

ISOLASI BAKTERI PELARUT FOSFAT DARI LIMBAH BUAH MAJA DAN PENGARUHNYA TERHADAP PERKECAMBAHAN BENIH PADI

Sri Rahayu¹ dan Susilawati¹

ABSTRAKS

Mikroorganismenya seperti beberapa bakteri pelarut fosfat yang berasal dari rhizosfir telah dilaporkan memiliki kemampuan sebagai pelarut fosfat dan pemacu pertumbuhan. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengevaluasi isolasi bakteri pelarut fosfat yang ada pada limbah maja dalam memacu pertumbuhan khususnya perkecambahan pada benih padi yang telah mengalami penurunan vigor. Hasil penelitian isolasi yang dilakukan pada limbah buah maja terdapat 3 isolat bakteri pelarut fosfat yang memiliki kemampuan memproduksi senyawa indole yaitu isolat 1-1, isolat 1-2 dan isolat 1-4. Ketiga isolat ini setelah dievaluasi memiliki kemampuan untuk meningkatkan vigor benih padi yang ditunjukkan dengan meningkatnya daya berkecambah sebesar 38%-39,33%, keserempakan tumbuh meningkat 20,97%-40,76% dan kecepatan tumbuh 9,28%/etmal – 10,46%/etmal.

Keyword : Bakteri pelarut fosfat, limbah buah maja, perkecambahan, benih padi

PENDAHULUAN

Fosfor (P) merupakan elemen penting sebagai nutrisi bagi tanaman, sesudah nitrogen. P memerankan peran penting dalam proses metabolisme, meliputi fotosintesis, transfer energi, signal transduction, makromolekuler biosintetik dan respirasi (Khan *et al.*, 2010) dan fiksasi nitrogen pada tanaman kacang-kacangan (Saber *et al.*, 2005). Walaupun P di dalam tanah berlimpah baik dalam bentuk organik maupun anorganik, namun merupakan faktor pembatas pertumbuhan tanaman, karena bentuk yang tidak tersedia bagi akar tanaman, kebanyakan terdapat dalam bentuk mineral kompleks yang tidak larut, diantaranya terjadi setelah pemberian pupuk kimia yang terus menerus, bentuk yang demikian tidak dapat diabsorpsi oleh tanaman (Renged dan Marschner, 2005). P yang tersedia bagi tanaman hanya sebesar 0,1% dari total P di dalam tanah (Zhou *et al.*, 1992).

Adanya perhatian globalisasi tentang energi dan biaya, dibutuhkan upaya-upaya untuk meminimalisasi penggunaan fosfat dibidang pertanian. Lebih dari 30% efisiensi dari aplikasi pemupukan P sintetik (kimia) difiksasi oleh Al maupun Fe dalam bentuk Al- fosfat atau Fe- fosfat pada tanah masam /pH rendah (Norrish dan Rosser, 1983). Banyak hasil penelitian menyatakan bahwa penggunaan mikroorganismenya dapat memberikan jalan dalam penyediaan

P bagi tanaman (Khan *et al*, 2009). Salah satu mikroorganisme yang dapat menyediakan P bagi tanaman adalah bakteri pelarut fosfat.

Pemanfaatan sumber-sumber P yang ada disekitar pusat produksi pertanian, seperti pemanfaatan limbah sebagai bahan organik atau sebagai pupuk organik cair perlu dilakukan. Salah satu limbah yang dapat digunakan sebagai pengganti pupuk kimia adalah limbah buah maja yang banyak terdapat di sekitar pembuatan gula merah di Desa Sungai Rengas Kabupaten Kubu Raya. Hasil penelitian Purwaningsih (2009) limbah buah maja yang diberikan melalui daun (disemprotkan) dapat menghasilkan hasil gabah sebesar 9,8 ton/ha.

Petani di desa Sungai Rengas umumnya menanam padi sebanyak 5 – 8 bibit per lubang tanam. Alasan petani menanam banyak bibit dalam satu lubang tanam, salah satunya yaitu agar tidak melakukan penyulaman jika terjadi kematian tanaman. Hasil pengamatan dilapangan, ternyata salah satu penyebab mereka menggunakan benih yang vigornya sudah menurun. Penurunan vigor ini disebabkan oleh cara penyimpanan benih. Menurut Kuswanto (2003) bahwa penyimpanan benih di daerah tropis yang memiliki suhu dan kelembaban tinggi sepanjang tahun dapat memperpendek masa simpan benih, karena kondisi ini akan memacu laju respirasi dan laju deteriorasi benih.

Strategi untuk memperbaiki pertumbuhan dan perkembangan telah diteliti bertahun-tahun. Benih dilakukan priming adalah suatu technology yang efektif untuk meningkatkan kecepatan dan keserempakan tumbuh yang dicapai oleh vigor yang tinggi (Singh *et al.*, 2015). Biopriming merupakan salah satu tindakan priming yang menggunakan bakteri. Penggunaan bakteri dalam priming, karena telah banyak peneliti menemukan bahwa metode ini mampu meningkatkan keserempakan tumbuh dan kecepatan tumbuh, disamping adanya perlindungan dari serangan *seed borne* dan patogen yang ada dalam tanah (Callan *et al.*, 1990),

Berdasarkan pentingnya hara P, dan adanya hasil penelitian bahwa limbah buah maja dapat meningkatkan hasil gabah, maka fokus utama penellitian ini ingin melakukan isolasi apakah di dalam larutan limbah buah maja terdapat bakteri yang dapat melarutkan fosfat? Jika limbah tersebut mengandung bakteri pelarut fosfat, maka perlu dilakukan evaluasi apakah dapat meningkatkan perkecambahan benih padi yang telah menurun viabilitasnya?. Pemberian bakteri pelarut fosfat asal limbah maja pada benih perlu dilakukan karena benih merupakan salah satu sarana untuk mencapai produksi tinggi. Produksi tinggi dicapai dimulai dari penggunaan benih yang memiliki vigor tinggi

METODE PENELITIAN

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium hama dan penyakit serta laboratorium agronomi fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak. Dilakukan pada bulan Januari - Maret 2017.

Isolasi dan karakterisasi morfologi isolat bakteri

Isolat bakteri diisolasi dari limbah maja, menggunakan metode tuang pada media Triptone Soya Agar (Kasein 15 g, ekstrak kedelai 5 g, NaCl 5 g, agar-agar 15 g dan akuadest 1000 mL). Bakteri dari limbah buah maja diisolasi dengan mengambil 1 ml dicampur dengan 9 mL akuadest steril. Kemudian sebanyak 0,1 mL diencerkan hingga pengenceran 10^{-3} . Hasil pengenceran sampel disolasi dengan menggunakan metode tuang. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 26-28⁰C selama 96 jam. Koloni yang telah tumbuh menyebar, dipurifikasi pada media TSA baru pada temperatur ruang. Koloni bakteri yang telah murni dikarakterisasi secara morfologi makroskopis dan mikroskopis..

Kemampuan melarutkan fosfat

Seleksi kemampuan melarutkan fosfat dilakukan dengan metode inokulasi, diambil satu ose inokulum bakteri murni, kemudian inokulasikan membentuk titik pada media selektif Pikovskaya Agar (10 gr glukosa, 0,5 g (NH₄)₂SO₄; 7,69 g Fe₂PO₃ ; 0,1 g MgSO₄.7H₂O ; 0,002 g MnSO₄.H₂O ; 0,002 g FeSO₄.7H₂O; 0,5 g yeast ekstrak; 20 g agar; 1000 mL akuades) (Saraswati *et al*, 2012). Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening mengelilingi koloni, dibandingkan dengan warna media kontrol.

Produksi senyawa indol.

Kemampuan bakteri memproduksi komponen fitohormon diketahui melalui uji senyawa indole. Biakan murni bakteri diambil satu ose kemudian diinokulasikan pada Triptone Soya Broth yang ditambahkan dengan L-Tryptophan (Kasein 15 g , ekstrak kedelai 5 g, NaCl 5 g, L-Tryptophan 0,1% dan akuades 1000 mL). Masing-masing biakan diulang sebanyak 3 kali termasuk media kontrol yang tidak diinokulasikan bakteri. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada inkubator goyang selama 72 jam pada suhu ruang. Pengamatan kemampuan produksi indole diketahui dengan meneteskan 2-3 tetes *reagen Kovacs* dan diamati terbentuk tidaknya

cincin indole. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin indole berwarna merah muda hingga merah tua, sedangkan reaksi negatif jika cincin berwarna hijau kekuningan.

Uji perkecambahan

Sebelum benih padi dilakukan inokulasi, terlebih dahulu dilakukan uji daya tumbuhnya, dan ternyata benih memiliki daya berkecambah $\pm 60\%$. Benih diinokulasi dengan cara direndam dalam larutan TSB (10^9 cfu mL⁻¹) selama 1 x 24 jam, lalu dikecambahkan pada media kertas merang, ditempatkan dalam kotak plastik berukuran 30 x 20 x 10 cm (panjang x lebar x tinggi). Banyaknya perlakuan yang digunakan terdiri isolat 1-1, isolat 1-2, isolat 1-3, dan kontrol-untreated. Benih padi yang digunakan adalah benih dengan daya kecambah $\pm 60\%$. Banyaknya benih yang digunakan dalam setiap perlakuan sebanyak 50 biji, dengan 3 kali ulangan. Pengaruh perlakuan inokulasi pada viabilitas benih terdiri dari persentase kecambah normal (DB), kecepatan tumbuh benih (K_{CT}) dan keserempakan tumbuh (K_{ST}).

Analisis statistik

Data dihitung dengan ANOVA. Sedangkan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan digunakan duncant multiple test 0.05. Korelasi antar variabel pengamatan dilakukan dengan Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi morphology

Hasil karakterisasi morfologi dari tiga isolat bakteri dari limbah maja terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi morfologi bakteri pelarut fosfat dari limbah buah maja.

Kode Isolat	Warna		Bentuk Koloni	Sudut (Elevasi)	Kemiringan	Tekstur Permukaan	Bentuk Sel
	Permukaan	Dasar					
Isolat 1-1	Putih	Putih	Circular	Raised	Erose	Smooth	Basil
Isolat 1-2	Putih	Putih	Circular	Convex	Entire	Smooth	Basil
Isolat 1-4	Putih Bening	Putih	Irregular	Flat	Lobate	Smooth	Basil

Hasil karakterisasi morfologi tampak bahwa ketiga isolat berbeda-beda, walaupun bentuk selnya sama yaitu basil. Bentuk basil biasanya menandakan isolat bakteri ini dari keluarga Basillus.

Kemampuan melarutkan fosfat

Kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening yang mengelilingi koloni. Pada penelitian ini terdapat 3 isolat bakteri pelarut fosfat hasil isolasi yang dilakukan pada limbah buah maja yaitu isolat 1-1, isolat 1-2, dan isolat 1-4 dari 6 isolat bakteri yang diperoleh. Tiga isolat lainnya tidak memiliki kemampuan melarutkan fosfat. Kemampuan isolat dalam melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening yang mengelilingi koloni (Gambar 1).



Gambar 1. Kemampuan isolat bakteri melarutkan fosfat.

Makin lebar zona bening yang terbentuk berarti semakin tinggi kemampuan melarutkan fosfat, walaupun pada penelitian ini belum dilakukan pengukuran fosfat secara kuantitatif.

Kemampuan memproduksi indol

Hasil uji ternyata tiga isolat bakteri pelarut fosfat ini memiliki kemampuan memproduksi senyawa indol, yang ditandai dengan adanya warna merah seperti cincin diatas media (Gambar 2).



Gambar 2. Kemampuan isolat bakteri membentuk senyawa indol

Kemampuan isolat membentuk senyawa indol sangatlah penting untuk memacu pertumbuhan tanaman (Aly *et al.*, 2001; Ebrahim dan Aly, 2004; Marzeva dan Sirokikh, 2010; dan Sahzadi, 2012). Kemampuan membentuk senyawa indol ini menunjukkan bahwa isolat bakteri ini menghasilkan fitohormon. Fitohormon dari isolat bakteri rhizosfir terbentuk karena adanya input yang tinggi dari bahan organik yang diperoleh dari akar tanaman ataupun eksudat akar yang cocok untuk pertumbuhan mikroba (Lynch,1990). Sedangkan pada penelitian ini diduga input bahan organik berasal dari limbah buah maja itu sendiri.

Kemampuan isolat bakteri melarutkan fosfat yang ada pada limbah buah maja merupakan suatu keberuntungan, karena disamping limbah buah maja tersebut sebagai pupuk organik tetapi dapat dijadikan sebagai pupuk hayati. Isolat bakteri yang dapat berfungsi sebagai pelarut fosfat diharapkan dapat membantu penyediaan P bagi tanaman. Adanya produksi senyawa indol oleh isolat bakteri, ini memberikan nilai tambah dari isolat ini, karena adanya kandungan senyawa indol ini dapat merupakan pemacu pertumbuhan, walaupun bentuk senyawa indol (fitohormon) pada penelitian ini belum diteliti, tetapi beberapa peneliti melaporkan bahwa fitohormon tersebut dapat berupa auxin, giberellin, ataupun sitokinin. Fitohormon yang umum terbentuk adalah auxin (Aly *et al.*, 2012), giberellin (Joo *et al.*, 2004) pada *Bacillus*.

Uji perkecambahan

Perlakuan isolat bakteri pelarut fosfat dari limbah buah maja terhadap viabilitas benih padi yang telah menurun menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap daya berkecambah, keserempakan tumbuh dan kecepatan tumbuh (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji inokulasi isolat bakteri pelarut fosfat terhadap daya berkecambah, keserempakan tumbuh dan kecepatan tumbuh benih padi.

Perlakuan	Daya berkecambah (%)	Keserempakan tumbuh (%)	Kecepatan tumbuh (%/etmal)
Tanpa isolat bakteri	60,67 b	41,55 d	11,23 b
Isolat 1-1	98,67 a	62,52 c	20,51 a
Isolat 1-2	100,0 a	73,25 b	21,20 a
Isolat 1-4	99,33 a	82,31 a	21,69 a

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan beda nyata pada uji DMRT 0,05

Inokulasi isolat bakteri pelarut fosfat pada benih padi yang telah mengalami penurunan viabilitas mampu meningkatkan daya berkecambah sebesar 38,0%-39,33% keserempakan tumbuh sebesar 20,97%-40,76% dan kecepatan tumbuh 9,28%-10,46%.

Meningkatnya daya berkecambah memberikan harapan bahwa dengan adanya isolat bakteri ini, penggunaan benih oleh petani dapat dikurangi, sedangkan adanya peningkatan keserempakan tumbuh memberikan harapan agar benih bila ditanam dilapangan dengan kondisi suboptimum mampu untuk tumbuh serempak, sehingga diharapkan panen juga akan serempak. Peningkatan daya berkecambah dan keserempakan ini didukung dengan meningkatnya kecepatan tumbuh benih, ini tergambar dari besarnya korelasi antara kecepatan tumbuh dengan keserempakan tumbuh sebesar $r = 0,9280$, artinya korelasi ini kuat sekali. Pada tabel tampak kecepatan tumbuh pada benih yang diinokulasi bakteri meningkat 2 kali lebih besar dibandingkan tanpa isolat. Kecepatan tumbuh ini menggambarkan vigor benih jika di lapangan atau pada kondisi suboptimum.

Peningkatan viabilitas pada benih yang telah menurun dengan adanya isolat bakteri ini, diduga dipicu karena adanya kemampuan isolat bakteri memproduksi senyawa indol sehingga terjadinya peningkatan sintesis hormon seperti IAA atau giberelin sebagai pemicu aktivitas enzim amilase yang berperan dalam perkecambahan (Gholami *et al.*, 2009). Bila dihubungkan dengan bentuk sel dari isolat adalah basil, berarti kemungkinan besar isolat ini adalah dari famili *Bacillus*. Bakteri *Bacillus* sp. dilaporkan mampu mensintesis giberelin (Joo *et al.*, 2004) dan asam indolasetat atau IAA (Thakuria *et al.*, 2004). Kedua fitohormon ini sangat dibutuhkan tidak hanya pada saat perkecambahan tetapi dapat memacu pertumbuhan dan hasil. Penggunaan inokulasi bakteri pelarut fosfat pada penelitian ini dapat dikatakan sebagai *Biopriming*, sesuai dengan pendapat Callan *et al.*, (1990). *Biopriming* merupakan salah satu bagian dari *priming*, merupakan upaya untuk meningkatkan vigor benih.

KESIMPULAN

Terdapat 3 isolat bakteri pelarut fosfat dari limbah buah maja yang memiliki kemampuan memproduksi senyawa indol. Ketiga isolat bakteri pelarut fosfat ini mampu meningkatkan viabilitas benih padi yang telah menurun. Peningkatan daya berkecambah sebesar 38,0%-39,33%, keserempakan tumbuh sebesar 20,97%-40,76% dan kecepatan tumbuh sebesar 9,28%-10,46%.

DAFTAR PUSTAKA

Aly MM, El-Sabbagh S, El-Shouny W, and Ebrahim MK. 2001. Soil tolerance of maize under the effect of *Azotobacterchroococcum* and *Streptomyces niveus*. J.Union Arab. Biol. Vol. 10 B: 62-84.

- Aly MM, El- Sayed A. El Sayyed H, Jastaniah SD. 2012. Synergetic effect between *Azotobacter vinelandii* and *streptomyces sp* . Isolat from saline soil on seed germination and growth of wheat Plant. Jour of Am.Sci. 8 (5).
- Callan, NW., Marthre, DE., Miller JB. 1990. Biopriming seed treatment for biological control
Phytium ultimum preemergence damping off in sb 2 sweei corn. Plant Disease: 74-368-372.
- Ebrahim M, Aly MM, 2004, Physiological response of wheat to foliar application of Zinc and inokulationwith some bacterial fertilizers. J. Plant Nutrition, 27 (10):1-16
- Gracia de Salamone Je, Heynes RK., Nelson LM. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteriaabbbband selected mutants. Can. J. Mikrobiol 47:404-411
- Gholami A, Shahsavani S, Nezarat S. 1009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on germination, seedling growth and yield of maize. World Acad Sci. 49. <http://www.waset.org/journals/wasetv49/-5.pdf>. 1 Febuari 2010.
- Guttieerrez-Manero F J., Ramos-solano B., Probenza A., Meohouachi J., Francisco RT., Manuel T. 2001. The plant growth rhizobacteria *Bacillus pumilus* dan *Bacillus lichenformis* produce high amount of physiologically active gibberelins. Physiolo.Plant . 111: 206-211.
- Hameeda B., Harini G., Rupela OP, Wani SP. 2006. Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from compost and macrofauna. Microbiol. Res163:234-242
- Idris EE, Iglesias DJ, Talon M & Borriss R. 2007. Tryptophan dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Molecular Plant-Microbe Interactions, 19:612-626.
- Jeon JS., Lee SS., Kim HY. Ahn TS, Song HG. 2003. Plant growth promotionin soil by some inoculated microorganisms. J. Microbiol 41: 271-278.
- Joo, G I., Kim, Y., Lee, I J., Song,K S., Rhee, I K. 2004. Growth promoting of red paper plug seedling and the production of giberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillupumillus*:.<http://www.ingentaconnect.com/content/klu/bile/2004/00000026> [4 Feb 2005]
- Kuswanto H. 2003. *Teknologi Pemrosesan, Pengemasan, dan Penyimpanan*. Kanisius. Yogyakarta. 127 hal.
- Khan MS, Zaidi A,Wani PA, Oves M. 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environ,Chem. Lett 7.1-19
- Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA. 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi- current perspective. Arch.Agron Soil Sci 56:73-78
- Lynch JM. 1990. Microbial metabolites in Lynch (Ed) the rhizosphere. Wiley Chichester, 177-206
- Marzaeva OV, and Shirokikh IG. 2010. Production of auxin by the endophytic bacteria of winter rey. Pirk. Biokhim.Mikrobiol Mikrobiol :46(1):51-7. Abstract.
- Norrish K, Rosser H. 1983. Mineral Phosphate, In:Soils:an Australian Viepoint Academic

- Press. Melbourne.CSIRO/London, UK, Australia, pp: 335-361
- Purwaningsih. 2009. Penggunaan limbah maja sebagai pupuk organik cair pada tanaman Padi varietas Mentik Susu asal Jawa Barat. (tidak dipublikasikan).
- Rengel Z, Marschner P. 2005. Nutrient availability and management in the rhizosphere, exploiting genotypic differences. *New Phytology* 168:305-312
- Saber K, Nahla ID, Chedly A. 2005. Effect of P on nodule formation and N fixation in bean. *Agron Sustain Dev* 25:389-393
- Shahzadi N, Basharat A, Shahida H. 2012. Growth promotion of *Vigna mungo* (L) by *Pseudomonas* spp. Exhibiting auxin production and ACC-deaminase activity. *Annals of Microbiology*. Volume 62 (1): 411-417
- Singh H, Rupinder KJ, Kang JS, Sandhu SS, Kang H, Grewal K. 2015. Seed priming techniques in field crops- A review. *Agri.Review*.36(14):251-264.
- Thakuria, D., Talukdar, C., Goeswani, S., Hazarika, RC., Khan, M R. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Current Sci* 86:978-985.
- Zhou FK, Binkley D, Doxtader KG. 1992. A new method for estimating gross phosphorus mineralization and immobilization rates in soils. *Plant Soil* 147:243-250