

## **PRODUKSI MASAL INOKULUM AZOTOBACTER, AZOSPIRILLUM DAN BAKTERI PELARUT FOSFAT DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA ALTERNATIF**

### ***Mass Production of Azotobacter, Azospirillum and Phosphate Solubilizing Bacterial Inoculant Using Alternative Media***

**Richard Gunawan, Iswandi Anas\*, Fahrizal Hazra**

Laboratorium Bioteknologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB  
Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

#### **ABSTRACT**

*Azotobacter, Azospirillum and phosphate solubilizing bacteria are the most common microbial inoculants used as biofertilizer. To have good quality of biofertilizer, the high number of inoculant cells and suitable carriers as well as the method of carrier sterilization are among the most important factors determined the quality of biofertilizer. Related to the number of inoculant cells in carriers, the growing medium used to cultivate the microbial cells play very important role. For mass production of microbial cells, the medium should be able to support fast growth of microbial cells. The price of medium should be reasonably cheap and the materials used in medium should be available easily. The purpose of this study was to obtain a cheap growing medium that can support high number of microbial inoculant cells and the components of the medium should be easily obtain and the price is not expensive. The study was conducted at the Department of Soil Science and Land Resources, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University (IPB). The results showed that the medium IPB RI-1 was able to support the growth of  $10^{10}$  cfu ml<sup>-1</sup> Azotobacter,  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup> Azospirillum and  $10^9$  cfu ml<sup>-1</sup> Phosphate Solubilizing Bacteria. The number of bacterial cells in Nutrient Broth medium was only  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup>. This means that the IPB RI-1 medium was able to produce 100-fold population of Azotobacter compared to the growth of this bacterium in Nutrient Broth and Phosphate Solubilizing Bacteria was 10-fold higher than population in Nutrient Broth medium. The costs of the IPB RI-1 and IPB RI-2 were much cheaper compared to the cost of Nutrient Broth medium. The cost of medium IPB RI-1 only 3% (IDR 945) and IPB RI-2 about 2% (IDR 690) of the cost of Nutrient Broth medium (IDR 27,752) per liter medium in the year of 2010.*

*Keywords : Alternative media, Azotobacter, Azospirillum, Nutrient Broth, Phosphate Solubilizing Bacteria*

#### **ABSTRAK**

*Azotobacter, Azospirillum dan bakteri pelarut fosfat adalah mikroba yang paling banyak digunakan dalam pembuatan pupuk hayati. Untuk pembuatan pupuk hayati yang berkualitas yang mengandung mikroba yang tinggi dan bahan pembawa yang sesuai, metoda sterilisasi bahan pembawa sangat menentukan kualitas pupuk hayati. Berkaitan dengan kepadatan sel inokulan dalam bahan pembawa, medium yang digunakan untuk perbanyak mikroba memegang peranan yang sangat penting. Untuk produksi inokulan dalam jumlah yang banyak, medium yang digunakan harus dapat menyokong pertumbuhan sel yang cepat dalam jumlah sel mikroba yang tinggi namun harga medium tersebut harus cukup murah agar pupuk hayati yang diproduksi tidak mahal. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan yang mampu menghasilkan sel inokulan yang banyak, bahan medium yang digunakan harus mudah diperoleh dan harganya murah. Penelitian ini dilakukan di Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan Fakultas Pertanian IPB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium IPB RI-1 (IPB Richard Iswandi-1) mampu menyokong pertumbuhan sel bakteri yang paling tinggi yaitu  $10^{10}$  cfu ml<sup>-1</sup> untuk Azotobacter,  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup> Azospirillum and  $10^9$  cfu ml<sup>-1</sup> bakteri pelarut fosfat. Media Nutrient Broth hanya mampu menghasilkan inokulan  $10^8$  cfu ml<sup>-1</sup>. Ini berarti bahwa medium tumbuh IPB RI-1 meningkatkan populasi Azotobacter 100-kali lipat dibandingkan dengan populasi Azotobacter yang ditumbuhkan di dalam medium Nutrient Broth dan bakteri pelarut fosfat meningkat jumlah selnya sebanyak 10 kali lipat dari jumlah sel yang terdapat dalam media Nutrient Broth. Harga medium IPB RI-1 dan IPB RI-2 jauh lebih murah dibandingkan dengan harga medium Nutrient Broth. Untuk pembuatan satu liter medium IPB RI-1 diperlukan dana sebesar Rp 945 (3% harga Nutrient Broth) dan harga media IPB RI-2 sebesar Rp 690 (2% harga Nutrient Broth) sedangkan harga medium Nutrient Broth adalah Rp 27,752) pada tahun 2010.*

*Kata Kunci: Azotobacter, Azospirillum, Bakteri Pelarut Fosfat, Media alternatif, Nutrient Broth*

**PENDAHULUAN**

Pupuk hayati (*biofertilizer*) adalah bahan yang mengandung mikroba hidup, yang ketika diaplikasikan pada benih, tanah atau permukaan akar tanaman dapat memacu pertumbuhan tanaman (Vessey, 2003). Pupuk hayati dapat digunakan sebagai agen biokontrol yang aman terhadap lingkungan. Mikroba yang sering dilaporkan sebagai pupuk hayati antara lain adalah *Rhizobium* yang menambat N<sub>2</sub> udara melalui proses simbiosis dengan kacang-kacangan, *Azospirillum* dan *Azotobacter* untuk menambat N<sub>2</sub> udara tanpa harus bersimbiosis dengan tanaman. Beberapa mikroba yang sering digunakan sebagai pupuk hayati adalah mikroba pelarut fosfat sukar larut baik bakteri maupun fungi. Berdasarkan penelitian Hidayati (2009), aplikasi pupuk hayati yang mengandung mikoriza dan bakteri penambat N<sub>2</sub>, bakteri pelarut P dan bakteri pelarut K mampu meningkatkan pertumbuhan jagung secara nyata.

Ada berbagai cara dalam memproduksi inokulum bakteri, namun cara yang paling umum dipakai adalah dengan menumbuhkan inokulan dalam media YEM untuk *Rhizobium* dan media *Nutrient Broth (NB)* untuk mikroba lainnya. Penggunaan media *Nutrient Broth* efektif dalam menyokong pertumbuhan berbagai mikroba, akan tetapi harganya sangat mahal (Rp 3,400,000 kg<sup>-1</sup>) pada tahun 2010. Selain itu media ini sulit diperoleh. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu media alternatif yang dapat menyokong pertumbuhan mikroba dengan baik, harga murah, mudah diperoleh dan dibuat dengan menggunakan bahan-bahan yang mudah diperoleh.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari media tumbuh mikroba yang mampu mendukung pertumbuhan mikroba yang cepat dengan jumlah sel yang banyak, mudah didapatkan dan harganya murah.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian dilakukan di Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB.

Bahan yang digunakan untuk membuat media IPB RI-1 adalah: pupuk Urea, pupuk SP-36, limbah ikan teri, terasi, dedak, MSG, gula merah dan air mineral. Inokulan bakteri yang digunakan *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat, koleksi Prof. Dr Iswandi Anas, Laboratoriu Bioteknologi Tanah IPB. Jumlah inokulan yang digunakan adalah sebanyak 2% dari volume media. Bahan yang digunakan membuat media IPB RI-2 adalah molases dan air mineral. Sebagai pembanding digunakan media *Nutrient Broth* produksi Difco™.

Hasil analisis unsur N, P dan K media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* disajikan pada Tabel 1 sedangkan analisis unsur hara makro lainnya dan unsur mikro yang tersedia di dalam masing-masing media tidak dianalisis.

Tabel 1. Kandungan unsur makro N, P dan K dalam media IPB RI-1, IPB RI-2 dan *Nutrient Broth*.

Media	N	P	K
	.....%.....		
Media IPB RI-1	0.13	0.07	0.02
Media IPB RI-2	0.05	0.02	0.13
Media <i>Nutrient Broth</i>	0.05	0.03	0.02

*Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat yang diinokulasikan ke dalam media alternatif, dibiakkan dengan menggunakan mesin pengocok selama 4 hari dengan menumbuhkan pada media *Nutrient Broth* Difco™.

Dalam menyiapkan media IPB RI-1, semua bahan-bahan dihaluskan, dicampur dalam satu wadah, lalu disaring dan kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Hal yang sama dilakukan pada media IPB RI-2. Untuk media *Nutrient Broth*, digunakan *Nutrient Broth* produksi Difco™ dengan melarutkan 10 g media dalam 500 ml air mineral, lalu disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

*Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat ditumbuhkan pada media IPB RI-1, IPB RI-2 dan *Nutrient Broth* dalam kemasan air mineral 15 liter yang telah dimodifikasi sebagai fermentor untuk memperbanyak mikroba dan untuk perlakuan pemberian aerasi, udara yang steril dialirkan dengan menggunakan pompa akuarium dengan laju alir 2 liter menit<sup>-1</sup>. Sebanyak 2% v/v masing-masing inokulan digunakan untuk menginokulasi masing-masing media.

Inokulan *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat diinokulasikan ke dalam 12 kemasan air mineral. Ada 18 kemasan air mineral yang masing-masing berisi 5 liter media IPB RI-1, dan IPB RI-2. Hal yang sama dilakukan pada media *Nutrient Broth* yakni dengan menginokulasikan *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat ke dalam 6 erlenmeyer yang masing-masing berisi 500 ml media *Nutrient Broth*. Setelah itu tiap media diberikan perlakuan yakni dengan diberikan aerasi dan tidak diberikan aerasi. Jumlah semua perlakuan adalah sebanyak 18 (Tabel 2).

Tabel 2. Media, mikroba dan perlakuan aerasi pada media

No Perlakuan	Kode /Nama Media	Nama Bakteri	Aerasi
1	IPB RI-1	<i>Azotobacter</i>	Ya
2	IPB RI-1	<i>Azotobacter</i>	tanpa
3	IPB RI-1	<i>Azospirillum</i>	Ya
4	IPB RI-1	<i>Azospirillum</i>	tanpa
5	IPB RI-1	Bakteri Pelarut Fosfat	Ya
6	IPB RI-1	Bakteri Pelarut Fosfat	tanpa
7	IPB RI-2	<i>Azotobacter</i>	Ya
8	IPB RI-2	<i>Azotobacter</i>	tanpa
9	IPB RI-2	<i>Azospirillum</i>	Ya
10	IPB RI-2	<i>Azospirillum</i>	tanpa
11	IPB RI-2	Bakteri Pelarut Fosfat	Ya
12	IPB RI-2	Bakteri Pelarut Fosfat	tanpa
13	<i>Nutrient Broth</i>	<i>Azotobacter</i>	Ya
14	<i>Nutrient Broth</i>	<i>Azotobacter</i>	tanpa
15	<i>Nutrient Broth</i>	<i>Azospirillum</i>	Ya
16	<i>Nutrient Broth</i>	<i>Azospirillum</i>	tanpa
17	<i>Nutrient Broth</i>	Bakteri Pelarut Fosfat	Ya
18	<i>Nutrient Broth</i>	Bakteri Pelarut Fosfat	tanpa

Pengambilan sampel kultur inokulan dilakukan pada hari ke-0, 5, 10 dan 15. Sebanyak 10 ml sampel kultur dari media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth*, lalu dipipet sebanyak 10 ml ke dalam 90 ml larutan fisiologi untuk membuat pengenceran  $10^{-1}$  dan serial pengenceran diteruskan hingga  $10^{-8}$ . Sebanyak 1 ml larutan dari masing-masing seri pengenceran dipindahkan ke cawan petri yang kemudian dituang ke media yang sudah disiapkan sesuai dengan mikroba yang dihitung populasinya yaitu media *Nitrogen Free Media* (NFM) untuk *Azotobacter* dan media *Pikovskaya* untuk Bakteri Pelarut Fosfat. Sedangkan untuk *Azospirillum* menggunakan media *Nitrogen Free Bromthymol Blue* atau NFB.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Media IPB RI-1

Pada media IPB RI-1 dilakukan penghitungan populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF). Pertumbuhan populasi mikroba dalam media IPB RI-1 disajikan pada Gambar 1.

Populasi *Azotobacter* tertinggi diperoleh pada hari ke-10 pada media yang diberikan aerasi. Sedangkan untuk *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat populasi tertinggi diperoleh pada hari ke-5. Dari berbagai mikroba yang diisolasi pada media IPB RI-1 dapat terlihat bahwa populasi *Azotobacter* adalah yang tertinggi diantara mikroba yang lain. *Azotobacter* merupakan bakteri non simbiotik yang bersifat aerobik. *Azotobacter* mampu menambat nitrogen dalam jumlah yang cukup tinggi, bervariasi  $\pm 2-15 \text{ mg N g}^{-1}$  sumber karbon yang digunakan (Rao, 1982). Kemungkinan juga kandungan hara makro lainnya dan juga hara mikro

juga lebih banyak mengingat bahan dasar medium IPB RI-1 adalah limbah ikan teri, terasi, dedak, MSG, dan gula merah.

Ketersediaan unsur hara merupakan salah satu faktor penting untuk pertumbuhan mikroba. Unsur hara yang cukup akan diikuti dengan pertumbuhan mikroba yang baik. Ketersediaan unsur hara yang kurang akan menjadi penghambat pertumbuhan sel mikroba.

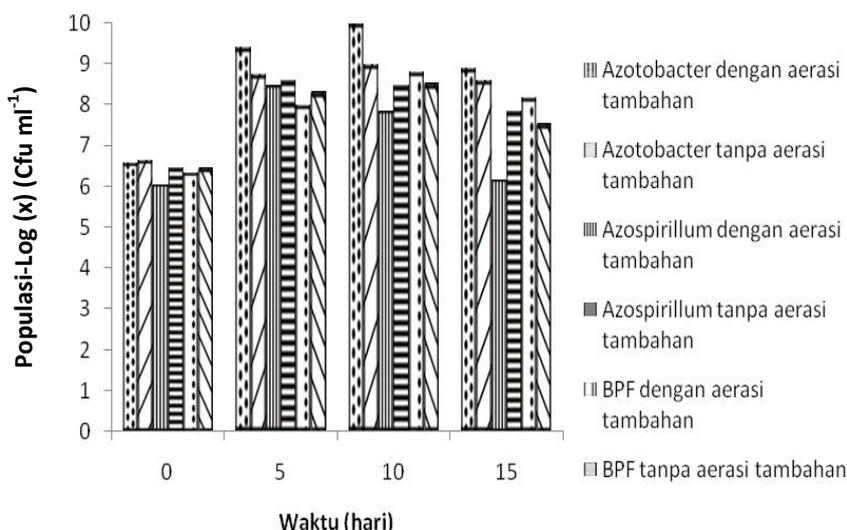
Unsur hara yang terpenting untuk mikroba adalah karbon dan nitrogen. Hampir 50% bobot kering sel terdiri atas karbon, oleh karena itu karbon merupakan makronutrien yang paling utama dibutuhkan. Prokariot autotrof menggunakan  $\text{CO}_2$  sebagai satu-satunya sumber karbon, sedangkan yang bersifat heterotrof menggunakan molekul organik sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan (Madigan *et al.*, 2000).

Nitrogen memainkan peran penting dalam metabolisme seluler khususnya dalam pembelahan sel, sehingga apabila kandungan nitrogennya semakin sedikit maka kemampuan bakteri untuk membelah menjadi semakin lambat. Akibatnya pertumbuhan bakteri pun menjadi rendah.

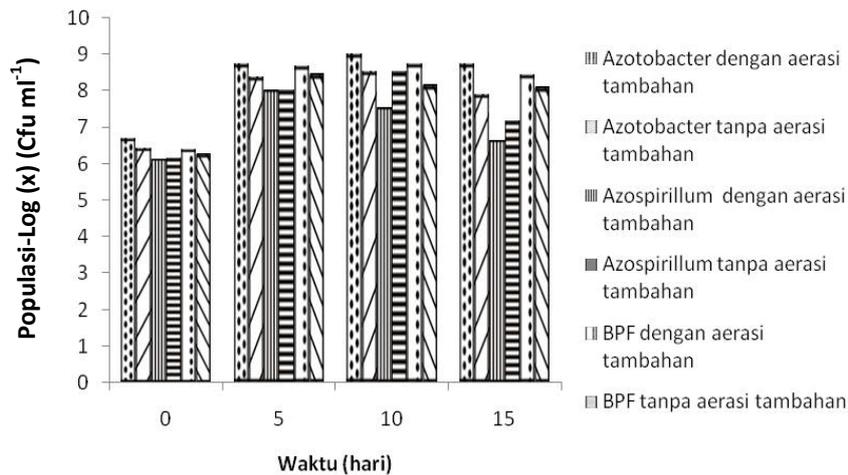
Bakteri dapat mengasimilasi senyawa nitrogen organik maupun anorganik untuk pertumbuhannya. Senyawa nitrogen dalam bentuk tersebut akan direduksi atau dikatabolisasi oleh bakteri menjadi ammonia (White, 1995).

#### Media IPB RI-2

Pada media IPB RI-2 dilakukan penghitungan populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF). Pertumbuhan populasi mikroba dalam media IPB RI-2 disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat pada media IPB RI-1 selama 15 hari pembiakan



Gambar 2. Populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat pada media IPB RI-2 selama 15 hari pembiakan

Pola pertumbuhan populasi *Azotobacter* pada media IPB RI-2 hampir sama dengan pola pertumbuhan populasi *Azotobacter* pada media IPB RI-1. Hanya saja pada media IPB RI-2, populasi *Azotobacter* pada media yang tidak diberikan aerasi mengalami penurunan pada hari ke-10, sedangkan pada media IPB RI-1, populasi *Azotobacter* masih stasioner.

Populasi Bakteri Pelarut Fosfat mengalami peningkatan dari hari ke-0 hingga hari ke-5 selanjutnya dari hari ke-5 hingga hari ke-15 Bakteri Pelarut Fosfat mengalami fase stasioner, di mana tidak terjadi peningkatan atau penurunan pada populasi mikroba. Fase stasioner merupakan fase dimana sel-sel mulai tidak tumbuh lagi. Hal ini disebabkan oleh menyusutnya nutrisi dalam media, keterbatasan oksigen dan akumulasi produk metabolisme yang toksik bagi organisme. Akumulasi produk toksik ini seringkali menjadi masalah dalam fermentasi sel karena sebagian besar nutrisi tidak diubah menjadi bahan-bahan sel tetapi disekresikan sebagai produk buangan (White, 1995). Laju pertumbuhan bakteri pada fase ini melambat atau terhenti sedangkan jumlah mikroba yang hidup konstan.

Populasi *Azospirillum* mengalami peningkatan dari hari ke-0 hingga hari ke-5, selanjutnya pada hari ke-10 populasinya menurun, baik pada media yang tidak diberikan aerasi maupun yang diberikan aerasi. Lalu pada hari ke-15 populasi *Azospirillum* pada media yang tidak diberikan aerasi stasioner sedangkan pada media yang diberikan aerasi mengalami penurunan.

Setiap mikroba memerlukan sumber karbon bagi pertumbuhannya dengan cara mengubah karbon tersebut menjadi material sel melalui proses asimilasi. Bakteri heterotrof menggunakan senyawa organik sebagai sumber karbonnya (Lim, 1998). Sumber karbon yang dapat digunakan oleh bakteri ini diantaranya terdapat pada molases. Molases mengandung kadar gula sekitar 45-58% yang tersusun dari sukrosa, glukosa, fruktosa dan

komponen lainnya sehingga masih dapat digunakan sebagai sumber karbon yang baik bagi pertumbuhan bakteri (Novita, 2001).

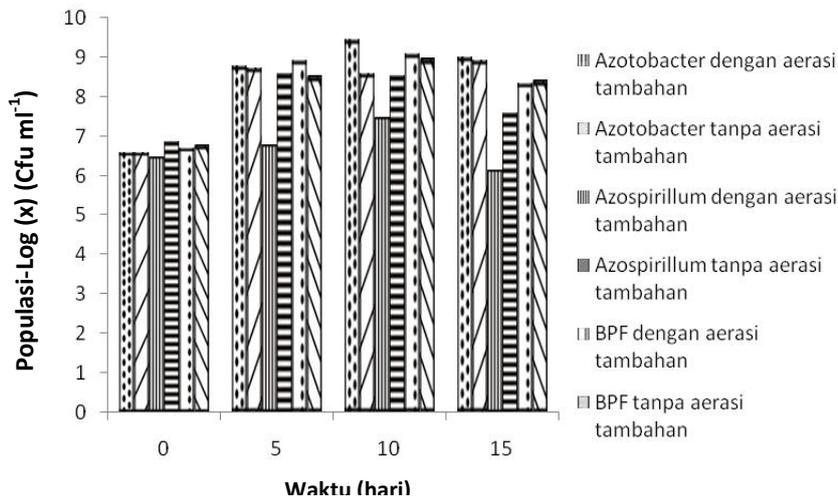
Kemampuan mikroba untuk memperoleh energi pada kondisi heterotrof bergantung pada kemampuan metabolismenya untuk mengoksidasi senyawa karbon (bahan organik) sebagai sumber energi utama. Senyawa karbon dalam metabolismenya berperan penting untuk menghasilkan energi melalui oksidasi senyawa tersebut dan menyediakan unsur C untuk pembentukan material sel (Prescott *et al.*, 2000).

Bakteri memerlukan kalsium terutama dalam bentuk ion  $Ca^{2+}$  sebagai kofaktor enzim tertentu dan fosfor terutama dalam bentuk fosfat yang diperlukan oleh bakteri sebagai komponen struktur sel dan simpanan energi (Volk dan Wheeler, 1984).

Asam amino merupakan salah satu faktor penting bagi pertumbuhan bakteri. Asam amino ini disintesis oleh bakteri atau disediakan sebagai nutrisi eksogenus. Kebutuhan asam amino dapat disediakan sebagai asam amino bebas atau *peptide* kecil yang dapat didegrasi oleh bakteri protease sebelum atau setelah masuk ke dalam sel. Di dalam sel, asam amino pertama kali diaminiasi untuk menghasilkan asam organik yang masuk ke dalam siklus *Tricarboxylic* (TCA). Amonia yang dihasilkan dari diaminasi akan bertindak sebagai sumber nitrogen untuk biosintesis (Lim, 1998).

### Media Nutrient Broth

Pada media *Nutrient Broth* dilakukan penghitungan populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF). Pertumbuhan populasi mikroba dalam media *Nutrient Broth* dari hari ke-0 hingga hari ke-15 disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat pada media *Nutrient Broth* selama 15 hari pembiakan

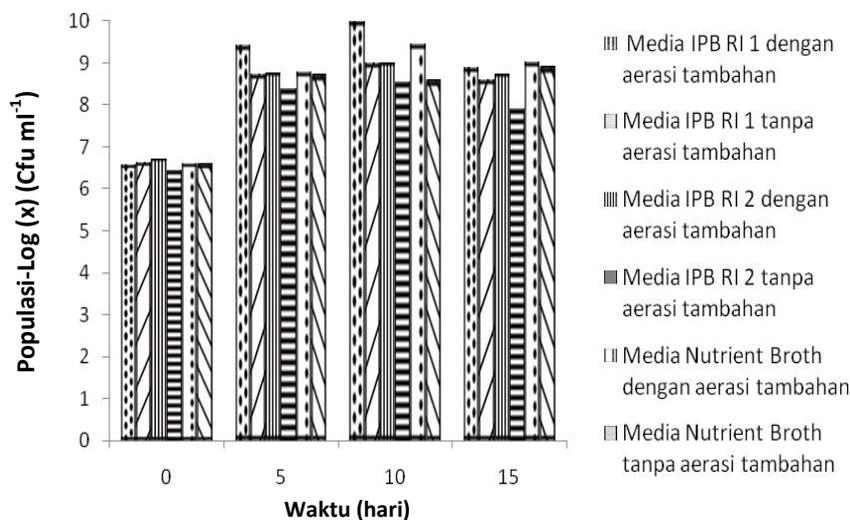
Populasi *Azotobacter* pada media yang diberikan aerasi mencapai populasi tertingginya pada hari ke-10 dan selanjutnya memasuki fase stasioner hingga hari ke-15. Populasi *Azotobacter* pada media yang tidak diberikan aerasi memiliki populasi yang lebih rendah dibandingkan dengan populasi *Azotobacter* pada media yang diberikan aerasi. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat tertinggi terjadi pada hari ke-10 lalu pada hari ke-15 mengalami penurunan. Populasi *Azospirillum* pada media yang tidak diberikan aerasi mencapai pertumbuhan tertinggi pada hari ke-5 sedangkan populasi *Azospirillum* pada media yang diberikan aerasi baru mencapai pertumbuhan tertinggi pada hari ke-10. Populasi *Azospirillum* pada media yang tidak diberikan aerasi lebih tinggi dibandingkan populasi *Azospirillum* yang diberikan aerasi.

**Perbandingan Populasi *Azotobacter*, *Azospirillum* dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Media IPB RI-1, Media IPB RI-2 dan Media *Nutrient Broth***

***Azotobacter***

Pertumbuhan populasi *Azotobacter* pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* disajikan pada Gambar 4.

Populasi *Azotobacter* pada media IPB RI-1 yang diberikan aerasi menunjukkan populasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan media lain dan terendah terdapat pada media IPB RI-2 tanpa aerasi. Perubahan populasi *Azotobacter* dari hari ke-0 hingga hari ke-15 menunjukkan bahwa terdapat banyak faktor yang menyebabkan terjadinya dinamika perbedaan populasi pada tiap media. Faktor-faktor tersebut antara lain: kandungan nutrisi pada media, pemberian aerasi, pH, ketersediaan oksigen dan suhu. Faktor-faktor ini mempengaruhi populasi mikroba dalam media.



Gambar 4. Populasi *Azotobacter* pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* selama 15 hari pembiakan

Populasi *Azotobacter* mencapai titik tertinggi pertumbuhannya pada hari ke-10 pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 yang diberikan aerasi dan media *Nutrient Broth* yang diberikan aerasi, hal ini menunjukkan semua faktor tumbuh yang diperlukan oleh *Azotobacter* dalam keadaan tersedia pada media tersebut. Selanjutnya pada hari ke-15, populasi *Azotobacter* menurun, hal ini diakibatkan karena kandungan nutrisi dalam media yang sudah mulai berkurang.

***Azospirillum***

Pertumbuhan populasi *Azospirillum* pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* disajikan pada Gambar 5.

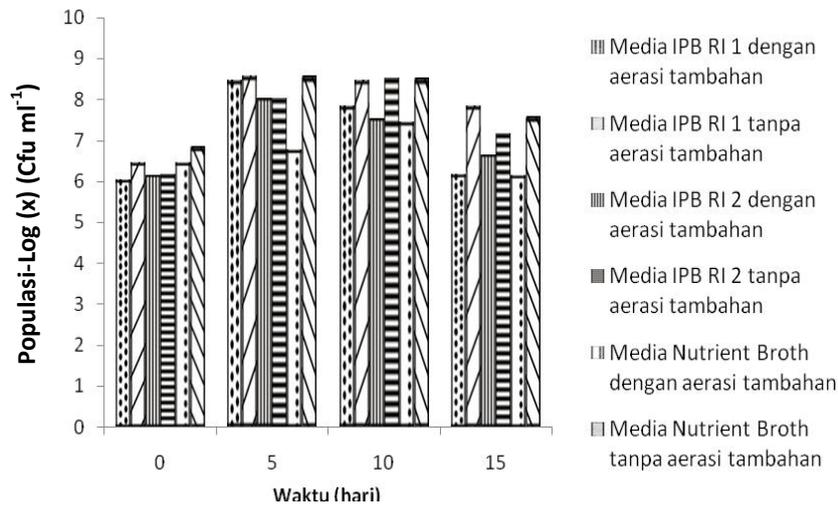
Pada media IPB RI-1, IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* yang tidak diberikan aerasi *Azospirillum* mencapai titik pertumbuhan tertingginya pada hari ke-5. Sedangkan media *Nutrient Broth* yang diberikan aerasi mencapai populasi tertingginya pada hari ke-10. Selanjutnya pada

hari ke-15, populasi *Azospirillum* pada ketiga media mengalami penurunan.

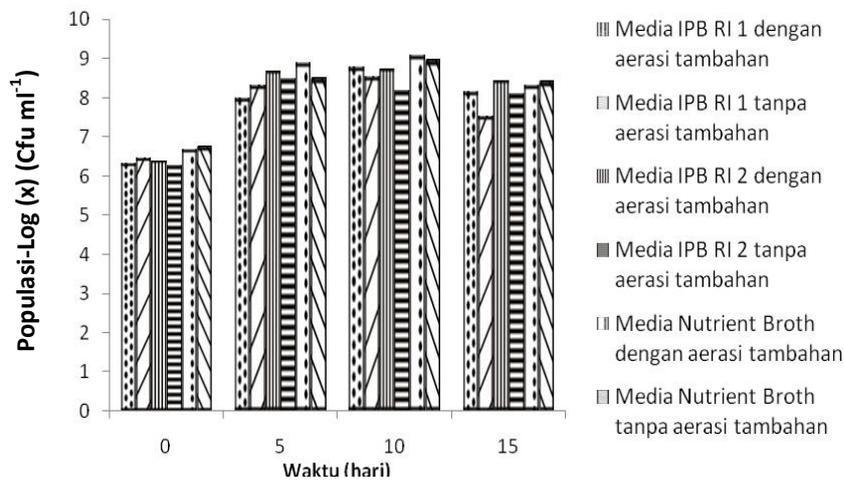
*Azospirillum* hidup pada lingkungan dengan pH 6.8-7.9 (Alexander, 1977). *Azospirillum* termasuk dalam ke dalam grup bakteri Gram negatif, erobik/mikroaerofilik, motil (Holt *et al.*, 1994). Bakteri mikroaerofilik adalah bakteri yang tumbuh bila ada oksigen bebas dalam jumlah sedikit. Oleh karena itu, seperti terlihat pada Gambar 5, populasi *Azospirillum* pada media IPB RI-1, IPB RI-2 dan *Nutrient Broth* yang tidak diberi aerasi lebih tinggi dibandingkan dengan media yang diberikan aerasi.

**Bakteri Pelarut Fosfat**

Pada hari ke-0 hingga hari ke-5 populasi Bakteri Pelarut Fosfat mengalami peningkatan (Gambar 6). Pada selang masa tersebut populasi Bakteri Pelarut Fosfat berada pada fase eksponensial. Pada fase tersebut ditandai dengan periode pembelahan yang cepat.



Gambar 5. Populasi *Azospirillum* pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* selama 15 hari pembiakan



Gambar 6. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* selama 15 hari pembiakan

Populasi Bakteri Pelarut Fosfat pada media IPB RI-1, media IPB RI-2 dan media *Nutrient Broth* memiliki pola yang sama hingga hari ke-5, namun pada hari ke-10, populasi Bakteri Pelarut Fosfat pada media *Nutrient Broth* meningkat melebihi populasi dari media IPB RI-1 dan media IPB RI-2. Pada hari ke-15 populasi Bakteri Pelarut Fosfat pada ketiga media berada pada jumlah yang sama, kecuali media IPB RI-1 yang tidak diberikan aerasi, populasi Bakteri Pelarut Fosfat lebih rendah dibandingkan dengan media yang lain.

**Harga Bahan Media IPB RI-1, IPB RI-2 dan *Nutrient Broth***

Harga bahan-bahan yang dibutuhkan untuk membuat 1 liter media IPB RI-1 adalah Rp. 945 (Tabel 3).

Tabel 3. Harga bahan untuk membuat satu liter media IPB RI-1 (Tahun 2010)

Bahan	Jumlah (g atau liter)	Harga kg <sup>-1</sup> (Rp)	Biaya (Rp)
Pupuk Urea	10	1,300	13
Pupuk SP-36	5	10,100	50
Terasi	2.50	100,000	250
MSG	1	30,000	30
Kepala ikan teri	10	1,000	10
Air mineral	1	552	552
Dedak padi	10	1,000	10
Gula merah	10	3,000	30
Total harga bahan untuk 1 liter media IPB RI-1			945

Total harga bahan-bahan yang dibutuhkan untuk membuat 1 liter media IPB RI-2 adalah Rp 690 (Tabel 4). Harga bahan-bahan yang dibutuhkan untuk membuat 1 liter media *Nutrient Broth* adalah Rp 27,752 (Tabel 5). *Nutrient Broth* yang dipakai pada penelitian ini adalah *Nutrient Broth* yang diproduksi oleh Difco™. Harga bahan yang diperlukan untuk membuat media *Nutrient Broth* sangat mahal jika dibandingkan dengan total harga bahan untuk membuat media IPB RI-1 maupun media IPB RI-2.

Tabel 4. Harga bahan untuk membuat satu liter media IPB RI-2

Bahan	Jumlah (ml)	Harga (Rp)	Biaya (Rp)
Air mineral	1,000	552	552
Molases (5%)	50	2,750	138
Total biaya untk 1 liter			690

Tabel 5. Harga bahan untuk membuat satu liter media *Nutrient Broth*.

Bahan	Jumlah (ml atau g)	Harga (Rp)	Biaya (Rp)
Air mineral	1,000	552	552
<i>Nutrient Broth</i>	8	3,400,000 kg <sup>-1</sup>	27,200
Total harga			27,752

**SIMPULAN**

Media IPB RI-1 mampu menghasilkan populasi *Azotobacter* 100 kali lipat dan Bakteri Pelarut Fosfat meningkat 10 kali lipat dari populasi mereka di dalam media *Nutrient Broth*. Sedangkan media IPB RI-2 mampu menghasilkan sel *Azotobacter* 10 kali lipat dibandingkan dengan media *Nutrient Broth*.

Harga bahan untuk membuat media IPB RI-1 dan IPB RI-2 sangat murah dibandingkan dengan harga bahan untuk membuat media *Nutrient Broth*. Total biaya bahan media IPB RI-1 hanya 3% (Rp 945) dan IPB RI-2 hanya 2% (Rp 690) dari total biaya bahan media *Nutrient Broth* (Rp 27,752).

**DAFTAR PUSTAKA**

Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley and Sons, New York.

Hidayati, N. 2009. Efektivitas pupuk hayati pada berbagai lama simpan terhadap pertumbuhan tanaman padi (*Oryza sativa*) dan jagung (*Zea mays*) [skripsi]. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins, Phalidelpia.

Lim, D. 1998. *Microbiology*. Ed ke-2. McGraw-Hill Companies, USA.

Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2000. *Biology of Microorganism*. Ed ke-9. Prentice Hall, New Jersey.

Novita, E. 2001. Optimasi proses koagulasi flokulasi pada limbah cair yang mengandung melanoidin. *J. Ilmu Dasar*, 2:61-67.

Prescott, L.M., J.P. Harley, and D.A. Klein. 2000. *Microbiology*. Ed ke-5. McGraw-Hill Companies, USA.

Rao, N.S. 1982. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford & IBH Publishing Co. Oxford.

Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting *rhizobacteria* as biofertilizer. *Plant Soil*, 255: 571-586.

Volk, W.A, and M.F. Wheeler. 1984. *Mikrobiologi Dasar*. Ed ke-5. Markham, penerjemah; Adisoemarto S, editor. Hasrper & Row Publisher Inc., USA. Terjemahan dari : *Basic Microbiology*.

White, D. 1995. *The Physiology and Biochemistry of Procaryotes*. Oxford University Press, USA.