

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol di Kecamatan Rumbai, Pekanbaru

Oksana¹, Mokhamad Irfan², Annisa Ramadhani Fianiray³, Syukria Ikhsan Zam^{4*}

¹⁻⁴Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture and Animal Sciences, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, Pekanbaru, Indonesia

Received 27 November 2019; Accepted 30 May 2020; Published 25 June 2020

ABSTRACT

Phosphate-solubilizing bacterial can fulfill the low available of soluble P on Ultisol. This research aimed to study on the quantity of the population bacteria and identify phosphate-solubilizing bacteria on Ultisol from Rumbai District, Pekanbaru. The research method used was descriptive method. Soil sample was collected from teak plantations of PT. Air Jernih, Sub district of Rumbai Pesisir, Pekanbaru and identification of phosphate-solubilizing bacteria was conducted in Laboratory of Pathology, Entomology and Microbiology, Faculty of Agriculture and Animal Husbandry, Universitas Sultan Syarif Kasim State Islamic, Riau from May-September 2017. The observed parameters were bacterial cell numbers, phosphate solubilization index, microscopic and biochemical characteristics. Four isolates were obtained with cell numbers ranging from $4.2 \times 10^5 - 7.1 \times 10^5$ CFU/g of soil. All isolates showed the ability to dissolve phosphate with phosphate solubilization index ranging from 1.16 – 1.57. The four isolates were identified as *Klebsiella* (IBJ1 and IBJ2), and *Acinetobacter* (IBJ3 and IBJ4).

Keywords: *Acinetobacter*; *Klebsiella*; Phosphate Solubilization Index

Cite This As (CSE Style): Oksana, Irfan M, Fianiray AR, Zam SI. 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat Pada Tanah Ultisol di Kecamatan Rumbai, Pekanbaru. *Agrotech Res J* 4(1): 22-25. <https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i1.36063>

PENDAHULUAN

Fosfor merupakan salah satu unsur yang diperlukan tumbuhan (West et al., 1998). Kandungan unsur tersebut dalam tanah cukup tinggi, namun ketersediaan fosfor untuk tanaman sangat terbatas. Hal tersebut disebabkan karena pada umumnya P di tanah hadir sebagai kelat logam yang tidak larut (Vassilev et al. 2006; Collavino et al. 2010).

Tanah ultisol termasuk ke dalam tanah marginal (Anikwe et al. 2016). Tanah ini memiliki komposisi 69,3% pasir, 16,3% liat dan 14,3% lempung (Sumono et al. 2018), umumnya asam (Anikwe et al. 2016), kapasitas tukar kation dan kandungan nutrisi yang rendah, serta kandungan aluminium (Al) yang tinggi. Rendahnya pH tanah atau kemasaman tanah yang tinggi dapat berpengaruh terhadap ketersediaan unsur P bagi tanaman. Menurut Soepardi (1986) dan West et al. (1998) pada tanah masam, sebagian besar fosfat tidak tersedia bagi tanaman karena fosfat terikat oleh Al (aluminium) dan Fe (besi) menjadi aluminium fosfat atau besi fosfat. Hal tersebut mengakibatkan pemberian pupuk P menjadi tidak efisien, karena akan diubah menjadi sumber fosfat yang tidak larut (Vassilev et al. 2006). Pemanfaatan pupuk P kimia secara terus

menerus dapat mengakibatkan eutrofikasi, penurunan kesuburan tanah (Ingle dan Padole 2017), peningkatan akumulasi elemen toksik, seperti selenium (Se) dan arsenik (As) di tanah (Alori et al. 2017).

Pemanfaatan bakteri pelarut fosfat (BPF) dapat menjadi solusi dalam penanggulangan permasalahan ketersediaan P (Ingle dan Padole 2017). Bakteri tersebut memiliki nilai agronomis, karena dapat mengubah P-organik menjadi P-anorganik, sehingga dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan (Aşkin dan Kizilkaya 2006). Belum adanya laporan tentang isolasi BPF dari tanah ultisol di Pekanbaru, sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan isolat yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan adaptasi yang tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan pada berbagai agroekosistem lahan pertanian di tanah ultisol. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi BPF pada tanah ultisol dari Kecamatan Rumbai Kota Pekanbaru.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan bulan Mei-September 2017. Pengambilan sampel tanah dilakukan di perkebunan jati milik PT. Air Jernih, Kecamatan Rumbai Pesisir, Kota Pekanbaru, Indonesia (0°34' – 3'4" LU dan 101°28' – 02'0" BT). Isolasi identifikasi BPF dilakukan di Laboratorium Patologi, Entomologi dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim, Riau.

*Corresponding Authors:

¹E-Mail: syukria.ikhsan.zam@uin-suska.ac.id

Alat yang digunakan adalah Lampu Bunsen, pipet ukur, gelas beaker, mikroskop, autoklaf, vortex, Cawan Petri, *hot plate*, batang L, Labu Erlenmeyer, timbangan analitik, *laminar air flow*, Jarum Ose, tabung reaksi, inkubator, bor tanah dan kaca preparat. Bahan yang digunakan adalah NaCl 0,85%, alkohol 96%, akuades, set pewarnaan Gram (Merck®), medium *nutrient agar* (NA), medium agar Pikovskaya, medium *sugar, indol and motility* (SIM), medium *triple sugar iron agar* (TSIA), medium *Simmons citrate agar* (SCA), media gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sakarosa), larutan H₂O₂, *aluminium foil*, dan kapas lemak.

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* dengan mengambil sampel tanah sebanyak 10 g dari kedalaman 0-30 cm. Sampel tanah yang diperoleh diletakkan di dalam *cool box* (5°C) dan dibawa ke laboratorium untuk isolasi bakteri pelarut fosfat. Isolasi dilakukan dengan mengacu kepada (Sharon et al. 2016) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 g tanah sampel disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl 0,85% steril, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex, selanjutnya dilakukan pengenceran hingga seri pengenceran 10⁻⁶. Isolasi dilakukan pada tiga seri pengenceran terakhir (10⁻⁴ – 10⁻⁶) dengan menggunakan metode *spread plate* pada Cawan Petri yang berisi medium NA padat secara aseptis, selanjutnya diinkubasikan 1-3 x 24 jam pada suhu 27°C. Koloni bakteri yang tumbuh diamati karakteristik morfologi dan dihitung jumlahnya. Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan dengan menggunakan metode *four way streak* pada Cawan Petri yang berisi medium NA padat, selanjutnya diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 27°C. Kultur murni yang diperoleh dilakukan pewarnaan Gram dengan merujuk kepada Cappuccino dan Welsh (2018). Hasil pewarnaan Gram diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x.

Skrining bakteri pelarut fosfat dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat pada Cawan Petri yang berisi medium agar Pikovskaya padat. Inokulasi dilakukan dengan cara menitikkan isolat pada tengah-tengah Cawan Petri menggunakan Jarum Ose lurus secara aseptis, selanjutnya diinkubasi selama 7 x 24 jam pada suhu 27°C. Isolat-isolat yang membentuk zona bening dinyatakan sebagai BPF, selanjutnya dilakukan pengukuran diameter koloni dan zona bening yang terbentuk (Karpagam dan Nagalakshmi, 2014). Berdasarkan hasil pengukuran, selanjutnya dilakukan perhitungan indeks kelarutan fosfat dengan menggunakan rumus Sharon et al. (2016)

$$IKF = \frac{DK+ZB}{DK}$$

Keterangan:

IKF = indeks kelarutan fosfat

DK = diameter koloni

ZB = zona bening

Uji biokimia yang dilakukan meliputi: uji katalase, oksidase, fermentasi, TSIA, SIM, SCA, an uji gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sakarosa). Uji dilakukan dengan merujuk kepada Cappuccino & Welsh (2018). Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan karakteristik makroskopis, mikroskopis dan biokimia isolat-isolat yang diperoleh dengan merujuk kepada Holt et al. (1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan isolat bakteri berjumlah 4 isolat, dengan jumlah sel 4,2x10⁵ – 7,1x10⁵ CFU/g tanah (Tabel 1). Jumlah isolat yang ditemukan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian (Purwaningsih 2004; Azmi dan Chatterjee 2016), sedangkan jumlah sel pada rentang yang sama. Jumlah sel penelitian ini lebih rendah dibandingkan hasil yang ditemukan oleh Bhattarai (2015) dengan jumlah sel berkisar antara 10⁸ – 10⁹ CFU/ g tanah. Perbedaan jumlah sel bakteri di tanah menurut Meliani et al. (2012) dapat dipengaruhi oleh tumbuhan dan tipe tanah, selain itu menurut Viera & Nahas (2005) media kultur yang digunakan juga mempengaruhi jumlah isolat bakteri dan jumlah sel bakteri yang terisolasi.

Tabel 1. Isolat dan jumlah sel bakteri hasil isolasi

Kode Isolat	Jumlah Sel (CFU/g Tanah)
IBJ1	4,2x10 ⁵
IBJ2	4,7x10 ⁵
IBJ3	7,1 x10 ⁵
IBJ4	6,1 x10 ⁵

Seluruh isolat yang diperoleh penelitian ini memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat. Indeks kelarutan fosfat berkisar antara 1,16 – 1,57. Indeks kelarutan fosfat tertinggi dalam penelitian ini dimiliki oleh isolat IBJ 2 dengan nilai 1,57, sedangkan indeks kelarutan fosfat terendah dimiliki oleh isolat IBJ4 dengan nilai 1,16 (Tabel 2). Perbedaan nilai indeks pelarutan fosfat dari setiap isolat erat kaitannya dengan kemampuan masing-masing isolat dalam melarutkan fosfat yang terikat. Menurut Widawati (2006) setiap spesies bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan asam-asam organik, baik dalam jumlah maupun jenisnya selama pertumbuhan, sehingga berpengaruh dalam pelarutan fosfat. Kemampuan dalam melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Hal ini terjadi karena adanya asam organik yang diekskresikan oleh bakteri dan kemudian berikatan dengan ion Ca dari Ca₃(PO₄)₂ pada media Pikovskaya dan membebaskan H₂PO₄ sehingga membentuk area yang berwarna jernih.

Tabel 2. Indeks kelarutan fosfat isolat bakteri

Kode isolat	Diameter koloni (mm)	Zona bening (mm)	Indeks kelarutan fosfat
IBJ1	7	2	1,28
IBJ2	7	4	1,57
IBJ3	15	4	1,26
IBJ4	6	1	1,16

Berdasarkan pengamatan terhadap karakteristik mikroskopis dan biokimia (Tabel 3), isolat IBJ 1 dan IBJ 2 teridentifikasi sebagai genus *Klebsiella*, sedangkan IBJ 3 dan IBJ 4 teridentifikasi sebagai genus *Acinetobacter* (Holt et al., 1994). Kedua genus ini telah dilaporkan sebagai bakteri yang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat. *Klebsiella* dilaporkan oleh (Sadiq et al. 2013; Bhardwaj et al. 2017; Dollinger et al. 2019) sebagai bakteri pelarut fosfat. *Acinetobacter* dilaporkan oleh Ogut et al. (2010) dapat melarutkan fosfat dan meningkatkan kandungan unsur P tersedia hingga 27% pada tanaman *Triticum aestivum* L.

Tabel 3. Karakteristik mikroskopis dan biokimia isolat bakteri

Karakteristik		Kode Isolat			
		IBJ1	IBJ2	IBJ3	IBJ4
Mikroskopis	Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	Batang
	Reaksi Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Biokimia	Katalase	+	+	-	-
	Oksidase	-	-	-	-
	Fermentasi	+	+	-	-
	TSIA	K/K	K/K	M/M	M/M
	SIM	-	-	-	-
	Motilitas	-	-	-	-
	Indol	-	-	-	-
	SCA	+	+	+	+
	Glukosa	+	+	-	-
	Laktosa	+	+	-	-
	Manitol	-	+	-	-
	Maltosa	+	+	-	-
	Sukrosa	+	+	-	-
		<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>

Keterangan. + (positif); - (negatif); M (merah); dan K (kuning)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Diperoleh 4 isolat bakteri dari tanah ultisol di Kecamatan Rumbai, Kota Pekanbaru dengan jumlah sel $4,2 \times 10^5 - 7,1 \times 10^5$ CFU/g tanah. Seluruh isolat memiliki kemampuan sebagai pelarut fosfat, dan teridentifikasi sebagai *Klebsiella* (IBJ1 and IBJ2), serta *Acinetobacter* (IBJ3 and IBJ4).

Saran

Perlu dilakukan uji kemampuan melarutkan fosfat dari isolat-isolat yang diperoleh pada skala rumah kaca.

DAFTAR PUSTAKA

- Alori ET, Glick BR, Babalola OO. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front Microbiol.* 8:1–8. doi:10.3389/fmicb.2017.00971.
- Anikwe MAN, Eze JC, Chima MC, Ikenganyia EE. 2016. Soil physicochemical quality in contrasting tillage systems and its effect on nodulation and nodulation effectivity of groundnut, Bambara groundnut and soybean in a degraded Ultisol in Agbani, Enugu Southeastern Nigeria. *Rhizosphere.* 1:14–16. doi:10.1016/j.rhisph.2016.05.001.
- Aşkin T, Kizilkaya R. 2006. Assessing spatial variability of soil enzyme activities in pasture topsoils using geostatistics. *Eur J Soil Biol.* 42(4):230–237. doi:10.1016/j.ejsobi.2006.02.002.
- Azmi SA, Chatterjee S. 2016. Population dynamics of soil bacteria in some areas of Midnapore coastal belt, West Bengal, India. *3 Biotech.* 6(1):1–7. doi:10.1007/s13205-015-0361-y.
- Bhardwaj G, Shah R, Joshi B, Patel P. 2017. *Klebsiella pneumoniae* VRE36 as a PGPR isolated from *Saccharum officinarum* cultivar Co99004. *J Appl Biol Biotechnol.* 5(01):047–052. doi:10.7324/jabb.2017.50108.
- Bhattarai B. 2015. Variation of soil microbial population in different soil horizons. *J Microbiol Exp.* 2(2):75–78. doi:10.15406/jmen.2015.02.00044.
- Cappuccino J, Welsh C. 2018. *Microbiology a laboratory manual* (11th ed.). Harlow: Pearson.
- Collavino MM, Sansberro PA, Mroginski LA, Aguilar OM. 2010. Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. *Biol Fertil Soils.* 46(7):727–738. doi:10.1007/s00374-010-0480-x.
- Dollinger J, Lin CH, Udawatta RP, Pot V, Benoit P, Jose S. 2019. Influence of agroforestry plant species on the infiltration of S-Metolachlor in buffer soils. *J Contam Hydrol.* 225(May):103498. doi:10.1016/j.jconhyd.2019.103498.
- Holt J, Krieg N, Sneath P, Staley J, Williams S. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9th ed.). Baltimore: Williams and Wilkins.
- Ingle KP, Padole DA. 2017. Phosphate solubilizing microbes: An Overview. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 6(1):844–852. doi:10.20546/ijcmas.2017.601.099.
- Karpagam T, Nagalakshmi P. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural science. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 3(3):601-614.
- Meliani A, Bensoltane A, Mederbel K. 2012. Microbial diversity and abundance in soil: Related to plant and soil type. *Americ J Plant Nutri Fertil Tech.* 2(1):10-18
- Ogut M, Er F, Kandemir N. 2010. Phosphate solubilization potentials of soil *Acinetobacter* strains. *Biol Fertil Soils.* 46(7):707–715. doi:10.1007/s00374-010-0475-7.
- Purwaningsih S. 2004. Population of bacteria from soil in Tudu-Aog village, Passi district, Bolaang Mongondow, North Sulawesi. *Biodiversitas, J Biol Divers.* 5(1):13–16. doi:10.13057/biodiv/d050103.

- Sadiq HM, Jahangir GZ, Nasir IA, Iqtidar M, Iqbal M. 2013. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere soil. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 27(6):4248–4255. doi:[10.5504/bbeq.2013.0091](https://doi.org/10.5504/bbeq.2013.0091).
- Sharon JA, Hathwaik LT, Glenn GM, Imam SH, Lee CC. 2016. Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth. *J Soil Sci Plant Nutr.* 16(2):525–536. doi:[10.4067/S0718-95162016005000043](https://doi.org/10.4067/S0718-95162016005000043).
- Soepardi, G. 1986. Sifat dan Ciri Tanah. Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian IPB, Bogor.
- Sumono, Parinduri SM, Huda N, Ichwan N. 2018. The utilization of ultisol soil for horticulture crops cultivation. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 122(1). doi:[10.1088/1755-1315/122/1/012096](https://doi.org/10.1088/1755-1315/122/1/012096).
- Vassilev N, Vassileva M, Nikolaeva I. 2006. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: Potentials and future trends. *Appl Microbiol Biotechnol.* 71(2):137–144. doi:[10.1007/s00253-006-0380-z](https://doi.org/10.1007/s00253-006-0380-z).
- Viera F, Nahas E. 2005. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. *Microb Res.* 160:197-202.
- West L, Benroth F, Sumner M, Kang B. 1998. Ultisol: Characteristics and impacts on society. *Adv Agro.* 63:179-236.
- Widawati S. 2006. The population of phosphate solubilizing bacteria (PSB) from Cikaniki, Botoi Mountain, and Ciptarasa Area, and the ability of PSB to solubilize insoluble P in solid pikovskaya medium. *Biodiversitas, J Biol Divers.* 7(2):109–113. doi:[10.13057/biodiv/d070203](https://doi.org/10.13057/biodiv/d070203).