

UJI HAYATI DAN KARAKTERISASI ISOLAT RHIZOBAKTERI FOSFAT DENGAN INDIKATOR TANAMAN JAGUNG

(BIOLOGICAL TEST AND CHARACTERIZATION OF PHOSPHATE RHIZOBACTERIAL ISOLATE USING CORN PLANT INDICATOR)

Tessa Novianty Putri Asova, Anggi Jingga, Mieke R. Setiawati, dan Tualar Simarmata

Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang km 21 Jatinangor 45363
email: tessanoviantyp@gmail.com

Abstrak

Rhizobakteri fosfat (RF) berperan penting dalam meningkatkan kelarutan dan ketersediaan fosfat bagi tanaman. Eksperimen untuk mengetahui kemampuan isolat RF dengan menggunakan tanaman jagung sebagai indikator telah dilakukan sejak bulan Maret sampai Agustus 2017 di laboratorium dan rumah kaca. Uji hayati (*bioassay*) menggunakan media Murphy dan tanaman jagung sebagai indikator dilakukan dengan memanfaatkan rancangan acak kelompok yang terdiri dari enam perlakuan (satu kontrol dan 5 isolat RF) dan diberi ulangan sebanyak lima kali. Panjang akar, tinggi tanaman, dan bobot kering tanaman diukur setelah 14 hari. Produksi enzim fosfatase dan P-terlarut diamati dengan menggunakan metoda Eivzy Tabatai dan Bray I. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat RF memiliki kemampuan yang relatif berbeda dalam melarutkan P, produksi fosfatase dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Isolat J1M dan J5H menghasilkan enzim fosfatase sebesar 63,25 µg pNP/g/h dan 62,84 µg pNP/g/h dan P-terlarut sebesar 66,24 ppm dan 75,42 ppm. Isolat J1M dan J5H mampu menghasilkan bobot kering tanaman sekitar 728 mg dan 660 mg (sekitar 60,3% dan 45,3% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol).

Kata kunci: *rhizobakteri fosfat, fosfatase, dan uji hayati*

Abstract

Phosphate rhizobacteria (PR) plays an important role in increasing solubility and availability of phosphate for plants. The experiment to investigate the capabilities of PR isolates was conducted from March to August 2017 in laboratories and greenhouse. Bioassay test using the Murphy media and maize as indicator was arranged as a randomized block design consist of six treatments (one control and five isolates PR) and provided with five replications. The plant height, root length, and dry weight of plant were measured at 14 days. The dissolved P and enzyme phosphatase production were measured using Bray I and Eivzy Tabatai methods. The result shows that the PR isolates had relatively different ability to dissolve of P, produce of phosphatase and to increase the plant growth. J1M and J5H isolates has produced of phosphatase enzyme 63.25 µg pNP/g/h and 62.84 µg pNP/g/h, soluble phosphate 66.24 ppm and 75.42 ppm. J1M and J5H isolates were able to produce dry weights of plants 728 mg and 660 mg (about 60.3% and 45.3% higher than control).

Keyword: *phosphate rhizobacteria, phosphatase, and bioassay*

PENDAHULUAN

Intensifikasi pertanian dipacu untuk meningkatkan produksi guna memenuhi kebutuhan pangan yang terus meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk Indonesia yang mencapai 262 juta jiwa per Juli 2017 (BPS, 2017). Konsekuensinya, pertanian intensif dengan bertumpu pada penggunaan pupuk anorganik dan berbagai bahan kimia lainnya terus dikembangkan untuk meningkatkan produksi pangan dan produk pertanian lainnya (Simarmata, Turmuktini, Fitriatin, & Setiawati, 2016). Akibatnya, kebutuhan *input* untuk meningkatkan produksi berbagai tanaman (pupuk buatan, pestisida, bahan kimia lainnya) dan penggunaan energi yang tidak dapat diperbarui (*nonrenewable energy*) terus meningkat (Simarmata, Joy, & Danapriatna, 2012; Khotimah, Hidayat, & Mahfud, 2018). Penggunaan pupuk anorganik secara intensif selain dapat meningkatkan produktivitas tanaman secara signifikan, ternyata memberikan dampak terhadap percepatan penurunan kualitas dan kesehatan tanah (*soil quality and soil health*) (Sudjana, Jingga, & Simarmata, 2017). Kajian terkini, menunjukkan bahwa 90% dari 70 juta ha lahan pertanian secara signifikan telah terdegradasi, bahkan sudah dikategorikan sebagai lahan sakit dan kelelahan (*sick and fatigue soils*) (Mulyani, Setyorini, Rochayati, & Las, 2012; Simarmata, 2013; Simarmata *et al.*, 2016).

Upaya pemulihan dan peningkatan produktivitas lahan secara berkelanjutan dapat dilakukan dengan meningkatkan peranan pupuk hayati dalam meningkatkan dan memfasilitasi ketersediaan hara, menghasilkan pupuk organik beragen hayati, mengurangi penggunaan pupuk anorganik dan bahan energi berbahan fosil, dan memperbaiki kesehatan tanah dan meningkatkan produktivitas tanah maupun tanaman. Dalam arti sempit (*in strict sense*) pupuk hayati bukanlah pupuk yang langsung memberikan hara bagi tanaman, tetapi secara tidak langsung meningkatkan ketersediaan hara bagi tanaman (Boraste *et al.*, 2009; Panda, 2011).

Kontribusi pupuk hayati di Indonesia tersebut masih relatif rendah dibandingkan potensinya. Potensi bakteri penambat N (simbiotik dan nonsimbiotik) dapat dimanfaatkan untuk mensuplai kebutuhan N tanaman hingga 75%, mikroba pelarut P (bakteri dan jamur) berperan penting dalam meningkatkan ketersediaan P hingga 50%. Kendala utama dalam pemanfaatan pupuk hayati berkaitan erat dengan keefektifan pupuk hayati tidak langsung terlihat, ketersediaan pupuk hayati masih terbatas, dan pengetahuan maupun pemahaman masih rendah (Simarmata *et al.*, 2012; Fitriatin, Agustina, & Hindersah, 2017).

Keefektifan rhizobakteri fosfat (RF) atau pupuk hayati fosfat sangat bergantung

pada kualitas isolat sebagai bahan aktif dalam inokulan. Karakteristik isolat unggul RF antara lain mampu menghasilkan enzim fosfatase dan meningkatkan kelarutan P; menghasilkan berbagai macam asam-asam organik; mampu menghasilkan hormon tumbuh untuk merangsang pertumbuhan akar dan tanaman; dan (4) mampu meningkatkan efisiensi pemupukan dan pertumbuhan maupun hasil tanaman. Hasil kajian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam menguji keefektifan isolat RF unggul dengan menggunakan tanaman jagung sebagai indikator.

METODE PENELITIAN

Eksperimen dilaksanakan di rumah kaca dan laboratorium Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Kecamatan Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Agustus 2017. Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan enam perlakuan (A= kontrol (tanpa isolat RF), B= isolat RF J3B, C= isolat RF J2G, D= isolat RF J3T, E= isolat RF J5H, dan F= isolat RF J1M) dan diulang sebanyak lima kali. Isolat RF yang digunakan koleksi tim penelitian ALG Mikrobiologi Tanah Faperta UNPAD yang terdiri dari lima isolat yaitu J1M, J5H, J3T, J3B, dan J2G. Isolat RF J1M di peroleh

dari rhizosfir jagung asal Majalengka, J5H diperoleh dari hutan alami asal Garut, J3T diperoleh dari rhizosfir jagung asal Tasikmalaya, J3B diperoleh dari rhizosfir jagung asal Bandung, J2G diperoleh dari rhizosfir jagung asal Garut. Pengambilan contoh tanah dilakukan dengan *random sampling method* yaitu menentukan titik-titik pengambilan contoh tanah secara acak, tetapi menyebar rata di seluruh bidang tanah yang diwakili. Setiap titik yang diambil mewakili daerah sekitarnya, kemudian diisolasi dan dilihat luas zona bening lalu diambil isolat yang memiliki indeks pelarutan fosfat tertinggi.

Bioassay dengan tanaman jagung sebagai indikator yang menggunakan media Murphy (komposisi media: CaSO_4 , H_2O , $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl , KCl , ZnCl_2 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, FeSO_4 , Agar, Akuades). Prinsip kerja dari metode Murphy ini yaitu untuk melihat aktivitas pelarutan P yang dilakukan oleh RF dengan mengeluarkan enzim fosfatase dan senyawa-senyawa organik, yang akan menghasilkan P menjadi tersedia bagi tanaman. Benih jagung yang telah disterilisasi dengan HgCl_2 0,2 % selama ± 2 menit dan diberi alkohol 70% selama $\pm 1-2$ menit, kemudian dibilas dengan akuades sebanyak tiga kali, lalu dikecambahkan pada cawan petri yang dialasi kertas merang steril yang telah dibasahi akuades steril. Selanjutnya kecambah ditumbuhkan dalam

tabung reaksi 100 mL yang berisi 95 mL media Murphy dan mengandung 7 mL suspensi RF (kepadatan 10^7 - 10^8 cfu/mL). Kemudian disimpan dan diamati dalam rumah kaca selama 14 hari dan dilakukan pengukuran terhadap tinggi tanaman (cm), panjang akar (g), berat kering tanaman (mg).

Analisis enzim fosfatase ditentukan berdasarkan metode Eivzy dan Tabatai yaitu dengan pemberian substrat p-nitrofenilfosfat sehingga senyawa p-nitrofenol yang terbentuk akibat aktivitas enzim kemudian terwarnai oleh larutan sodium hidroksida. Tahapan pengujian ini yaitu sampel RF ditambah larutan *buffer* dan substrat pNP dan diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi ditambahkan 1 mL CaCl_2 0,5 M dan 4 mL NaOH yang selanjutnya dilakukan pengenceran, dikocok, dan disaring sehingga absorbansi filtrat dapat ditera dengan spektrofotometer 400 nm.

Penetapan jumlah Pterlarut dilakukan dengan metode Bray I yaitu dengan memasukkan 1 mL bakteri dan 25 mL ekstrak Bray I ke dalam botol film, lalu di-*shaker* selama lima menit. Setelah di-*shaker*, mengambil 2 mL larutan tersebut dan di masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 8 mL pereaksi biru ke dalam tabung reaksi dan di homogenkan, ditunggu selama 30 menit. Selanjutnya absorbansi filtrat dapat ditera dengan spektrofotometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Tanaman

Inokulasi isolat RF memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap tinggi tanaman, tetapi berpengaruh terhadap panjang akar (Tabel 1). Data Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil analisis efek isolat RF tidak terjadi perbedaan nyata antar perlakuan kelima isolat RF terhadap tinggi tanaman, walaupun

Tabel 1
Pengaruh terhadap Tinggi Tanaman dan Panjang Akar Jagung

Perlakuan	Tinggi Tanaman (cm)	Panjang Akar (cm)	<i>Increasment</i> Panjang Akar (%)
Kontrol	10,94 a	12,26 a	-
J3B	12,46 a	11,60 a	-6,0
J2G	12,96 a	11,28 a	-8,0
J3T	13,70 a	12,72 a	3,7
J5H	13,96 a	18,90 ab	54,0
J1M	14,40 a	22,20 b	81,0

Keterangan:

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

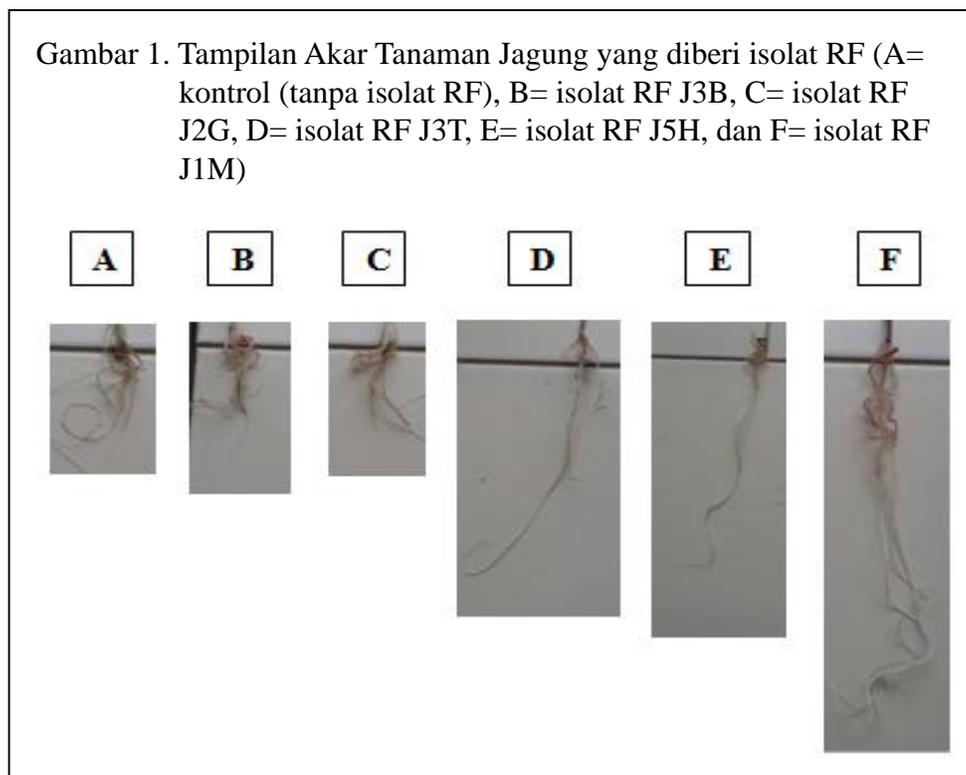
RF J1M cenderung meningkatkan tinggi tanaman jagung, tetapi terdapat perbedaan nyata terhadap panjang akar. Secara visual akar tanaman yang diberi isolat lebih panjang dari pada kontrol (Gambar 1).

Aktivitas RF mampu meng-hasilkan hormon tumbuh yaitu IAA yang berfungsi dalam perpanjangan akar. Selain itu, adanya aktivitas hormon tumbuh lain seperti giberelin sehingga aplikasi isolat RF lebih cenderung bekerja pada akar. RF J1M mampu secara mandiri meningkatkan panjang akar. Panjang akar lebih menentukan dari pada bobot akar dalam menyerap nutrisi, karena akar yang panjang akan dengan mudah menyerap nutrisi di dalam tanah dengan jangkauan yang luas.

Bobot Kering Tanaman

Inokulasi isolat RF memberikan pengaruh yang berbeda terhadap bobot kering tajuk, akar, dan total (Tabel 2). Secara keseluruhan isolat RF J5H dan J1M berpengaruh nyata terhadap bobot kering tajuk, akar jagung dan bobot kering tanaman. Bobot kering tanaman pada isolat J5H dan J1M lebih tinggi sekitar 45,3% dan 60,3% dibandingkan dengan kontrol. Lebih lanjut tampak bahwa rasio bobot kering tajuk dengan akar lebih kecil dari 1,2 (berkisar 0,44-0,57). Hal ini berarti isolat RF mendorong pertumbuhan akar.

Hasil uji karakterisasi menunjukkan bahwa isolat RF memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan enzim fosfatase dan P-terlarut (Gambar 2 dan 3).



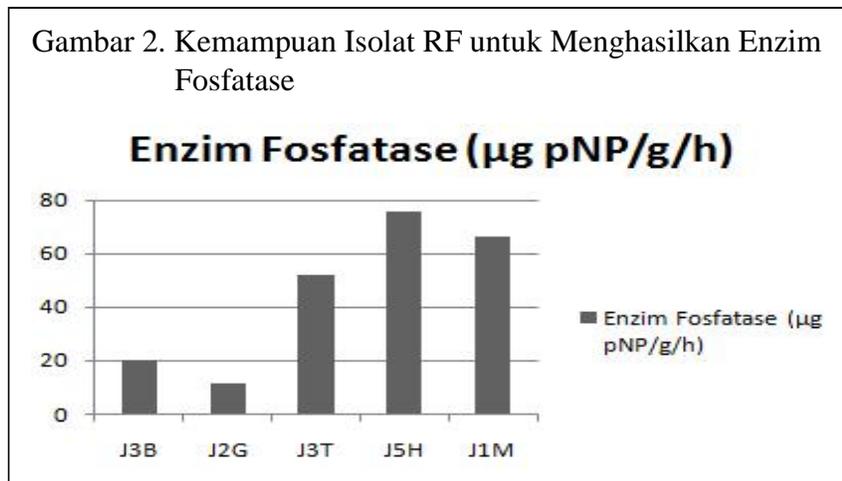
Tabel 2.

Pengaruh Isolat RF terhadap Bobot Kering Tanaman

Sampel	Bobot Kering Tajuk (mg)	Bobot Kering Akar (mg)	Bobot Kering Tanaman		Rasio Berat Kering Tajuk-Akar
			Total (mg)	Increasesment (%)	
Kontrol	34 a	420 a	454	-	0,35 a
J3B	50 ab	500 ab	550	21,1	0,57 b
J2G	50 ab	500 ab	550	21,1	0,44 ab
J3T	54 b	530 ab	584	28,6	0,54 ab
J5H	56 b	604 b	660	45,3	0,44 ab
J1M	68 b	660 b	728	60,3	0,51 ab

Keterangan:

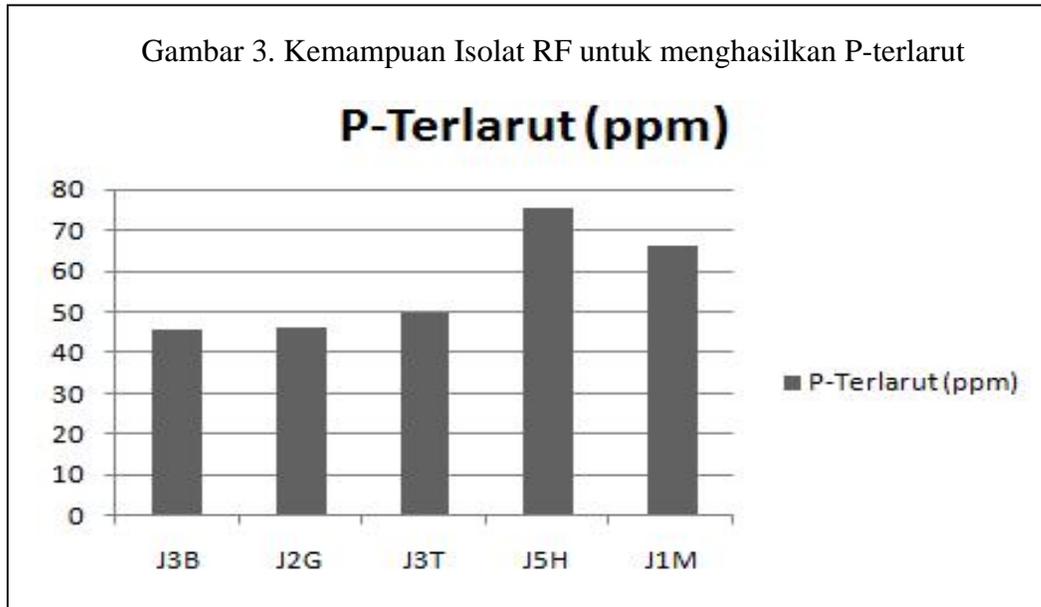
Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandaidengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%



Gambar 2 menunjukkan bahwa isolat RF yang mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menghasilkan produksi enzim fosfatase yaitu isolat J1M sebesar 63,25 µg pNP/g/h, J5H sebesar 62,84 µg pNP/g/h, dan J3T sebesar 51,69 µg pNP/g/h lebih besar dibandingkan yang dihasilkan isolat RF lainnya. Fosfatase merupakan enzim yang akan dihasilkan apabila ketersediaan fosfat rendah. Pada proses mineralisasi

bahan organik, senyawa fosfat organik diuraikan menjadi bentuk fosfat anorganik yang ter-sedia bagi tanaman dengan bantuan enzim fosfatase. Enzim fosfatase dapat memutuskan fosfat yang terikat oleh senyawa-senyawa organik menjadi bentuk yang tersedia dan dapat diserap oleh tanaman.

Beberapa mikroba yang hidup bebas di dalam tanah memiliki kemampuan meng-



hasilkan enzim ekstraseluler yaitu kelompok enzim fosfatase yang dapat memineralisasi P organik menjadi P anorganik sehingga mampu menyediakan P yang tinggi untuk tanaman. Enzim fosfatase ini termasuk dalam kelompok enzim hidrolase yaitu enzim yang dapat menghidrolisis senyawa fosfor organik (*phosphoric ester hydrolysis*) menjadi senyawa fosfor anorganik (George, *et al.*, 2002; Saparatka, 2003; Zhongqi *et al.* 2004).

Aktivitas fosfatase asam akan bekerja dengan aktif pada keadaan pH rendah atau kemasaman yang tinggi. Aktivitas fosfatase juga akan bekerja seiring banyaknya P organik, adanya nilai aktivitas fosfatase yang tinggi diduga karena RF bekerja dengan aktif menghidrolisis P organik (Fitriatin, Yuniarti, & Mulyani, 2009).

Sapatka (2003) menjelaskan bahwa aktivitas fosfatase sangat dipengaruhi oleh kandungan nitrogen media. Dijelaskan lebih lanjut bahwa peningkatan kandungan nitrogen media dapat meningkatkan aktivitas fosfatase di dalam media. Sedangkan dari hasil penelitian Fitriatin, Joy, & Subroto (2008) menunjukkan bahwa pH medium mempengaruhi aktivitas fosfatase.

Gambar 3 menunjukkan bahwa isolat yang memiliki kandungan P terlarut yang relatif tinggi adalah J5H sebesar 75,42 ppm, J1M sebesar 66,24 ppm dan terendah yaitu J3B sebesar 45,56 ppm. Tampaknya RF mampu mensekresikan senyawa-senyawa organik yang dapat membentuk senyawa kompleks yang sukar larut. Terbentuknya senyawa kompleks ini akan menyebabkan fiksasi P menurun sehingga meningkatkan P-terlarut.

SIMPULAN

Isolat Rhizobakteri Fosfat memiliki kemampuan yang berbeda terhadap pertumbuhan tanaman, bobot kering tanaman, produksi enzim fosfatase, dan P-terlarut. Isolat J1M dan J5H memiliki kemampuan yang relatif lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya dan mampu meningkatkan bobot kering tanaman sekitar 40,3% dan 60,3% dibandingkan dengan kontrol. Dengan demikian isolat J1M dan J5H memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan menjadi bahan aktif pupuk hayati fosfat untuk tanaman jagung.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Universitas Padjadjaran yang telah mendanai penelitian ini melalui program ALG (*Academic Leadership Grant*) Unpad 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. (2017). *Produktivitas jagung dalam negeri pada tahun 2014-2015*. <https://www.bps.go.id/>.
- Boraste, A., Vamsi, K. K., Jhadav, A., Khairnar, Y., Gupta, N., Trivedi S., ..., & Joshi, B. (2009). Biofertilizers: A novel tool for agriculture. *International Journal of Microbiology Research*, 1(2), 23-31.
- Fitriatin, B. N., Yuniarti, A., & Mulyani, O. (2009). Pengaruh mikroorganisme penghasil fosfatase terhadap ketersediaan p, aktivitas fosfatase tanah dan hasil tanaman padi gogo. *Jurnal Agrikultura*, 20(3).
- Fitriatin, B. N., Joy, B., & Subroto, T. (2008, Oktober). *The Influence of organic phosphorous substrate on phosphatase activity of soil microbes*. Makalah disajikan pada International Seminar od Chemistry. Indonesia.
- Fitriatin, B. N., Agustina, M., & Hindersah, R. (2017). Populasi bakteri pelarut fosfat, p-potensial dan hasil jagung yang dipengaruhi oleh aplikasi MPF pada ultisols Jatinangor. *Jurnal Agrologia*, 6(2,) 75-83.
- George, T. S., Gregory, P. J., Wood, M., Read, D., & Buresh, R. J. (2002). Phosphatase activity and organic acids in the rhizosphere of potential agroforestry species and maize. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(10), 1487-1494.
- Khotimah, A. K., Hidayat, N., & Mahfud, M.C. (2018). Optimasi komposisi pupuk tanaman jagung menggunakan algoritme genetika. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*, 2(8), 2534-2541.
- Mulyani, A., Setyorini, D., Rochayati, S., & Las, I. (2012). *Karakteristik dan sebaran lahan sawah terdegradasi di 8 provinsi sentra produksi padi*.
- Panda, H. (2011). *Manufacture of bio-fertilizer and organic farming*. Asia Pacific Business Press Inc.
- Sarapatka, B. (2003). *Phosphatase Activities (ACP, ALP) in Agrosystem Soils* (Doctoral Thesis). Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- Simarmata, T. (2013, Oktober). *Tropical bioresources to support biofertilizer industry and sustainable agriculture in Indonesia*. Makalah disajikan pada International Seminar on Tropical Bioresources for Sustainable Bioindustry; from Basic Research to Industry. ITB, Bandung. Indonesia.
- Simarmata, T., Joy, B., & Danapriatna, N. (2012, June). Peranan penelitian dan

- pengembangan pertanian pada industri pupuk hayati (biofertilizer). Dalam *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pemupukan dan Pemulihan Lahan Terdegradasi* (pp. 29-30). Bogor.
- Simarmata, T., Turmuktini, T., Fitriatin, B. N., & Setiawati, M. R. (2016). Application of bioameliorant and biofertilizers to increase the soil health and rice productivity. *HAYATI Journal of Biosciences*, 23(4), 181-184.
- Sudjana, B, Jingga, A., & Simarmata, T. (2017). Enriched rice husk biochar ameliorant to increase crop productivity on typic hapludults. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*, 6(5).
- He, Z., Griffin, T. S., & Honeycutt, C. W. (2004). Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus in swine manure and soil. *Journal of Environmental Quality*, 33(1), 367-372.