*) Transformasi akar
KK = 16.25 %

** = Berbeda Sangat nyata
* = Berbeda nyata
ns = Berbeda tidak nyata

Lampiran 1b. Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu keempat

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Transformasi akar
		I	II	III			
1	M1I1	108.57	83.63	52.57	244.77	81.59	9.03
2	M1I2	83.12	60.72	50.54	194.38	64.79	8.05
3	M1I3	64.28	42.39	67.85	174.52	58.17	7.63
4	M1I4	91.26	63.77	81.59	236.62	78.87	8.88
5	M2I1	153.88	129.45	85.16	368.49	122.83	11.08
6	M2I2	200.21	150.32	196.65	547.18	182.39	13.51
7	M2I3	83.63	84.65	69.88	238.16	79.39	8.91
8	M2I4	65.30	63.77	81.08	210.15	70.05	8.37
9	M3I1	166.10	176.79	127.92	470.81	156.94	12.53
10	M3I2	139.12	182.39	175.78	497.29	165.76	12.87
11	M3I3	63.77	80.06	76.50	220.33	73.44	8.57
12	M3I4	68.35	80.57	72.94	221.86	73.95	8.60
13	M4I1	196.14	199.19	192.58	587.91	195.97	14.00
14	M4I2	176.79	162.03	189.01	527.83	175.94	13.26
15	M4I3	91.26	86.17	73.45	250.88	83.63	9.14
16	M4I4	65.81	57.66	70.90	194.37	64.79	8.05
17	M5I1	79.05	75.99	74.46	229.50	76.50	8.75
18	M5I2	62.75	53.59	72.94	189.28	63.09	7.94
19	M5I3	83.12	63.26	59.19	205.57	68.52	8.28
20	M5I4	74.46	65.30	63.77	203.53	67.84	8.24
Jumlah		2116.97	1961.70	1934.76	2216.84	2004.48	195.69

ANOVA*

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	19	269.35	14.18	20.950**	1.22
Isolat (I)	3	102.96	34.32	50.710**	2.84
Mollase (M)	4	86.2	21.55	31.850**	2.61
Interaksi (I X M)	12	80.19	6.68	9.870**	2.00
Galad	40	27.07	0.68		
Total	59	296.42			

*) Transformasi akar
KK = 19.10 %

** = Berbeda Sangat nyata
* = Berbeda nyata
ns = Berbeda tidak nyata

Lampiran 1c. Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu keenam

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Transformasi akar
		I	II	III			
1	M1I1	120.15	73.20	86.26	279.61	93.20	9.65
2	M1I2	69.11	94.84	96.06	260.01	86.67	9.31
3	M1I3	105.86	88.71	96.88	291.45	97.15	9.86
4	M1I4	112.80	145.47	71.97	330.24	110.08	10.49
5	M2I1	132.40	70.34	87.90	290.64	96.88	9.84
6	M2I2	124.64	56.05	113.62	294.31	98.10	9.90
7	M2I3	74.42	126.28	103.82	304.52	101.51	10.08
8	M2I4	71.97	154.86	63.40	290.23	96.74	9.84
9	M3I1	103.82	100.15	129.13	333.10	111.03	10.54
10	M3I2	66.26	111.58	107.09	284.93	94.98	9.75
11	M3I3	99.33	82.59	118.93	300.85	100.28	10.01
12	M3I4	69.11	99.74	87.90	256.75	85.58	9.25
13	M4I1	100.96	138.12	120.97	360.05	120.02	10.96
14	M4I2	153.63	127.09	94.02	374.74	124.91	11.18
15	M4I3	103.82	105.04	73.20	282.06	94.02	9.70
16	M4I4	129.54	97.29	149.55	376.38	125.46	11.20
17	M5I1	94.02	85.45	107.09	286.56	95.52	9.77
18	M5I2	149.55	160.17	159.35	469.07	156.36	12.50
19	M5I3	146.69	102.19	77.28	326.16	108.72	10.43
20	M5I4	99.74	74.01	77.28	251.03	83.68	9.15
Jumlah		2127.82	2093.17	2021.70	6242.69	2080.90	203.40

ANOVA*

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	19	37.69	1.98	1.22 ^{ns}	1.22
Isolat (I)	3	2.88	0.96	0.59 ^{ns}	2.84
Mollase (M)	4	8.89	2.24	1.38 ^{ns}	2.61
Interaksi (I X M)	12	25.84	2.15	1.33 ^{ns}	2.00
Galad	40	64.84	1.62		
Total	59	102.53			

*) Transformasi akar
KK = 12.59 %

** = Berbeda Sangat nyata
* = Berbeda nyata
ns = Berbeda tidak nyata

Lampiran 1d. Analisis P-larut (ppm) pada inkubasi minggu kedelapan

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Transformasi akar
		I	II	III			
1	M1I1	63.43	87.11	65.25	215.79	71.93	8.48
2	M1I2	65.25	108.96	114.43	288.64	96.21	9.81
3	M1I3	72.53	65.25	48.86	186.64	62.21	7.89
4	M1I4	45.21	67.07	70.71	182.99	61.00	7.81
5	M2I1	87.11	65.25	59.78	212.14	70.71	8.41
6	M2I2	98.04	65.25	96.21	259.50	86.50	9.30
7	M2I3	76.18	54.32	59.78	190.28	63.43	7.96
8	M2I4	68.89	74.36	78.00	221.25	73.75	8.59
9	M3I1	81.64	123.54	87.11	292.29	97.43	9.87
10	M3I2	112.61	65.25	63.43	241.29	80.43	8.97
11	M3I3	96.21	107.14	90.75	294.10	98.03	9.90
12	M3I4	72.53	76.18	74.36	223.07	74.36	8.62
13	M4I1	110.79	92.57	90.75	294.11	98.04	9.90
14	M4I2	138.11	90.75	141.75	370.61	123.54	11.11
15	M4I3	134.47	114.43	108.96	357.86	119.29	10.92
16	M4I4	70.71	68.89	74.36	213.96	71.32	8.45
17	M5I1	154.50	59.78	129.00	343.28	114.43	10.70
18	M5I2	145.39	147.22	163.61	456.22	152.07	12.33
19	M5I3	83.46	76.18	78.00	237.64	79.21	8.90
20	M5I4	56.14	125.36	76.18	257.68	85.89	9.27
Jumlah		1833.20	1734.86	1771.28	5339.34	1779.78	187.19

ANOVA*

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	19	82.7	4.32	3.85*	1.22
Isolat (I)	3	23.73	7.91	7.05**	2.84
Mollase (M)	4	32.75	8.19	7.29**	2.61
Interaksi (I X M)	12	25.59	2.13	1.90 ^{ns}	2.00
Galad	40	44.89	1.12		
Total	59	126.97			

*) Transformasi akar
KK = 11.37 %

** = Berbeda Sangat nyata
* = Berbeda nyata
ns = Berbeda tidak nyata

Lampiran 1e. Fosfat terlarut (ppm) selama waktu inkubasi

No.	Perlakuan	Inkubasi minggu ke-				Jumlah	Rerata	Transformasi akar
		2	4	6	8			
1	M1I1	38.79	81.59	93.20	71.93	285.51	71.38	8.45
2	M1I2	36.21	64.79	86.67	96.21	283.88	70.97	8.42
3	M1I3	29.44	58.17	97.15	62.21	246.98	61.75	7.86
4	M1I4	21.93	78.87	110.08	61.00	271.88	67.97	8.24
5	M2I1	63.10	122.83	96.88	70.71	353.52	88.38	9.40
6	M2I2	56.39	182.39	98.10	86.50	423.38	105.85	10.29
7	M2I3	38.73	79.39	101.51	63.43	283.05	70.76	8.41
8	M2I4	26.40	70.05	96.74	73.75	266.95	66.74	8.17
9	M3I1	43.03	156.94	111.03	97.43	408.43	102.11	10.10
10	M3I2	48.59	165.76	94.98	80.43	389.76	97.44	9.87
11	M3I3	23.14	73.44	100.28	98.03	294.90	73.72	8.59
12	M3I4	37.24	73.95	85.58	74.36	271.13	67.78	8.23
13	M4I1	62.35	195.97	120.02	98.04	476.37	119.09	14.11
14	M4I2	27.32	175.94	124.91	123.54	451.71	112.93	10.63
15	M4I3	24.22	83.63	94.02	119.29	321.16	80.29	8.96
16	M4I4	27.72	64.79	125.46	71.32	289.29	72.32	8.50
17	M5I1	60.17	76.50	95.52	114.43	346.62	86.66	9.31
18	M5I2	23.83	63.09	156.36	152.07	395.35	98.84	9.94
19	M5I3	23.88	68.52	108.72	79.21	280.34	70.09	8.37
20	M5I4	26.46	67.84	83.68	85.89	263.88	65.97	8.12
Jumlah		738.95	2004.48	2080.90	1779.78	6604.10	1651.02	183.99

ANOVA*

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	19	60.9515	3.208	1.97 ^{ns}	1.97
Inkubasi	3	222.241	74.081	45.56 ^{**}	2.72
Galad	57	92.6769	1.6259		
Total	79	375.87			

*) Transformasi akar
KK = 14.45 %

** = Berbeda Sangat nyata
* = Berbeda nyata
ns = Berbeda tidak nyata

Lampiran 1f. Pengaruh isolat terhadap rata-rata P-larut (ppm) pada media molase selama inkubasi

Jenis Isolat	Inkubasi minggu ke-			
	2	4	6	8
<i>Pseudomonas putida</i>	53.49	126.77	103.33	90.51
<i>Pseudomonas aerogenusa</i>	38.47	130.40	112.20	107.75
TP.4	27.88	72.63	100.34	84.43
<i>Chromobacterium violaceum</i>	27.95	71.10	100.31	73.26
Jumlah	147.79	400.90	416.18	355.96

Data rata-rata hasil Transformasi akar

Jenis Isolat	Inkubasi minggu ke-			
	2	4	6	8
<i>Pseudomonas putida</i>	7.22	11.04	10.11	9.41
<i>Pseudomonas aerogenusa</i>	6.07	11.10	10.47	10.26
TP.4	5.22	8.49	9.97	9.06
<i>Chromobacterium violaceum</i>	5.19	8.42	9.91	8.51
Jumlah	23.70	39.05	40.46	37.24

Lampiran 2a. Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu kedua

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah (10^5)	Rerata (10^5)
		I (10^5)	II (10^5)	III (10^5)		
1	M1I1	0.1	0.3	0.3	0.7	0.2
2	M1I2	1.5	9.7	0.8	12	4.0
3	M1I3	0.7	0.8	0.7	2.2	0.7
4	M1I4	0.4	0.3	0.4	1.1	0.4
5	M2I1	1.6	1.7	1.7	5.0	1.7
6	M2I2	1.5	1.0	1.4	3.8	1.3
7	M2I3	1.1	1.0	3.3	5.5	1.8
8	M2I4	0.1	0.2	0.2	0.5	0.2
9	M3I1	0.3	0.3	0.7	1.3	0.4
10	M3I2	2.5	2.7	1.7	6.9	2.3
11	M3I3	0.3	0.5	0.7	1.4	0.5
12	M3I4	0.4	0.4	0.2	1.0	0.4
13	M4I1	1.5	1.1	3.8	6.5	2.2
14	M4I2	2.2	2.6	1.6	6.4	2.1
15	M4I3	2.5	1.1	1.6	5.3	1.8
16	M4I4	0.9	0.3	0.4	1.6	0.5
17	M5I1	1.7	3.0	2.8	7.5	2.5
18	M5I2	1.5	2.8	3.0	7.2	2.4
19	M5I3	1.0	1.5	1.5	4.1	1.4
20	M5I4	1.6	1.7	0.1	3.5	1.2
Jumlah		23	33	27	83	28

Lampiran 2b. Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu keempat

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah (10^8)	Rerata (10^8)
		I (10^8)	II (10^8)	III (10^8)		
1	M1I1	0.5	1.4	0.9	2.8	0.9
2	M1I2	1.4	2.2	2.6	6.2	2.1
3	M1I3	1.4	1.7	1.4	4.6	1.5
4	M1I4	0.7	0.8	0.7	2.1	0.7
5	M2I1	2.1	1.0	0.1	3.2	1.1
6	M2I2	0.3	0.6	0.8	1.7	0.6
7	M2I3	3.1	0.9	0.9	4.9	1.6
8	M2I4	0.7	0.7	1.3	2.7	0.9
9	M3I1	0.4	0.4	1.3	2.1	0.7
10	M3I2	1.6	5.6	2.6	9.8	3.3
11	M3I3	2.3	1.5	1.4	5.1	1.7
12	M3I4	0.6	0.4	0.9	1.9	0.6
13	M4I1	1.5	0.8	1.2	3.4	1.1
14	M4I2	2.0	0.7	1.5	4.2	1.4
15	M4I3	1.3	0.4	1.0	2.7	0.9
16	M4I4	0.6	1.0	0.7	2.2	0.8
17	M5I1	0.2	0.2	0.7	1.1	0.4
18	M5I2	1.5	1.9	1.1	4.5	1.5
19	M5I3	1.2	1.1	0.3	2.7	0.9
20	M5I4	0.3	0.3	0.3	0.9	0.3
Jumlah		23	24	22	69	23

Lampiran 2c. Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu keenam

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah (10 ⁹)	Rerata (10 ⁹)
		I (10 ⁹)	II (10 ⁹)	III (10 ⁹)		
1	M1I1	1.3	2.9	2.4	6.6	2.2
2	M1I2	3.0	3.0	3.0	9.0	3.0
3	M1I3	2.9	2.6	2.2	7.7	2.6
4	M1I4	2.9	2.9	2.3	8.1	2.7
5	M2I1	1.2	0.8	1.2	3.2	1.1
6	M2I2	3.0	2.9	3.0	8.8	2.9
7	M2I3	2.7	2.9	2.9	8.5	2.8
8	M2I4	1.5	2.6	2.7	6.8	2.3
9	M3I1	0.7	0.7	2.8	4.2	1.4
10	M3I2	1.9	2.0	3.0	6.8	2.3
11	M3I3	1.7	3.0	2.8	3.2	1.1
12	M3I4	2.3	1.3	0.4	3.9	1.3
13	M4I1	2.2	1.6	2.7	6.5	2.2
14	M4I2	3.0	2.2	9.6	1.5	4.9
15	M4I3	3.0	1.2	3.0	7.2	2.4
16	M4I4	0.3	1.6	1.9	3.8	1.3
17	M5I1	2.8	3.0	0.5	6.3	2.1
18	M5I2	2.9	3.0	3.6	9.5	3.2
19	M5I3	3.9	1.2	2.9	8.0	2.7
20	M5I4	2.1	0.9	1.5	4.5	1.5
Jumlah		45	42	79	167	55

Lampiran 2d. Populasi bakteri pelarut fosfat pada inkubasi minggu kedelapan

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah (10^{11})	Rerata (10^{11})
		I (10^{11})	II (10^{11})	III (10^{11})		
1	M1I1	3.0	2.9	1.6	7.6	2.5
2	M1I2	3.0	3.0	2.8	8.8	2.9
3	M1I3	2.7	0.3	1.5	4.5	1.5
4	M1I4	1.4	2.5	1.9	5.8	1.9
5	M2I1	0.1	0.7	3.0	3.9	1.3
6	M2I2	3.0	3.0	2.9	8.9	3.0
7	M2I3	3.0	1.8	0.8	5.6	1.9
8	M2I4	2.6	2.9	2.1	7.6	2.5
9	M3I1	2.0	1.0	1.2	4.1	1.4
10	M3I2	2.1	2.0	2.2	6.3	2.1
11	M3I3	1.9	0.8	1.2	3.9	1.3
12	M3I4	1.8	2.1	1.9	5.8	1.9
13	M4I1	3.0	2.6	1.4	7.0	2.3
14	M4I2	3.0	2.9	1.8	7.7	2.6
15	M4I3	2.2	2.7	1.9	6.7	2.2
16	M4I4	3.1	1.1	0.9	5.1	1.7
17	M5I1	1.5	1.3	1.7	4.5	1.5
18	M5I2	2.7	2.1	0.7	5.5	1.8
19	M5I3	0.9	0.8	0.8	2.6	0.9
20	M5I4	0.9	0.1	2.1	4.1	1.4
Jumlah		44	38	34	120	39

Lampiran 2e. Populasi rata-rata dari setiap isolat selama waktu inkubasi

Jenis isolat	Inkubasi minggu ke-			
	2	4	6	8
<i>Pseudomonas putida</i>	1.4×10^5	0.8×10^8	1.8×10^9	1.8×10^{11}
<i>Pseudomonas aerogenusa</i>	2.4×10^5	1.8×10^8	3.3×10^9	2.5×10^{11}
TP. 4	1.2×10^5	1.3×10^8	4.2×10^9	1.5×10^{11}
<i>Chromobacterium violaceum</i>	5.1×10^5	0.7×10^8	1.8×10^9	1.9×10^{11}

Lampiran 3a. Pengamatan P-tersedia*tanah (ppm) pada inkubasi minggu kedua

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
		I	II	III		
1	M4I1.1	32.55	34.95	34.15	101.66	33.89
2	M4I1.2	31.35	36.15	33.75	101.26	33.75
3	M4I1.3	30.37	31.17	31.97	93.51	31.17
4	M4I2.1	32.36	36.36	25.55	94.26	31.42
5	M4I2.2	28.95	28.55	37.36	94.86	31.62
6	M4I2.3	30.35	28.74	29.54	88.63	29.54
7	M5I1.1	31.56	32.76	28.75	93.07	31.02
8	M5I1.2	34.57	40.58	16.95	92.09	30.70
9	M5I1.3	28.55	30.15	28.14	86.84	28.95
10	M5I2.1	30.15	32.55	36.15	98.85	32.95
11	M5I2.2	27.34	28.94	27.74	84.03	28.01
12	M5I2.3	26.15	27.35	26.95	80.45	26.82
13	Kontrol	24.14	24.14	23.34	71.62	23.87
Jumlah		388.37	412.40	380.36	1181.13	393.71

Lampiran 3b. Pengamatan P-tersedia tanah (ppm) pada inkubasi minggu keempat

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
		I	II	III		
1	M4I1.1	84.69	93.15	88.16	265.99	88.66
2	M4I1.2	88.92	88.07	87.46	264.45	88.15
3	M4I1.3	71.12	69.43	71.96	212.51	70.84
4	M4I2.1	80.93	86.85	86.01	253.80	84.60
5	M4I2.2	85.67	78.91	66.22	230.80	76.93
6	M4I2.3	76.39	78.92	85.69	241.00	80.33
7	M5I1.1	79.83	81.52	80.91	242.25	80.75
8	M5I1.2	74.87	72.33	82.18	229.39	76.46
9	M5I1.3	85.60	87.54	88.13	261.27	87.09
10	M5I2.1	82.11	79.03	77.42	238.56	79.52
11	M5I2.2	79.17	91.01	76.09	246.27	82.09
12	M5I2.3	71.72	77.49	72.41	221.62	73.87
13	Kontrol	64.70	57.93	65.55	188.18	62.73
Jumlah		1025.71	1042.17	1028.19	3096.07	1032.02



Lampiran 3c. Rata-rata P-tersedia tanah (ppm) dalam kombinasi perlakuan pada inkubasi minggu kedua.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	I	II	III		
M4I1	31.42	34.09	33.29	98.81	32.94
M4I2	30.55	31.22	30.82	92.58	30.86
M5I1	31.56	34.50	24.62	90.67	30.22
M5I2	27.88	29.61	30.28	87.78	29.26
Kontrol	24.14	24.14	23.34	71.61	23.87
Jumlah	145.55	153.56	142.34	441.45	147.15

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	4	137.61	34.4	5.84*	3,48
Galad	10	58.95	5.89		
Total	14	196.55			

KK = 8.25 %

ns = Berbeda tidak nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda Sangat nyata

Lampiran 3d. Rata-rata P-tersedia tanah (ppm) dalam kombinasi perlakuan pada inkubasi minggu keempat.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	I	II	III		
M4I1	81.57	83.55	82.53	247.65	82.55
M4I2	81.00	81.56	79.31	241.86	80.62
M5I1	80.10	80.46	83.74	244.30	81.43
M5I2	77.66	82.51	75.31	235.48	78.49
Kontrol	64.70	57.93	65.55	188.18	62.73
Jumlah	385.04	386.02	386.43	1157.48	385.83

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	4	808.22	202.05	27.08**	3,48
Galad	10	74.59	7.46		
Total	14	882.81			

KK = 3.54 %

ns = Berbeda tidak nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda Sangat nyata

Lampiran 3e. Pengamatan rata-rata P-tersedia tanah (ppm) selama waktu inkubasi

Perlakuan	Waktu inkubasi		Total	Rerata
	2 Minggu	4 Minggu		
M4I1	32.94	82.55	115.49	76.99
M4I2	30.86	80.62	111.48	74.32
M5I1	30.22	81.43	111.66	74.44
M5I2	29.26	78.49	107.75	71.84
Kontrol	23.87	62.73	86.60	57.73
Jumlah	147.15	385.83	532.98	355.32

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	4	264.83	66.21	5.26 ^{ns}	6.39
Inkubasi	1	5696.34	5696.34	452.59**	7,71
Galad	4	50.34	12.58		
Total	9	6011.52			

KK = 6.66 %

ns = Berbeda tidak nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda Sangat nyata

Lampiran 4a. Pengamatan pH tanah pada inkubasi minggu kedua.

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
		I	II	III		
1	M4I1.1	6.71	6.73	6.71	20.15	6.72
2	M4I1.2	6.89	6.95	6.84	20.68	6.89
3	M4I1.3	7.03	7.04	6.88	20.95	6.98
4	M4I2.1	6.77	6.81	6.78	20.36	6.79
5	M4I2.2	6.80	6.86	6.69	20.35	6.78
6	M4I2.3	6.84	6.69	6.74	20.27	6.76
7	M5I1.1	7.01	6.68	6.76	20.45	6.82
8	M5I1.2	6.91	6.89	6.94	20.74	6.91
9	M5I1.3	6.56	6.40	6.74	19.70	6.57
10	M5I2.1	6.46	6.89	6.84	20.19	6.73
11	M5I2.2	6.70	6.69	6.76	20.15	6.72
12	M5I2.3	6.81	6.82	6.82	20.45	6.82
13	Kontrol	6.87	6.82	6.85	20.54	6.85
Jumlah		88.36	88.27	88.35	264.98	88.33

Lampiran 4b. Pengamatan pH tanah pada inkubasi minggu keempat.

No.	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
		I	II	III		
1	M4I1.1	6.40	6.38	6.40	19.18	6.39
2	M4I1.2	6.29	6.43	6.38	19.10	6.37
3	M4I1.3	6.49	6.50	6.66	19.65	6.55
4	M4I2.1	6.36	6.36	6.33	19.05	6.35
5	M4I2.2	6.42	6.36	6.26	19.04	6.35
6	M4I2.3	6.33	6.31	6.27	18.91	6.30
7	M5I1.1	6.33	6.40	6.36	19.09	6.36
8	M5I1.2	6.40	6.36	6.45	19.21	6.40
9	M5I1.3	6.38	5.74	6.31	18.43	6.14
10	M5I2.1	6.20	6.36	6.40	18.96	6.32
11	M5I2.2	6.16	6.24	6.19	18.59	6.20
12	M5I2.3	6.36	6.30	6.35	19.01	6.34
13	Kontrol	6.31	6.12	6.24	18.67	6.22
Jumlah		82.43	81.86	82.60	246.89	82.30

Lampiran 4c. Rata-rata pH tanah dalam kombinasi perlakuan pada inkubasi minggu kedua.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	I	II	III		
M4I1	6.88	6.91	6.81	20.59	6.86
M4I2	6.80	6.79	6.74	20.33	6.78
M5I1	6.83	6.66	6.81	20.30	6.77
M5I2	6.66	6.80	6.81	20.26	6.75
Kontrol	6.87	6.82	6.85	20.54	6.85
Jumlah	34.03	33.97	34.02	102.02	34.01

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	4	0,0303	0,0076	1,899 ^{ns}	3,48
Galad	10	0,0399	0,004		
Total	14	0,0702			

KK = 0.93 %

ns = Berbeda tidak nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda Sangat nyata

Lampiran 4d. Rata-rata pH tanah dalam kombinasi perlakuan pada inkubasi minggu keempat.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	I	II	III		
M4I1	6.39	6.44	6.48	19.31	6.44
M4I2	6.37	6.34	6.29	19.00	6.33
M5I1	6.37	6.17	6.37	18.91	6.30
M5I2	6.24	6.30	6.31	18.85	6.28
Kontrol	6.51	6.52	6.54	19.57	6.52
Jumlah	31.88	31.77	31.99	95.64	31.88

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	4	0,1232	0,0308	8,249**	3,48
Galad	10	0,0373	0,0037		
Total	14	0,1605			

KK = 0.96 %

ns = Berbeda tidak nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda Sangat nyata

Lampiran 4e. Pengamatan rata-rata pH tanah selama waktu inkubasi

Perlakuan	Waktu inkubasi		Total	Rerata
	2 Minggu	4 Minggu		
M4I1	6.86	6.44	13.3	6.65
M4I2	6.78	6.33	13.11	6.55
M5I1	6.77	6.30	13.07	6.53
M5I2	6.75	6.28	13.03	6.52
Kontrol	6.85	6.22	13.07	6.69
Jumlah	34.01	31.57	65.58	32.94

ANOVA

SK	DB	JK	KT	F-hitung	F.05
Perlakuan	4	0,045	0,011	6,589 ^{ns}	6,39
Inkubasi	1	0,458	0,458	268,263**	7,71
Galad	4	0,007	0,002		
Total	9	0,509			

KK = 0.63 %

ns = Berbeda tidak nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda Sangat nyata

Lampiran 5. Uraian koloni dan Kecepatan Tumbuh Isolat pada media pikovskaya Padat

Jenis Isolat	Diameter (mm) halo zone hari ke-							Uraian koloni
	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Pseudomonas putida</i>	-	1.6	4	4.5	8	10	13	Halo zone jelas, bentuk circular, permukaan cembung, tepian rata koloni berwarna kuning terang.
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-	-	3	4	5	6.5	8	Halo zone jelas, bentuk irregular, permukaan rata, tepian rata, koloni berwarna putih susu keruh.
TP 4	-	-	3	4	4	5.5	7	Halo zone jelas, bentuk irregular, tepian tidak rata, koloni berwarna putih susu.
<i>Chromobacterium violaceum</i>	-	-	2.5	3.5	6	8	10	Halo zone jelas, bentuk circular terpusat, permukaan cembung, tepian rata, koloni berwarna putih keruh

Lampiran 6. Analisa Tanah Pendahuluan

Parameter	Nilai	Kriteria*
pH : H ₂ O	7,14	Netral
KCl	5,73	Agak masam
C-organik (%)	0,54	Sangat rendah
N-Total (%)	0,08	Sangat rendah
P-Tersedia (ppm)	2,46	Sangat rendah
P-Total (mg/100g tanah)	192,70	Sangat tinggi
Basa-basa (me/100 g tanah) :		
Ca	6,32	Sedang
Mg	8,75	Sangat tinggi
K	0,12	Rendah
Na	0,24	Rendah
KTK	32,94	Tinggi
KB (%)	46,86	Tinggi
Tekstur (%) :		
pasir	23,55	
debu	44,18	
liat	32,27	
Tekstur tanah	Clay Loam	

Kriteria berdasarkan penilaian karakteristik tanah PPT (1983)

Lampiran 7. Komposisi media selektif pikovskaya

Komposisi	Komposisi dalam 1 liter aquades
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5.0 g
Glukosa	10.0 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.5 g
KCl	0.2 g
$\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.1 g
MnSO_4	Sedikit
FeSO_4	Sedikit
Ekstrak ragi	0.5 g
Agar	15.0 g
pH	7 g

Sumber : Subba Rao (1982)

Lampiran 8. Penilaian karakteristik tanah (PPT, 1983)

Sifat tanah	Sangat rendah	Rendah	Sedang	Tinggi	Sgt tinggi	
C (%)	< 1,00	1,0 - 2,0	2,01 - 3,0	3,01 - 5,0	> 5,0	
N (%)	< 0,10	0,1 - 0,2	0,21 - 0,5	0,51 - 0,75	> 0,75	
C/N	< 5	5 - 10	11 - 15	16 - 25	> 25	
KTK (me/100g tanah)	< 5	5 - 16	17 - 24	25 - 40	> 40	
@ DHL (mS/cm)	< 0,1	0,1 - 0,25	0,25 - 0,75	0,75 - 2,25	> 2,25	
@ SAR	-	0 - 10	10 - 18	18 - 26	> 26	
P2O5 Bray-2 ppm	< 10	10 - 20	21 - 40	41 - 60	> 60	
K	< 0,1	0,1 - 0,2	0,3 - 0,5	0,6 - 1,0	> 1,0	
Ca	< 2	2 - 5	6 - 10	11 - 20	> 20	
Mg	< 0,4	0,4 - 1,0	1,1 - 2,0	2,1 - 8,0	> 8,0	
Na	< 0,1	0,1 - 0,3	0,4 - 0,7	0,8 - 1,0	> 1,0	
❖ Zn	-	< 0,5	0,5 - 1,0	> 1,0	-	
❖ Mn	-	< 1,0	1,0	> 1,0	-	
❖ Cu	-	< 0,2	0,2	> 0,2	-	
❖ Fe	-	< 2,5	2,5 - 4,5	> 4,5	-	
	Sangat masam	Masam	Agak masam	Netral	Agak alkalis	Alkalis
pH H ₂ O	< 4,5	4,5 - 5,5	5,6 - 6,5	6,6 - 7,5	7,6 - 8,5	> 8,5

Keterangan :

@ = Menurut USDA (1954)

❖ = Menurut Viets and Lindsay (1973)

Lampiran 9. Komposisi pereaksi PB dan PC untuk analisis P-larut

Pereaksi	Komposisi dan cara pembuatan
PB	<p>A = 3.8 g <i>Amonium heptamolybdat</i> larutkan dalam 300 ml H₂O suhu 60°C.</p> <p>B = 5 g H₃BO₃ di larutkan dalam 500 ml H₂O dan tambahkan 75 ml HCl pekat.</p> <p>Campurkan larutan A dan B, tambahkan H₂O sampai 1 liter</p>
PC	<p>X = 2.5 g <i>1-amino-2-naphtol sulfanic acid</i>, 5 g Na₂SO₃ dan 146 g Na₂S₂O₅ campurkan dan giling bersamaan.</p> <p>Y = 8 g serbuk X larutkan dalam 50 ml H₂O panas dan biarkan 12 - 16 jam sebelum digunakan. Simpan larutan dalam botol yang ditutup rapat.</p>