

ISOLASI, POPULASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PELARUT FOSFAT PADA TANAH DARI TAMAN NASIONAL BOGANI NANI WARTABONE, SULAWESI UTARA

Sri Purwaningsih¹

INTISARI

Purwaningsih, S. 2003, Isolasi, Populasi dan Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah dari Taman Nasional Bogani Nani Wartanbone, Sulawesi. *Biologi 3 (1)* : 45 - 53.

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi, populasi dan karakterisasi bakteri pelarut fosfat pada tanah dari Taman Nasional Bogani Nani Wartabone, Sulawesi Utara, yang bertujuan untuk mendapatkan data populasi dan isolat murni bakteri pelarut fosfat.

Sebanyak 18 contoh tanah diambil dari 3 lokasi (daerah hutan Mainakum, Kolawak dan Mauk Molotong). Isolasi dilakukan dengan menggunakan media *Pycovskaya*, dan penghitungan jumlah bakteri dengan metode cawan hitung. Inkubasi pada suhu kamar (27-28° C) selama 15 hari. Karakterisasi dilakukan dengan menumbuhkan isolat murni pada media *Pycovskaya*. Inkubasi pada suhu kamar (27-28° C) selama 15 hari. Bakteri dapat melarutkan fosfat apabila dikelilingi zona berwarna bening.

Populasi bakteri pelarut fosfat tertinggi adalah 5×10^5 CFU/g tanah (daerah hutan Mainakum), 49×10^5 CFU/g tanah (hutan Kolawak), dan 9×10^5 CFU/g tanah (hutan Mauk Molotong). Didapatkan 8 isolat murni dari daerah hutan Mainakum, 7 isolat dari Kolawak, dan 9 isolat dari Mauk Molotong. Seluruhnya didapatkan 24 isolat murni, dan semuanya mampu melarutkan fosfat.

Kata kunci: Isolasi, populasi, karakterisasi, medium *Pycovskaya*

ABSTRACT

Purwaningsih, S. 2003 *The isolation, Population and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria on the Soil from Bogani Nani Wartabone National Park, North Sulawesi. Biologi 3 (1)* : 45 - 53.

A study was conducted in order to know the isolation, population and characterization of phosphate solubilizing bacteria on the soil from Bogani Nani Wartabone National Park, North Sulawesi. The purpose of the study was to get the population data and pure culture of phosphate solubilizing bacteria.

¹Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Jl. Juanda 18, Bogor 16002

Eighteen soil samples was taken from three location (Mainakum, Kolawak dan Mauk Molotong forest area). Isolation was done on Pycovskaya medium. Incubation in room temperature (27-28° C) until 15 days. The growth characteristic pure culture was observed by using Pycovskaya medium. Incubation in room temperature of 27-28° C, after 15 days. The clear zone surround the colonies indicate that the phosphat in the medium was hydrolized.

The highest population of phosphate solubilizing bacteria was 5×10^5 CFU/g soil (Mainakum forest area), 49×10^5 CFU/g soil (Kolawak forest area), and 9×10^5 CFU/g soil (Mauk Molotong forest area). Eigh was gave of culture pure from Mainakum forest area, seven isolates from Kolawak, and nine isolat from Mauk Molotong. All of those were gave twenty four of culture pure, and whole able to hydrolized phosphate.

Keywords: Isolation, population, characterization, YEMA medium

PENDAHULUAN

Taman Nasional Bogani Nani Wartabone (TNBNW) merupakan suatu kawasan konservasi terbesar di Sulawesi, memiliki nilai keanekaragaman hayati yang cukup tinggi. Keberadaan mikroba terutama mikroba tanah sangat menarik untuk dikaji. Mikroba tanah dapat membantu meningkatkan penyerapan unsur hara dari tanah, sehingga unsur hara tersebut dapat digunakan untuk pertumbuhan tanaman, namun jumlah, jenis dan aktivitasnya dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain tersedianya energi, dan sumber hara, kondisi fisik, kimia serta biologi tanah, selain itu mikroba tersebut dapat meningkatkan kesuburan tanah (Alexander, 1977).

Tanah-tanah di Indonesia pada umumnya memiliki karakteristik kandungan bahan organik yang rendah, mineral liat dan masam. Rendahnya bahan

organik sebagai sumber nutrisi dan energi bagi mikroba menyebabkan rendahnya aktivitas dan kehidupan mikroba didalam tanah, sedangkan beberapa jenis mikroba tersebut bertanggung jawab terhadap ketersediaan nutrisi untuk tanaman, keadaan ini yang akhirnya menghambat penyediaan unsur hara. Menurut Rao (1981) dan Dunnigan (1979) suatu alternatif untuk meningkatkan ketersediaan nutrisi untuk tanaman dan meningkatkan aktivitas mikroba tanah adalah dengan penggunaan inokulan mikroba. Pemanfaatan mikroba untuk meningkatkan efisiensi serapan hara oleh akar tanaman telah banyak dipelajari, dan hasilnya membuktikan bahwa penambahan mikroba dapat meningkatkan kelarutan unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman secara efektif, baik yang berasal dari pupuk maupun mineral tanah, selain itu meningkatkan kemampuan akar menyerap unsur hara dengan pembentukan akar rambut yang lebih banyak,

sehingga meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap unsur hara. Salah satu mikroba tanah tersebut adalah Bakteri Pelarut Fosfat (BPF).

BPF merupakan jasad renik tanah yang mempunyai kemampuan melepaskan ikatan P dan berperan dalam melarutkan P yang tidak tersedia menjadi tersedia (Alexander, 1977), dan meningkatkan penyerapan P, sehingga dapat meningkatkan ketersediaan unsur P terutama pada tanah-tanah masam (Kundu and Gaur, 1980). Jenis-jenis mikroba tersebut adalah *Penicillium* sp. (Goos *et al.*, 1994), *Bacillus* sp. (Singh and Kapoor, 1998), *Pseudomonas* sp. (Young *et al.*, 1990) dan lain sebagainya. Mikroba tersebut mempunyai kemampuan melarutkan mineral-mineral fosfat melalui sekresi asam organik (Kucey, 1987) dan melibatkan enzim fosfatase (Illmer and Schiner, 1992). Pemberian *Bacillus* sp. dapat meningkatkan serapan P tanaman Pinus 1,5 kali pada tanah yang tidak dipupuk P dan 8 kali lipat pada tanah yang diberi pupuk Trikalsium fosfat (Robert and Berthelin, 1986). Laju pertumbuhan tanaman Lamtiro meningkat setelah diberi Bakteri Pelarut Fosfat (Young *et al.*, 1990). Selain itu dilaporkan pula ada mikroba tertentu yang mampu meningkatkan kelarutan fosfat, mangan besi dan silikat (Silver *et al.*, 1986). Penggunaan inokulan mikroba sebagai pupuk hayati memiliki keunggulan

yang komperatif karena mampu meningkatkan produksi pertanian secara berkelanjutan (*sustainable agriculture*), ekonomis serta memiliki wawasan lingkungan.

Sebagai upaya untuk mengetahui keberadaan Bakteri Pelarut Fosfat tersebut diatas, maka dilakukan inventarisasi dan isolasi pada sampel tanah, yang bertujuan untuk mengetahui populasi, dan untuk mendapatkan isolat yang murni dari kawasan TNBNW, yang selanjutnya dilakukan karakterisasi untuk mengetahui isolat yang berpotensi melarutkan fosfat, yang pada akhirnya dapat digunakan sebagai pupuk hayati, terutama di kawasan TNBNW.

BAHAN DAN CARA KERJA

Pengambilan tanah

Sebanyak 0,3 kg tanah diambil pada kedalaman 0-15 cm secara random pada daerah perakaran, dicatat tanamannya, kemudian dimasukkan dalam polibag, dibawa ke Laboratorium dan disimpan dalam almari es. Sebanyak 6 sampel tanah diambil dari daerah Mainakum pada ketinggian 171 m dpl, 6 sampel dari hutan Kolawak pada ketinggian 201 m dpl, dan 6 sampel dari daerah Mauk Molotong pada ketinggian 345 m dpl, ketiganya dari kawasan TNBNW.

Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat

Isolasi dilakukan dengan cara

pengenceran, sebanyak 1 gram sampel dimasukkan dalam 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) dalam tabung reaksi kecil, kemudian di vortex, dibuat seri pengenceran dengan cara memipet larutan tersebut sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam larutan 9 ml NaCl, dan seterusnya sampai diperoleh seri pengenceran

10^{-1} – 10^{-7} , dipipet 0,1 ml dituangkan dalam petridish yang telah berisi media Picovskaya (Sundara Rao and Sinha, 1963), komposisi media terdiri atas: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5 g, NaCl 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, KCl 0,2 g, Glucose 10 g, Yeast Extract 0,5 g, MnSO_4 dan FeSO_4 sedikit, Agar 20 g, Aquadest 1000 ml, dengan pH 7, kemudian diratakan dengan spatula, setelah itu diinkubasikan pada suhu kamar (27 – 28°C), setiap hari diamati pertumbuhannya dan dihitung jumlah koloninya, dengan metode cawan hitung, pengamatan sampai umur 15 hari.

Pemurnian dan karakterisasi

Bakteri yang telah didapat kemudian dimurnikan dengan cara koloni diambil dengan Ose dimasukkan ke dalam aquadest steril (5 ml), kemudian di vortex, dipipet 0,1 ml dimasukkan dalam petridish yang telah berisi media Picovskaya, diratakan dengan spatula, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar (27 – 28°C), koloni yang tumbuh

terpisah dengan baik dipilih dan diambil dengan Ose, kemudian ditanam pada media Picovskaya miring dalam tabung reaksi (sebagai kultur murni). Isolat yang telah murni tersebut dilakukan karakterisasi dengan menumbuhkan pada media Picovskaya dalam petridish, diinkubasikan pada suhu kamar (27 – 28°C), kemudian diamati untuk melihat kemampuannya dalam melarutkan fosfat, yang ditandai dengan zona yang berwarna terang atau bening (Das, 1963). Pengamatan dilakukan setiap hari selama 15 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel tanah dari daerah Mainakum dalam kawasan TNBNW pada ketinggian 171 m dpl terdiri dari 6 sampel. Hasil isolasi menunjukkan bahwa populasi BPF yang tertinggi pada sampel tanah dari perakaran tanaman *Cudrania* sp (9×10^5 CFU/g tanah), kemudian diikuti pada sampel tanah dari perakaran tanaman *Piper aduncum* (5×10^5 CFU/g tanah), *Cudrania* sp ($1,2 \times 10^5$ CFU/g tanah), *Pometia* sp ($0,7 \times 10^5$ CFU/g tanah), dan *Leca angulata* ($0,5 \times 10^5$ CFU/g tanah), sedangkan sampel tanah yang tanpa tanaman populasinya paling rendah ($0,1 \times 10^5$ CFU/g tanah) (Tabel 1.).

Sampel tanah dari daerah hutan Kolawak dalam kawasan TNBNW pada ketinggian 201 m dpl terdiri dari 6 sampel.

Populasi BPF tertinggi pada sampel tanah dari perakaran tanaman *Livistoma rotundifolia* (49×10^5 CFU/g tanah), kemudian diikuti pada sampel dari perakaran tanaman *Pleomele angustifolia* (47×10^5 CFU/g tanah), *Piper aduncum* (10×10^5 CFU/g tanah), *Vitex pinnata* (6×10^5 CFU/g tanah), dan *Caryota mitis* (2×10^5 CFU/g tanah), sedangkan sampel tanah yang tanpa tanaman populasinya paling rendah (1×10^5 CFU/g tanah) (Tabel 2)

Sampel tanah dari daerah Mauk Molotong dalam kawasan TN.BNW pada ketinggian 345 m dpl terdiri dari 6 sampel. Populasi BPF tertinggi pada sampel tanah dari perakaran tanaman Tula-tula (9×10^5 CFU/g tanah), kemudian diikuti pada sampel tanah dari perakaran tanaman *Horsfieldia* sp. (5×10^5 CFU/g tanah), *Michelia* sp. (3×10^5 CFU/g tanah), Nema ($0,7 \times 10^5$ CFU/g tanah), dan *Syzgium* sp. ($0,3 \times 10^5$ CFU/g tanah), sedangkan sampel tanah yang tanpa tanaman populasinya paling rendah ($0,2 \times 10^5$ CFU/g tanah) (Tabel 3.).

Dari semua sampel tanah yang telah dilakukan isolasi dan telah didapatkan isolatnya (Tabel 1., 2. dan 3.) menunjukkan bahwa sampel tanah yang diambil dari daerah perakaran tanaman populasinya lebih besar dibandingkan dengan sampel tanah yang tanpa tanaman, hal ini disebabkan karena tanaman melakukan metabolisme dan senyawa

metabolit tersebut dilepaskan oleh tanaman kedalam tanah melalui akar yang disebut eksudat. Eksudat tersebut dimanfaatkan oleh bakteri untuk kelangsungan hidupnya, sehingga bakteri dapat bertahan hidup dan memperbanyak diri, yang akhirnya didapatkan populasi bakteri yang lebih banyak. dibandingkan pada sampel tanah yang tanpa tanaman. Seperti yang dilaporkan oleh Gibson, (1981) bahwa aktivitas metabolisme dan senyawa metabolit yang dilepaskan oleh tanaman kedalam tanah melalui akar merupakan faktor yang sangat menentukan keadaan mikrobiologi tanah pada daerah perakaran tanaman, sedangkan Waksman (1952) menambahkan bahwa eksudat terdiri dari senyawa-senyawa gula, asam amino, asam organik, glikosida, senyawa-senyawa nucleotida dan basanya, enzim, vitamin dan senyawa indole yang merupakan hasil metabolisme yang dikeluarkan tanaman melalui akar sangat menentukan populasi jasad renik didalam tanah, selain itu faktor kesuburan tanah, reaksi tanah (pH), ketersediaan energi dan sumber hara, serta kondisi fisik, kimia dan biologi lingkungan sangat mempengaruhi populasi jasad renik tanah (Hoffman, 1914 dalam Waksman, 1952).

Setelah dilakukan pemurnian, sampel dari daerah Mainakum didapatkan isolat sebanyak 8 isolat, dari daerah hutan Kolawak sebanyak 7 isolat, dan dari

Tabel 1. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat dari daerah Mainakum dalam kawasan TN.BNW pada ketinggian 171 m dpl.

No. sampel	Perakaran tanaman	Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (CFU/g tanah X 10 ⁵)	Jumlah isolat
1 TW	<i>Cudrania sp.</i>	3,7	1
2 TW	<i>Euodia sp.</i>	5	2
3 TW	<i>Pometia sp</i>	0,8	1
4 TW	<i>Leea angulata</i>	0,6	1
5 TW	<i>Piper aduncum</i>	15	1
6 TW	Tanpa tanaman	0,2	2

Tabel 2. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat dari kawasan hutan Kolawak, pada ketinggian 201 m dpl.

No. sampel	Perakaran tanaman	Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (CFU/g tanah X 10 ⁵)	Jumlah isolat
1 TM	<i>Pleomele angustifolia</i>	47	2
2 TM	<i>Vitex pinnata</i>	6	1
3 TM	<i>Livistona rotundifolia</i>	49	1
4 TM	<i>Piper aduncum</i>	10	1
5 TM	<i>Caryota mitis</i>	2	1
6 TM	Tanpa tanaman	1	1

Tabel 3. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat dari daerah Mauk Molotong, pada ketinggian 345 m dpl.

No sampel	Perakaran tanaman	Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (CFU/g tanah X 10 ⁵)	Jumlah isolat
1 TD	<i>Syzygium sp.</i>	0,3	1
2 TD	Tula-tula	9	2
3 TD	Nema	0,7	2
4 TD	<i>Michelia sp.</i>	3	2
5 TD	<i>Horsfieldia sp.</i>	5	1
6 TD	tanpa tanaman	0,2	1

Tabel 4. Kemampuan melarutkan fosfat dari 24 isolat murni yang didapat

No koleksi	lokasi	Zonasi (hari ke)
1 TWP (1)	Mainakum	3
2 TWP (1)	Mainakum	2
2 TWP (2)	Mainakum	4
3 TWP (1)	Mainakum	5
4 TWP (1)	Mainakum	2
5 TWP (1)	Mainakum	3
6 TWP (1)	Mainakum	4
6 TWP (2)	Mainakum	2
1 TMP (1)	Kolawak	3
1 TMP (2)	Kolawak	6
2 TMP (1)	Kolawak	5
3 TMP (1)	Kolawak	4
4 TMP (1)	Kolawak	2
5 TMP (1)	Kolawak	5
6 TMP (1)	Kolawak	4
1 TDP (1)	Mauk Molotong	6
2 TDP (1)	Mauk Molotong	7
2 TDP (2)	Mauk Molotong	2
3 TDP (1)	Mauk Molotong	3
3 TDP (2)	Mauk Molotong	5
4 TDP (1)	Mauk Molotong	6
4 TDP (2)	Mauk Molotong	4
5 TDP (1)	Mauk Molotong	3
6 TDP (1)	Mauk Molotong	2

daerah Mauk Molotong sebanyak 9 isolat (Tabel 1., 2. dan 3.). Jadi secara keseluruhan hanya didapatkan isolat sebanyak 24 isolat murni, hal ini disebabkan karena dalam pemurnian untuk mendapatkan koloni tunggal harus melakukan pemurnian yang berkali-kali,

kadang-kadang terjadi kontaminasi dan kadang ada yang mati. Untuk uji karakterisasi, yaitu untuk mengetahui kemampuannya dalam melarutkan fosfat, terlihat bahwa dari 24 isolat murni yang diuji diketahui semuanya mampu melarutkan fosfat, namun pembentukan

zonasinya bervariasi, yaitu mulai terbentuk pada hari ke 2 sampai hari ke 7, hal ini tentunya cukup menarik, karena selain belum banyak dilaporkan, bahwa pembentukan zonasi yang lebih cepat akan mempunyai kemampuan melarutkan fosfat yang cepat pula, namun dapat diharapkan bahwa dalam aplikasi nanti isolat tersebut dapat memperbaiki tanaman yang mengalami defisiensi (kahat) fosfor. Fath (1990) menyatakan bahwa jumlah unsur P dalam tanah kurang lebih ada 70 %, tetapi terikat pada unsur lainnya, sehingga tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk tumbuh dan berkembang. Dengan adanya aplikasi isolat-isolat tersebut diharapkan mampu melarutkan unsur P yang dalam bentuk terikat menjadi tersedia, yang pada akhirnya unsur P tersebut dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk pertumbuhannya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada sampel tanah dari daerah hutan Mainakum, Kolawak dan Mauk Molotong mengandung Bakteri Pelarut Fosfat dengan populasi yang bervariasi. Populasi pada daerah perakaran tanaman lebih besar dibandingkan pada yang tanpa tanaman.

Dari daerah Mainakum didapatkan isolat BPF sebanyak 8 isolat, dari hutan Kolawak sebanyak 7 isolat dan dari

daerah Mauk Molotong sebanyak 9 isolat. Secara keseluruhan didapatkan 24 isolat murni, yang semuanya mampu melarutkan fosfat.

Penelitian ini perlu dilanjutkan uji efektifitas isolat yang telah diperoleh untuk mendapatkan isolat yang potensial, yang selanjutnya dapat digunakan sebagai pupuk hayati, terutama di kawasan TNBNW.

PUSTAKA ACUAN

- Alexander. M. 1977. *Soil Microbiology*. 2nd ed. John Wiley and Sons. Inc. New York. 472 p.
- Das. A.C. 1963. Utilization of Insoluble Phosphate by Soil Fungi. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 11: 203-207.
- Dunnigan. E. P. 1979. Microbial fertilizer, activators and conditioners : A critical review of their value to agriculture. *Develop. Indust. Microbiol.* 20: 311-322.
- Fath, H.D. 1990. *Fundamental of Soil Science* 8th ed. John Wiley & Sons. New York. 360 p.
- Gibson. A. H. 1981. Current Perspectives in Nitrogen Fixation. *Proceeding of the fourth International Symposium on Nitrogen Fixation*. Aust. Academy of Sci. 534 p.

- Goos. R. E, B.E. Johnson and R.W. Stack. 1994. *Penicillium biliji* and phosphorus fertilization effects on the growth, development yield, and common root seventy of spring wheat. *Fertilizer Research*. 39: 97-103.
- Illmer. P and F. Schiner. 1992. Solubilization of organik phosphate by microorganism isolated from forest soil. *Soil Biol. Biochem*. 24: 389-395.
- Kucey. R.M.N. 1987. Increased phosphorus uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium biliji* strain and with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environ. Microbiol*. 53: 2699-2703.
- Kundu. B.S and A.C. Gaur. 1980. Establishment of Nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. *Plant and Soil*. 57: 223-230.
- Rao. S.S.S. 1981. *Biofertilizer in agriculture*. Oxford & IBH. Pub. Co. 186 p.
- Robert. M and . Berthelin. 1986. Role of biological and biochemical factors in soil mineral weathering. In. P.M. Huang and M. Schnitzer (editors). *Interaction of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes*. SSSA Spec. Pub. No. 17. Madison. WI. Soil Sci. Am. Inc. p: 453-496.
- Silver. M, H.L. Ehrlich, and K.C. Ivarson. 1986. Soil mineral transformation mediated by soil microbes. In. P.M. Huang and M. Schnitzer (editors). *Interaction of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes*. SSSA Spec. Pub. No. 17. Madison. WI. Soil Sci. Am. Inc. p: 497-520.
- Singh. S and K.K. Kapoor. 1998. Effects of inoculation of phosphatase solubilizing microorganism and arbuscular mycorrhizal fungus on mungbean grown under natural soil condition. *Mycorrhiza*. 7: 249-253.
- Subba Rao. N.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Penerbit Universitas Indonesia. 353 h.
- Sundara Rao, W.V.B and M.K. Sinha. 1963. Phosphate Dissolving Microorganism in the Soil and Rhizosphere. *Indian J. Agric. Sci*. 33: 272-278.
- Waksman. S.A. 1952. *Soil Microbiology*. John Willey and Sons. Inc. New York. London. 345 p.