

Seleksi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) untuk Mengembangkan Inokulum Efektif

Tamad¹⁾, Bostang Radjagukguk²⁾, Eko Hanudin²⁾, dan Jaka Widada²⁾

¹⁾PS Agroteknologi, Faperta, UNSOED, Purwokerto/S3 Ilmu Tanah
Program Pasca Sarjana, Faperta, UGM, Yogyakarta

²⁾Dosen Program Pasca Sarjana, Faperta, UGM, Yogyakarta
Email: tamad_1965@yahoo.com

Diterima Desember 2010 disetujui untuk diterbitkan Mei 2011

Abstract

The phosphate solubilizing bacteria (PSB) can release insoluble phosphate in soil by anorganik-P dissolution, organic-P mineralization, and blocking of soil adsorption site. The selection of effective PSB, therefore, is urgently required to study the effectiveness of PSB. The research was arranged to determine: 1) P-solubilization or P-mineralization, 2) physiology, and 3) PSB inoculant improvement. The research was arranged in complete random design, with PSB isolate as treatment. The variables were: soluble-P, mineralize-P, adsorption-P, pH, PSB population, phosphatase and phytase activity. The result showed that PSB isolate 1 = *Pseudomonas trivialis*, 5 = *Pseudomonas putida*, and 9 = *Pseudomonas fluorescens*, were the best in P solubilization or P mineralization. Solubilization efficiency of isolate were 1 = 291%, 5 = 280%, and 9 = 347%. Five days incubation (the end of log phase or early of stationary phase) was the best time to culture harvest for PSB inoculant formulate. Within twelve months age of culture, population stability of PSB inoculant decreased between 81 and 88%, and P solubilizing stability PSB inoculant decrease between 65 and 81%. Decreasing of P solubility to P source types of PSB inoculant was AIP > FeP > PR > CaP.

Key words: PSB, inoculant, organic acid, phosphatase, phytase

Abstrak

Bakteri pelarut fosfat (BPF) mampu melepaskan fosfat yang tidak larut dalam tanah melalui pelarutan P-anorganik, pemineralan P-organik, dan pemblokian loka jerapan. Oleh karena itu, seleksi isolat BPF efektif merupakan langkah awal penting untuk mengembangkan inokulum pelarut fosfat. Suatu penelitian disusun untuk menentukan: 1) pelarutan atau pemineralan P, 2) fisiologi, dan 3) pengembangan inokulum BPF. Ketiga penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap, isolat BPF sebagai perlakuan. Variabel pengamatan meliputi P-larut, P-termineral, P-terjerap, pH, populasi BPF, dan aktivitas fosfatase dan fitase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa BPF isolat 1 = *Pseudomonas trivialis*, 5 = *Pseudomonas putida*, dan 9 = *Pseudomonas fluorescens*, ketiganya gram negatif, terbaik melarutkan atau memineralkan P. Efisiensi pelarutan P isolat 1 = 291%, isolat 5 = 280%, dan isolat 9 = 347%. Hari ke-5 inkubasi (akhir fase log atau awal fase stationer) merupakan waktu terbaik pemanenan kultur BPF untuk dijadikan inokulum. Setelah dua belas bulan, stabilitas populasi inokulum BPF menurun antara 81 dan 88%, dan stabilitas pelarutan menurun antara 65 dan 81%. Penurunan daya larut terhadap sumber P inokulum BPF adalah AIP > FeP > BF > CaP.

Kata kunci: BPF, inokulum, asam organik, fosfatase, fitase

Pendahuluan

Ketersediaan P dalam tanah ditentukan oleh kelarutan P yang dipengaruhi oleh jenis sumber P dan keberadaan agen penjerap P (anorganik dan organik) dalam tanah. Cahyono (2002) melaporkan bahwa besarnya P terjerap (occluded) di dalam tanah akibat pemberian pupuk P sintetis yang belum dimanfaatkan oleh tanaman pada tanah sawah mencapai 50 % dari dosis pemberian pupuk P. Dari total P tanah, 1-5 % yang tersedia untuk tanaman (Arcand dan Schneider, 2006)

Fosfor dalam tanah dapat ditingkatkan kelarutannya dengan rekayasa biotis menggunakan BPF (Miyasaka dan Habte, 2001). Hedyati (1993) melaporkan bahwa 10-50 % mikrobia tanah dapat melarutkan fosfat. Mikrobia tanah yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dari genus bakteri adalah *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Escherichia* (Subba Rao, 1982; Ruijter *et al.*, 1999; Subba Rao, 1999).

BPF dapat meningkatkan ketersediaan P melalui: 1) peng-asaman (sitrat, malat, oksalat/yaitu asam-asam organik

dengan bobot molekul rendah), 2) kelasi oleh anion asam organik yang mengandung grup hidroksoil dan karboksil terhadap kation Al, Fe dan Ca, 3) reaksi pertukaran ligan oleh anion organik terhadap fosfat pada Al, Fe dan Ca, sehingga fosfat bebas, 4) pemineralan enzimatik P organik dan 5) mengisi loka jerapan koloid oleh asam organik (Arcand dan Schneider, 2006).

Lal (2002) menyatakan bahwa, BPF menghasilkan asam organik meliputi: monokarboksilat (asam asetat dan format), hidroksi monokarboksilat (asam laktat, glukonat dan glikolat), dikarboksilat (asam oksalat dan suksinat), hidroksi dikarboksilat (asam malat dan maleat) dan hidroksi trikarboksilat (asam sitrat). Asam organik yang mempunyai kemampuan kuat dalam melarutkan fosfat adalah asam sitrat, kemudian diikuti oleh asam malonat, tartrat, asetat, malat dan suksinat (Subba Rao, 1999; Solano *et al.*, 2008).

Violante *et al.*, (2002) menyatakan bahwa, ligan organik membentuk kompleks organo mineral dengan Al-OH atau Fe-OH yang mengendap. Ligan organik (sitrat, malat, oksalat dan fumarat) berkompetisi kuat dengan fosfat untuk menduduki loka jerapan membentuk ikatan kompleks inner-sphere. Selain itu, ligan organik juga mampu mengkelat (Al, Fe, Ca) agen pengikat fosfat (Fankem *et al.*, 2006). Peningkatan P tersedia juga akibat adanya fosfatase dan fitase yang diproduksi oleh BPF (Achal *et al.*, 2007).

Berdasarkan uji *in vitro* 10 isolat BPF Ajibarang mempunyai kegiatan fosfatase 20-30 mg fosfat/mL/jam dan menghasilkan sitrat, malonat, tartrat, asetat dan malat mampu melarutkan P BF 10-20 mg P/L, dan Ca-P sebesar 150-235 mg P/L selama empat hari (Tamad *et al.*, 2007). BPF meningkatkan serapan P dan hasil kedelai pada Ultisol Tangerang Banyumas 50 % (Tamad dan Maryanto, 2010). Demikian juga, inokulasi BPF pada Vertisol Jatibarang Brebes meningkatkan serapan P dan bobot umbi bawang merah 10 % (Tamad dan Mearita, 2005).

BPF potensial untuk dijadikan inokulum. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat BPF efektif yang akan dikembangkan menjadi inokulum pelarut fosfat. Manfaat penelitian ini ialah sebagai pedoman pengembangan BPF dan inokulumnya untuk meningkatkan

ketersediaan P dalam tanah.

Materi dan metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Tanah dan Laboratorium Riset Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Penelitian dilakukan mulai Januari 2010 sampai April 2011.

A. Uji pelarutan/pemineralan P oleh BPF

Satu mL sepuluh isolat BPF populasi 10^8 Unit Pembentuk Koloni (UPK)/mL diinokulasikan dalam 100 mL pikovskaya padat dan cair dengan sumber P $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ atau AlPO_4 atau FePO_4 atau BF atau pNPP (para-nitrophenyl phosphate) atau Na-fitat diinkubasikan seminggu (1 Ml). Pelarutan P pada Pikovskaya (Oxoid) padat dicirikan adanya zona pelarutan P (zona jernih). P-terlarut pada Pikovskaya cair ditentukan dengan pewarnaan Amonium Vanado Molibdat (NVM) dan pembacaan spektrofotometer (UV-VIS UVmin-1240 Shimadzu) pada panjang gelombang 420 nm (BPT, 2005). Variabel yang diamati adalah: P-terlarut, indeks pelarutan ($\text{IP} = \text{ØH}/\text{ØK}$), efisiensi zona larut ($\text{EZL} = (\text{H-K})/\text{K}$), efisiensi pelarutan P ($\text{EPP} = (\text{P}-\text{P}_k)/\text{P}_k$), pH, dan populasi BPF.

B. Uji fisiologi BPF

1. Uji Aktivitas fosfatase dan fitase BPF

Ke dalam kultur BPF umur seminggu ditambahkan pNPP atau Na-fitat ($\text{C}_6\text{H}_{18}\text{P}_6\text{O}_{24} \cdot 12\text{Na} \cdot x\text{H}_2\text{O}$) sebanyak 5,0 g dan 2 g CaCl_2 per liter media pH 7,0 (Burns, 1978; Anas, 1989; Milko *et al.*, 2008). Setelah diinkubasikan selama 1 jam pada suhu ruang, kultur dibaca dengan spektrofotometer (UV-VIS UVmin-1240 Shimadzu) pada panjang gelombang 413 nm, dengan pewarnaan NVM (BPT, 2005). Aktivitas BPF dihentikan dengan penambahan 2 tetes kloroform. Aktivitas fosfatase atau fitase dinyatakan dalam mg fosfat/L/jam (Ullah dan Gibson, 1987; Ponmurugan dan Gopi, 2006).

2. Uji pelekatan dan adhesi BPF

Biji jagung direndam dalam etanol 70 % (v/v) selama 15 menit, kemudian dibilas dengan etanol 20 % (v/v) dan aquades steril dua kali. Biji jagung dihidrasi dengan direndam dalam aquades steril selama 16 jam. Sebobot 20 g biji jagung steril terhidrasi dimasukkan ke dalam tabung steril 50 ml, bagian bawah tabung ditutup. Kemudian,

ditambahkan 20 ml kultur BPF umur satu minggu dan diinkubasikan selama 1 jam. Populasi BPF pada kultur penampungan dari tabung ditentukan melalui hubungan antara OD (600 nm) dan UPK/mL. Nilai pelekatan merupakan persentase BPF yang melekat pada biji terhadap kontrol (Urgel *et al.*, 2000).

Satu biji jagung terhidrasi dan steril setelah diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang pada kultur BPF umur satu minggu, selanjutnya dikultur untuk menentukan populasi BPF yang menempel pada biji jagung tersebut. BPF yang melekat pada biji jagung adalah adhesi kualitatif (Urgel *et al.*, 2000). Selanjutnya biji jagung tersebut dibilas dengan aquades steril, dikultur untuk menentukan BPF (adhesi kuantitatif). Nilai adhesi merupakan persentase BPF yang tumbuh dari biji jagung antara uji adhesi kuantitatif dengan kualitatif (Urgel *et al.*, 2000).

3. Penentuan kurva tumbuh BPF

Satu mL isolat BPF terdeterminasi diinokulasikan pada 100 ml Pikovskaya cair, selanjutnya diinkubasikan selama sepuluh hari dengan penggojogan 100 rpm pada suhu ruang. Tiap 24 jam diambil 1 ml cuplikan untuk ditentukan populasinya dengan metode SPC (*standard plate count*). Data populasi BPF tiap 24 jam pengamatan dan waktu pengamatan (tiap 24 jam) dibuat kurva (Pepper dan Gerba, 2004).

C. Pengembangan inokulum BPF

Isolat BPF tunggal dan konsorsium (3 isolat) dengan populasi (10^8 UPK/mL) diinokulasikan sebanyak 10 mL/L atau kg pada media pembawa cair dan padat dan diinkubasikan selama satu bulan. Media

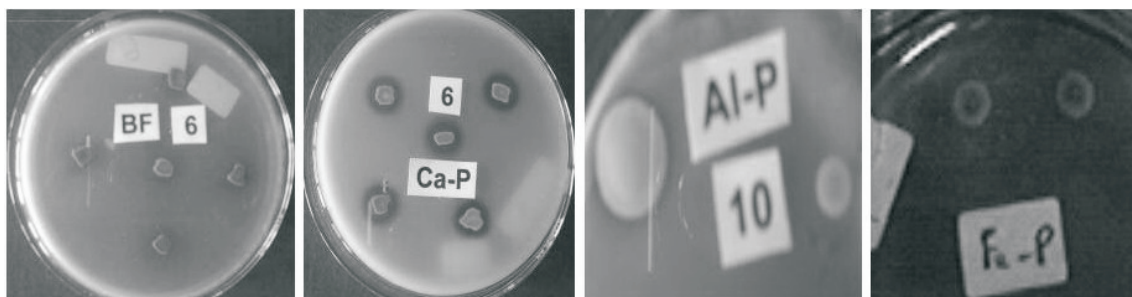
pembawa cair BPF adalah 20 % (v) molase dan 5 g/L ekstrak kedelai. Sedangkan, media pembawa padat BPF ialah campuran (100 mesh) steril 20 % abu sekam, 20 % dedak padi, 20 % onggok tapioka, 3,0 % asam asetat, 2,0 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5 % zeolit, dan 30 % H_2O (Tamad dan Maryanto, 2010). Setelah dua belas bulan penyimpanan, inokulum BPF ditentukan stabilitas populasi dan stabilitas kemampuan melarutkan P (Ca-P, Al-P, Fe-P, dan BF).

Analisis data

Data percobaan dianalisis ragam (ANOVA). Hasil analisis ragam yang berbeda nyata, dan sangat beda nyata dilanjutkan uji tengah (ANOM) *Duncans Multiple Range Test (DMRT)* pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$). Keterkaitan antar variabel diuji dengan korelasi dan regresi (Gomez dan Gomez, 1984).

Hasil dan pembahasan

BPF koleksi Laboratorium Tanah, Fakultas Pertanian, UNSOED, Purwokerto mampu tumbuh pada Pikovskaya dengan sumber P berbeda (Gambar 1). Adanya zona jernih sekitar koloni BPF pada Pikovskaya sebagai indikator kegiatan pelarutan fosfat (Subba Rao, 1982; Booker, *et al.*, 2004). BPF mampu melarutkan P, karena menurut Victoria *et al.* (2009) menghasilkan: 1) asam organik (sitrat, malat, oksalat, glukonat, dan asetat), ion H^+ dan HCO_3^- , dan 2) polisakarida. Fenotif pelarut mineral fosfat (Mps^+) gen *gabY* menghasilkan glukonat, 2-ketoglukonat dan/atau 2,5-diketoglukonat yang mampu melarutkan mineral fosfat (Khan *et al.*, 1995).



Gambar 1. Koloni, zona pelarutan P oleh BPF pada Pikovskaya satu minggu inkubasi (1 MI) dengan sumber P berbeda

Figure 1. Colony, solubilizing zone of P by PSB in Pikovskaya a week incubation (1 MI) with different P sources

Pelarutan P oleh BPF isolat 1, 5 dan 9 relatif lebih tinggi dibanding isolat lainnya (Tabel 1), sejalan dengan penurunan pH, populasi BPF, indeks pelarutan, efisiensi zona larut, efisiensi pelarutan P (Tabel 2), dan pengkolonian BPF (Tabel 3). Pelarutan P oleh BPF CaP > BF > FeP > AIP. P larut berkorelasi positif dengan IP (0,834), EP (0,708), populasi BPF (0,578), pelekatan (0,492), adhesi (0,527) dan berkorelasi negatif dengan pH (-0,428). $P\text{-larut} = 36,12 + 34,31 \text{ IP} + 0,37 \text{ EZL} - 4,63 \text{ pH} + 6,50$

Populasi; ($R^2 = 0,335$). Lal (2002) menyatakan bahwa, BPF banyak yang mampu melarutkan Ca-P, tetapi sedikit yang mampu melarutkan BF, Fe-P dan Al-P. Bolan *et al.* (1997) dan Subba Rao (1999) melaporkan bahwa asam malat, tartarat, oksalat, dan sitrat mampu melarutkan P dari P trikalsium fosfat yang tidak larut seperti batuan fosfat. Asam malat, tartrat, malonat, oksalat, dan sitrat mampu membebaskan ikatan AIP (Johnson dan Loeppert, 2006; Fankem *et al.*, 2008).

Tabel 1. Pelarutan P oleh BPF dalam Pikovskaya pada jenis sumber P (1 MI)

Table 1. Solubilizing of P by PSB in Pikovskaya in source of P (1 MI)

Perlakuan	BF	Ca-P	Al-P	Fe-P	Rataan
..... ppm P					
Kontrol	34,92 e	46,28 f	37,20 e	35,27 g	38,42 e
1 (Ja.b2)	151,94 cd	197,36 e	94,62 d	156,88 b	150,20 c
2 (Jt. b2)	129,28 d	240,68 d	111,95 c	74,20 e	139,03 d
3 (Uja. b1)	198,17 b	238,61 d	101,63 d	127,20 c	166,40 b
4 (Ktt. b2)	234,47 a	292,66 a	105,76 d	69,96 f	175,71 a
5 (Bt. b2)	156,09 cd	290,18 a	84,97 d	75,61 e	151,71 c
6 (Bt. b5)	165,17 c	264,39 b	125,56 ab	74,20 e	157,33 bc
7 (Pt. b2)	173,42 c	220,18 d	130,51 a	84,80 d	152,23 c
8 (Pa.b1)	170,53 c	225,62 d	122,26 b	77,03 e	148,86 cd
9 (Uka.b2)	170,12 c	204,70 de	112,36 c	195,04 a	170,56 a
10 (Uka.b1)	221,27 a	236,55 c	120,20 b	69,25 f	161,81 b

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada DMRT taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$).

Tabel 2. pH medium, populasi BPF, indeks pelarutan (IP), efisiensi zona larut (EZL), efisiensi pelarutan P (EPP), aktivitas fosfatase (Afo) dan fitase (Afi) BPF

Table 2. Medium pH, PSB population, solubilizing index (IP), solubilizing zone efficiency (SZE), P solubilizing efficiency (PSE), activity of phosphatase (PA) and Phytase (PhyA) of PSB

Perlakuan	pH	log UPK /mL	IP	EZL (%)	EPP (%)	Afo (mg Fosfat/ L/jam)	Afi (mg Fosfat/ L/jam)
1 (Ja.b2)	3,73 b	14,12 a	1,53 c	52,32 e	290,69 c	33,9 b	45,9 a
2 (Jt. b2)	3,88 b	13,90 a	1,51 c	50,94 e	250,87 d	39,7 b	12,7 c
3 (Uja. b1)	3,96 b	12,98 b	1,42 c	41,95 f	328,49 b	18,8 d	15,2 c
4 (Ktt. b2)	3,71 b	13,04 b	1,50 c	50,41 e	347,20 a	39,2 b	46,2 a
5 (Bt. b2)	3,90 b	13,87 a	1,49 c	79,33 d	279,62 cd	47,7 a	46,7 a
6 (Bt. b5)	4,05 a	13,49 ab	1,86 b	86,33 c	298,59 c	25,9 c	18,9 c
7 (Pt. b2)	3,81 b	12,95 b	1,91 b	91,31 c	291,49 c	25,3 c	12,4 c
8 (Pa.b1)	3,88 b	13,02 b	3,16 a	215,35 a	281,26 c	44,5 ab	28,3 b
9 (Uka.b2)	3,55 b	14,21 a	2,83 a	126,91 b	346,60 a	47,7 a	44,7 a
10 (Uka.b1)	3,62 b	13,54 ab	1,88 b	88,12 c	317,05 b	21,5 d	25,6 b

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada DMRT taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$). (kontrol: pH = 6,00 c, aktivitas fosfatase = 0,2 a, aktivitas fitase = 0,2 a)

Tabel 3. Pengkolonian BPF
Table 3. PSB colonization

Perlakuan	Pelekatan		Adhesi	
	Nilai (%)	Relatif (%)	Nilai (%)	Relatif (%)
1 (Ja.b2)	7,55 a	90,96 a	6,64 a	96,09 a
3 (Uja. b1)	4,54 c	54,70 c	6,35 b	91,90 b
5 (Bt. b2)	5,84 b	70,36 b	6,35 b	91,90 b
7 (Pt. b2)	3,92 c	47,23 c	6,35 b	91,90 b
9 (Uka. b2)	8,30 a	100,00 a	6,91 a	100,00 a

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada DMRT taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$).

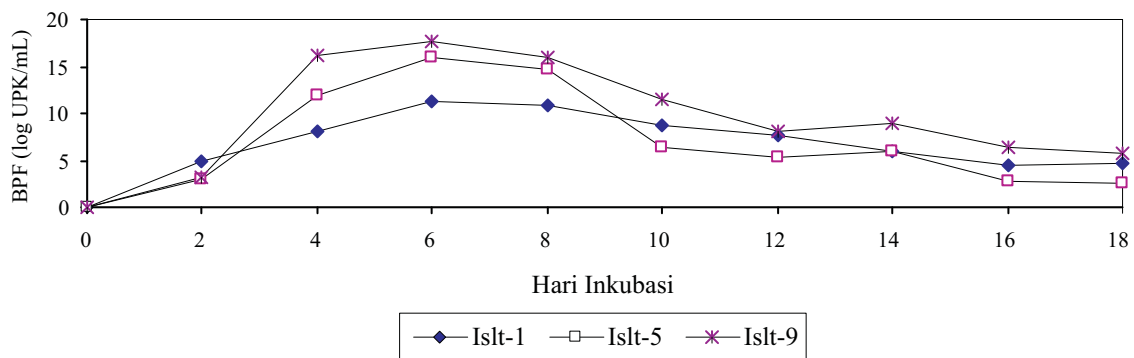
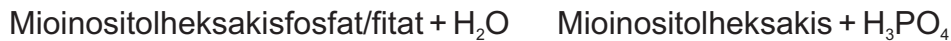
Aktivitas fosfatase dan fitase sebagai indikator pemineralan P oleh BPF isolat 1, 5 dan 9 relatif lebih tinggi dibanding isolat lainnya (Tabel 2). Hal tersebut sejalan dengan populasi BPF, dan pengkolonian (Tabel 3). P pemineralan berkorelasi positif dengan populasi (0,579), pelekatan (0,492), adhesi (0,527), fosfatase (0,594) dan fitase (0,642). P pemineralan = $44,86 + 1,08$ populasi + $0,66$ fosfatase + $0,71$ fitase; ($R^2 = 0,392$). BPF mampu memineralkan P, karena menurut Muleta (2007) dan Victoria *et al.* (2009) menghasilkan enzim: 1)

fosfatase 2) fitase, dan 3) fosfonatase dan C-P liase. Fosfatase adalah enzim hidrolisis fosfor organik menjadi fosfat anorganik/asam-asam orto fosfat (Eichler *et al.*, 2004; Ponmurugan dan Gopi, 2006; Guicharnaud *et al.* (2010). Fitase adalah katalis hidrolisis asam fitat, glukosa 6-fosfat dan gliserol 1-fosfat menjadi inositol dan asam orto fosfat. Fosfatase atau fitase termasuk gen APases. Kegiatan APases melalui hidrolisis pNPP atau Na-phytate (Colpaert *et al.*, 1997; Aseri *et al.*, 2009).

FMEase



fitase



Gambar 2. Kurva tumbuh BPF isolat 1, 5 dan 9 selama 18 hari inkubasi
Figure 2. Growth curve of PSB isolate 1, 5 and 9 during 18 day incubation

Pola pertumbuhan BPF isolat 1, 5 dan 9 hampir mirip walaupun dengan jumlah populasi yang berbeda (Gambar 2), yaitu: 1) fase lag/adaptasi sampai hari ke-2, 2) fase log/eksponensial pada hari ke-2 sampai 5, 3) fase stationer pada hari ke-5 sampai 8 dan 4) fase decline/ kematian mulai hari ke-8 sampai 18 (akhir pengamatan). Tiga isolat BPF (1 = *Pseudomonas trivialis*, 5 = *Pseudomonas putida*, dan 9 =

Pseudomonas fluorescens), ketiganya bakteri gram negatif, terbaik melarutkan P dirakit menjadi inokulum cair dan padat. Hari ke-5 (akhir fase log atau awal fase stationer) merupakan waktu terbaik untuk pemanenan kultur BPF untuk dijadikan inokulum (Gambar 3) (Thiel, 1999). Berdasarkan kurva tumbuh pada hari ke-5 populasi BPF isolat 1 10^{10} UPK/mL, isolat 5 10^{14} UPK/mL dan isolat 9 10^{17} UPK/mL.



Gambar 3. Inokulum BPF
Figure 3. Inoculum of PSB

Setelah disimpan selama dua belas bulan, stabilitas populasi inokulum BPF menurun menjadi antara 81 dan 88% (Tabel 4), stabilitas pelarutan inokulum BPF menurun menjadi antara 65 dan 81% (Tabel 5). Daya melarutkan P inokulum BPF pengaruh sumber P menurun menjadi antara 55 dan 97%, dimana penurunan AIP > FeP > BF > CaP (Tabel 5). Penurunan populasi dan kemampuan inokulum BPF

diduga karena kepadatan sel yang tinggi menyebabkan kekurangan nutrisi dan penumpukan hasil limbah, dan pertumbuhan abnormal sehingga jumlah sel mati > sel hidup (Roman *et al.*, 2007). Tingkah laku mikrobial yang tergantung populasi dikenal dengan quorum sensing (QS). Pada populasi yang tinggi, bakteri mengekspresikan kemampuannya, termasuk melarutkan P (Ward *et al.*, 2001; DeAngelis, 2006).

Tabel 4. Stabilitas populasi inokulum BPF 12 bulan

Table 4. Population stability of PSB inoculum for 12 months

Pembawa	Populasi BPF (log UPK/mL) (%)	Jumlah Isolat	Populasi BPF (log UPK/mL) (%)
Cair	7,68 a (87,55) a	0 (kontrol)	0,00 b
Padat	7,53 a (83,67) a	1 Isolat	7,32 a (81,33) a
		2 Isolat	7,53 a (83,56) a
		3 Isolat	7,30 a (81,11) a

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada DMRT taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$).

Tabel 5. Stabilitas pelarutan P inokulum BPF 12 bulan
Table 5. Stability of solubilizing P inoculum of PSB for 12 months

Sumber P	P larut (ppm P) (%)	Pem-bawa	P larut (ppm P) (%)	Jumlah Isolat	P larut (ppm P) (%)
BF	114,06 b (69,53) b	Cair	123,22 a (81,01)a	0 (kontrol)	30,37 b
CaP	123,04 a (55,09) c	Padat	100,18 b (65,06) b	1 Isolat	109,62 a (72,07) a
AIP	101,72 c (97,54) a			2 Isolat	114,00 a (74,95) a
FeP	106,36 c (91,13) a			3 Isolat	111,46 a (73,28) a

Keterangan: Angka dalam kolom yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada DMRT taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$).

Kesimpulan

BPF isolat 1 = *Pseudomonas trivialis*, 5 = *Pseudomonas putida*, dan 9 = *Pseudomonas fluorescens*, ketiganya gram negatif, terbaik melarutkan P, dan memineralkan P. Efisiensi pelarutan P BPF isolat 1 = 291%, 5 = 280%, dan 9 = 347%. Aktivitas fosfatase BPF (mg fosfat/L/jam) isolat 1 = 34, 5 dan 9 = 48, dan aktivitas fitase (mg fosfat/L/jam) isolat 1 = 46, 5 = 47, dan 9 = 45. Hari ke-5 (akhir fase log/ awal fase stationer) merupakan waktu terbaik pemanenan kultur BPF untuk dijadikan inokulum. Setelah dua belas bulan, stabilitas populasi inokulum BPF menurun menjadi 81-88% dan stabilitas pelarutan P menurun menjadi 65-81%. Penurunan daya larut terhadap sumber P inokulum BPF adalah AIP > FeP > BF > CaP.

Daftar Pustaka

- Achal, V., V.V., Savant, and M.S. Reddy. 2007. Phosphate solubilization by a wild strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubingensis*. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 695-699.
- Anas, I.. 1989. *Biologi Tanah Dalam Praktek. Petunjuk Laboratorium*. PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Arcand, M.M., and K.D. Schneider. 2006. Plant and Microbial Based to Improve the Agronomic Effectiveness of Phosphate Rock: A Review. *An Acad. Bras. Cienc.* 78(4): 791-807.
- Aseri, G.K., Jain, N., and J.C. Tarafdar. 2009. Hydrolysis of Phosphate Forms by Phosphatases and Phytase Producing Fungi of Arid and Semi Arid Soils of India. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 5(4): 546-570.
- Bolan, N.S., J. Elliot, P.E.H. Gregg, and S. Well. 1997. Enhanced Dissolution of Phosphate Rocks in the Rhizosphere. *Biol. Fertil. Soils* 24: 169-174.
- Booker, B.M., L. Stahl, and P.F. Smith. 2004. *In Vitro* Antagonism with the Combination of Vancomycin and Clindamycin Against *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Applied Research* 4(3): 385-390.
- BPT (Balai Penelitian Tanah). 2005. *Petunjuk Teknis: Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air dan Pupuk*. Edisi Pertama. BPT, Balitbangtan Deptan, Bogor.
- Burns, R.G.. 1978. *Soil Enzymes*. Academic Press. New York. 380p.
- Cahyono, O.. 2002. Pembebasan Fosfor Terperangkap (*occluded-P*) pada Tanah Alfisol dengan Metode Biologi, Pengaruhnya pada Pertumbuhan dan Hasil Jagung (*Zea mays* L.). *Disertasi Program Ilmu Pertanian Kekhususan Ilmu Tanah*. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya, Malang.
- Colpaert, J.V., Laere, A.V., Tichelen, K.K.V., and J.A.V. Assche. 1997. The Use of Inositol Hexaphosphate as a Phosphorus Source by Mychorryzal and Non-mychorryzal Scots Pine (*Pinus sylvestris*). *Functional Ecology* 11: 407-415.
- DeAngelis, K.M.. 2006. Microbial Community Ecology and Bacterial Quorum Sensing as Control Points in Rhizosphere Nitrogen Cycling. *Ph.D. Dissertation*, University of California, Berkeley.
- Eichler, B., Caus, M., Schnug, E., and D. Koppen. 2004. Soil Acid and Alkaline Phosphatase Activities in Regulation to Crop Species and Fungi treatment. *Landbat Forschung Volkenrode* 1(54): 01-05.

- Fankem, H., D. Nwaga, A. Deubel., L. Dieng, W. Merbach, and F.X. Etoa. 2006. Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guennensis*) rhizosphere in Cameroon. *African Journal of Biotechnology* 5(24): 2450-2460.
- Gomez, K.A., and A.A. Gomez. 1984. *Statistical Procedures For Agricultural Research*. 2nd ed. John Wiley and Sons. New York. 236p.
- Guicharnaud, R., Arnalds, O., and G.I. Paton. 2010. Short Term Changes of Microbial Processes in Icelandic Soils to Increasing Temperatures. *Biogeosciences* 7: 671-682.
- Hediati, T. 1993. Memancing, Isolasi dan Determinasi Batuan Fosfat Alam sebagai Faktor Lingkungan Biotis Tanaman Asal Beberapa Jenis Tanah. *Majalah Ilmiah*. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto 1(19):33-40
- Johnson, S.E., and R.H. Loeppert. 2006. Role of Organic Acids in Phosphate Mobilization from Iron Oxide. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 222-234.
- Khan, S.R., T.C. Yeo, W.L. Martin, M.R. Duron, R.D. Rogers, and A.H. Goldstein. 1995. Cloning of a Mineral Phosphate-Solubilizing Gene from *Pseudomonas cepacia*. *Applied and Environmental Microbiology* 61(3): 972-978.
- Lal, L.. 2002. *Phosphatic biofertilizer*. Agrotech. Publ. Acad. Udaipur. 224p.
- Milko, A. J., Marcela, T.H., Zed, R., Petra, M., and M. dl. L. Mora. 2008. Isolation of Culturable Phosphobacteria with both Phytate-Mineralization and Phosphate-Solubilization Activity from the Rhizosphere of Plants Grown in a Volcanic Soil. *Biol. Fertil. Soils* 44: 1025-1034.
- Miyasaka, S.C., and M. Habte. 2001. Plant Mechanisms and Mycorrhizal Symbioses to Increase Phosphorus Uptake Efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32 (7-8): 1101-1147.
- Muleta, D.. 2007. Microbial Input in Coffee (*Coffea arabica* L.) Production Systems, Soutwestern Ethiopia: Implications for Promotion of Biofertilizers and Biocontrol Agents. *Doctoral Thesis*, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Pepper, I.L., and C.P. Gerba. 2004. *Environmental Microbiology. A Laboratory Manual*, 2nd ed. Elsevier Academic Press, New York. 226p.
- Ponmurugan, P., and C. Gopi. 2006. *In vitro* production of growth regulator and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria. *African Journal of Biotechnology* 5(4): 348-350.
- Roman, M.S., M.A. Rivadeneyra, C. Vasconcelos, and J.A. McKenzie. 2007. Biomineralization of carbonate and phosphate by moderately halophilic bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61: 273-284.
- Ruijter, G.J.G., P.J.I. van de Vondervoort, and J. Visser. 1999. Oxalic Acid Production by *Aspergillus niger*: an Oxalate-non-producing Mutan Produces Citric Acid at pH 5 and in the Presence of Manganese. *Microbiology* 145: 2569-2576.
- Solano, B.R., J.B. Maicos, and F.J.G. Manero. 2008. Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Pp. 41-54. *In: Ahmad, I., J. Pichtel, and S. Hidayat (Eds.). Plant Bacteria Interactions: Strategies and Techniques to Promote Plant Growth*. Wiley-VCH, Weinheim. 310p.
- Subba Rao, N. S.. 1982. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford & IBH Publising Co., New Delhi, Bombay, Calcuta. 189p.
- 1999. *Soil Microbiology (Fourth Edition of Soil Microorganisms and Plant Growth)*. Science Publisher, Inc. New Hampshire. 248p.
- Tamad, dan J. Maryanto. 2010. Pelarutan Hayati Batuan Fosfat sebagai Pupuk Fosfor pada Budidaya Kedelai di Ultisol. *Agrin* 14(1): 72-78.
- Tamad, dan J. Maryanto. 2010. Media Pembawa Alternatif Inokulan Mikrobial Pelarut Fosfat Berbasis Limbah Pertanian. *Agrin* 14(2): 167-176.
- Tamad, J. Maryanto, dan Supartoto. 2007. Perakitan Inokulan Mikrobial Pelarut Fosfat Berbasis Sumberdaya Lokal yang Kompetitif guna Mendukung Pertanian Berkelanjutan. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing XV*, Lemlit, Unsoed, Purwokerto.
- Tamad, dan P. Mearita. 2005. Pengaruh BPF terhadap Serapan P, Pertumbuhan dan Hasil Bawang Merah yang Ditanam di Vertisol Jatibarang Brebes. *Laporan Penelitian*, Kerjasama IRF Brebes

- dan Faperta Unsoed, Purwokerto.
- Thiel, T.. 1999. Science in the Real World: Microbes in Action. *Introduction to Bacteria*. 1-8 p. Department of Biology, University of Missouri-St. Louis.
- Ullah, A.H.J., and D.M. Gibson. 1987. Extracellular Phytase (E.C.3.1.3.8) from *Aspergillus ficuum* NRRL 3135: Purification and Characterization. *Prep. Biochem.* 17: 63-91.
- Urgel, M.E., A. Salido, and J.L. Ramos. 2000. Genetic Analysis of Functions Involved in Adhesion of *Pseudomonas putida* to Seeds. *Journal of Bacteriology* 182 (9): 2363-2369.
- Victoria, D.E., L.L. Reyes, and A.D.L.C. Benitez. 2009. Use of 16S rRNA Gene for Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria Associated with Corn. *Rev. Fitotec. Mex.* 32(1): 31-37.
- Violante, A., M. Pigna, M. Ricciardella, and L. Gianfreda. 2002. Adsorption of phosphate on variabel charge minerals and soils as affected by organic and inorganic ligands. Pp. 279-295. *In: Violante, A., P.M. Huang, J.M. Bollag, and L. Gianfreda (Eds.) Soil minerals-organic matter-microorganisms Interaction and Ecosystem Health*. Volume 28A. Dynamics, Mobility, and Transformation of Pollutans and Nutrients. Elsevier, Amsterdam.
- Ward, J.P., J.R. King, A.J. Koerber, P. Williams, J.M. Croft, and R.E. Sockett. 2001. Mathematical modelling of quorum sensing in bacteria. *IMA Journal of Mathematics Applied in Medicine and Biology.* 18: 263-292.