

# Pelarutan Fosfat oleh Konsorsium *Azotobacter*

Riska Irawan dan Enny Zulaika

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

*e-mail*: enny@bio.its.ac.id

**Abstrak**—Fosfat merupakan makronutrien yang dibutuhkan oleh tanaman dan berperan penting dalam metabolisme tanaman. Fosfat di tanah cukup melimpah tetapi sulit diserap tanaman karena dalam bentuk tidak terlarut. Bakteri pelarut fosfat merupakan salah satu alternatif untuk mengubah fosfat tidak larut menjadi bentuk terlarut. Isolat *Azotobacter* dari lahan Eco Urban Farming ITS secara individual dapat melarutkan fosfat, tetapi penelitian pelarutan fosfat menggunakan konsorsium *Azotobacter* belum dilakukan. Konsorsium menggunakan isolat A1b, A3, A6, A9 dan A10. Umur perlakuan ditentukan dengan kurva pertumbuhan. Uji pelarutan fosfat menggunakan medium Pikovskaya dengan sumber fosfat  $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]$ . Fosfat terlarut diukur setelah 7 hari inkubasi dengan metode spektrofotometri dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 690 nm. Setelah 7 hari inkubasi, fosfat terlarut yang dihasilkan konsorsium relatif tidak berbeda dengan isolat tunggal A1b yaitu 67,59 dan 67,52 ppm, namun keduanya lebih tinggi dibandingkan dengan isolat A3, A6, A9, dan A10.

**Kata Kunci**—*Azotobacter*, fosfat terlarut, konsorsium, sinergism.

## I. PENDAHULUAN

FOSFOR (P) merupakan nutrisi penting kedua setelah nitrogen untuk tumbuhan dan mampu mempengaruhi karakter pertumbuhan tanaman (1). Fosfor berperan penting pada metabolisme tanaman (2). Kandungan fosfat organik maupun anorganik melimpah di tanah, namun selalu membentuk kompleks dengan mineral tanah menyebabkan fosfat tidak dalam bentuk tersedia sehingga sulit diserap oleh tanaman (3).

Fosfat di tanah akan berikatan dengan Al dan Fe pada tanah asam, sedangkan pada tanah basa P akan berikatan dengan Ca (4). *Azotobacter* merupakan bakteri tanah (rizosfer) yang memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen bebas di udara dan merupakan salah satu strain yang potensial sebagai bakteri pelarut fosfat (5). *Azotobacter* mampu memproduksi asam organik lebih tinggi dibandingkan bakteri lain karena memiliki aktivitas enzim glucose dehydrogenase (GDH) (6). Penelitian (7) memperoleh hasil bahwa konsorsium *Azotobacter* mampu meningkatkan fosfat terlarut sebesar 18,1 % dibandingkan isolat tunggal. Isolat *Azotobacter* yang diisolasi dari Eco Urban Farming ITS secara individual dapat melarutkan fosfat, isolat tersebut adalah A1b, A3, A6, A9 dan A10 (8), diasumsikan jika isolat tersebut dikonsorsiumkan akan menghasilkan fosfat terlarut lebih tinggi.

## II. METODOLOGI

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Mei 2015 di laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

### B. Isolat yang digunakan

Isolat yang digunakan untuk konsorsium adalah isolat *Azotobacter* A1b, A3, A6, A9 dan A10 hasil isolasi dari lahan Eco Urban Farming ITS (9).

### C. Pengukuran fosfat terlarut

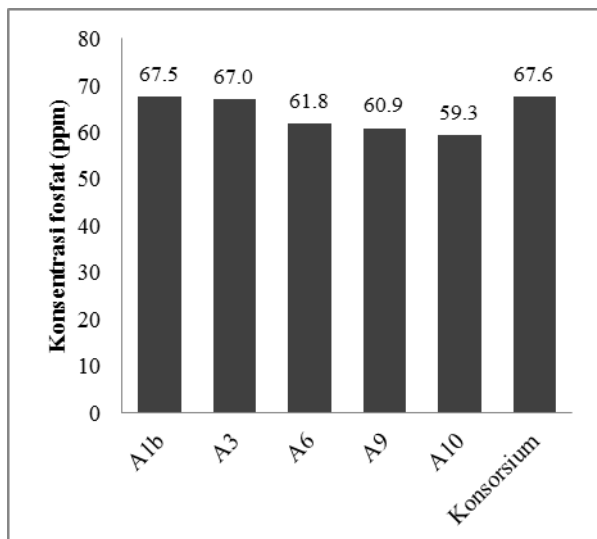
Starter yang digunakan merupakan starter isolat tunggal dan konsorsium yang berumur 3 jam dan diinkubasi pada medium Nutrient Broth (NB)  $\frac{1}{4}$  resep (10). Selanjutnya dilakukan perhitungan kepadatan sel sampai  $10^6$  dan diinokulasikan dalam medium Pikovskaya cair. Medium diinkubasi selama 7 hari.

Medium kultur disaring dengan kertas saring Whatman nomor 42, supernatan disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan diberi pereaksi fosfat dan pewarna fosfat pekat. Pengukuran konsentrasi fosfat terlarut menggunakan metode spektrofotometri dengan Spektrofotometer Spektronic Genesys ® UV-VIS dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 690 nm. Perhitungan nilai fosfat terlarut berdasarkan persamaan  $y = ax + b$  yang diperoleh dari kurva standar fosfat. Sedangkan kepadatan sel dihitung menggunakan metode spektrofotometri dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 600 nm.

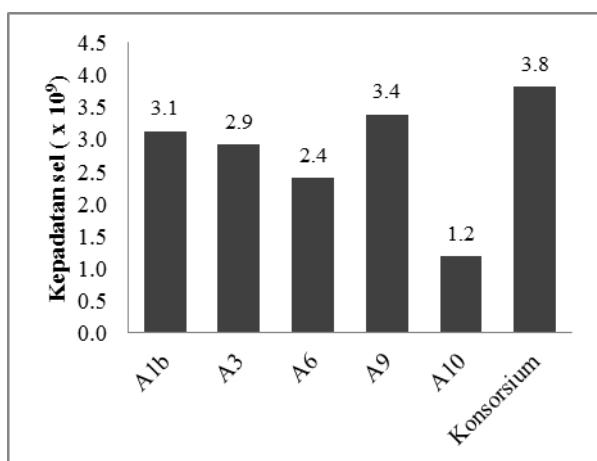
## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Konsentrasi Fosfat Terlarut

Selama 7 hari inkubasi pada isolat tunggal maupun konsorsium dapat menghasilkan fosfat terlarut. Konsentrasi fosfat terlarut paling tinggi dihasilkan oleh konsorsium *Azotobacter* (67,59 ppm) selanjutnya isolat A1b (67,52 ppm), isolat A3 (67,02 ppm), A6 (61,79 ppm), A9 (60,91 ppm) dan A10 (59,34 ppm). Hasil fosfat terlarut oleh setiap isolat dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil penelitian (11) menyatakan bahwa pelarutan fosfat oleh konsorsium memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan isolat tunggal. Namun pada penelitian ini nilai konsentrasi yang didapatkan relatif tidak berbeda antara konsorsium dan isolat tunggal A1b.



Gambar 1. Fosfat terlarut oleh isolat tunggal dan konsorsium *Azotobacter*



Gambar 2. Kepadatan sel isolat tunggal dan konsorsium *Azotobacter*.

Hal tersebut diduga karena fosfat terlarut yang dihasilkan digunakan kembali oleh bakteri untuk proses metabolisme, sehingga mengurangi konsentrasi fosfat terlarut di dalam medium. Hal tersebut didukung dengan kepadatan sel, dimana konsorsium memiliki kepadatan sel paling besar dibanding isolat tunggal, sehingga konsumsi fosfat terlarut akan menghasilkan fosfat terlarut yang hampir sama dengan isolat tunggal A1b.

Selain adanya konsumsi fosfat terlarut oleh isolat, fosfat terlarut antara konsorsium dengan isolat A1b yang hampir sama diduga karena adanya perbedaan kemampuan pelarutan fosfat yang disebabkan perbedaan jenis asam organik yang disekresikan oleh masing-masing isolat. Menurut (12), asam trikarboksilik (cis-aconitik dan asam sitrat) dan asam dikarboksilik (oksalat, malonat, fumarat, dan asam tartrat) lebih efektif daripada asam mono-karboksilat (glikolat, piruvat, dan asam salisilat) dalam pelarutan fosfat (13).

#### A. Kepadatan Sel

Pengukuran kepadatan sel dilakukan dengan mengukur Optical Density. Berdasarkan penelitian (14) menyatakan

bahwa konsentrasi sel pada suatu suspensi dapat diperkirakan dengan mengukur Optical Density (OD) menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang tertentu. Berdasarkan (15) pada OD 600 nm dengan nilai 1 setara dengan kepadatan sel 109 sel/ml. Konsorsium *Azotobacter* memiliki kepadatan sel yang paling tinggi dibandingkan dengan isolat tunggal yaitu  $3,8 \times 10^9$  sel/ml (Gambar 2).

Tingginya kepadatan sel pada konsorsium diduga karena adanya aktivitas sinergisme antar isolat. Hal tersebut sesuai dengan (16) yang menyatakan bahwa konsorsium memiliki aktifitas sinergisme untuk mendukung pertumbuhan bakteri di dalamnya sehingga memiliki kenaikan pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat tunggal.

Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui dengan pasti, namun beberapa penelitian menduga disebabkan karena beberapa faktor antara lain: salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut (17).

#### IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa konsorsium dapat menghasilkan fosfat terlarut dengan nilai yang hampir sama dengan isolat A1b dengan nilai 67,58 ppm dan 67,51 ppm. namun keduanya memiliki nilai fosfat terlarut lebih besar dibandingkan dengan isolat tunggal A3 (67,02 ppm), A6 (61,79 ppm), A9 (60,9 ppm) dan A10 (59,33 ppm). dalam waktu inkubasi 7 hari.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis R.Irawan mengucapkan terima kasih kepada Dr. Enny Zulaika, MP melalui road map penelitian dengan pendanaan BOPTN ITS dengan nomer kontrak 01711/IT2.11/PN.08/2016.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] H. Yadaf, R.K. Gothwal, V.K. Nigam, S. Sinha-Roy, P. Ghosh, "Optimization of culture conditions for phosphate solubilization by a thermo-tolerant phosphate-solubilizing bacterium *Brevibacillus* sp. BISR-HY65 isolated from phosphate mines", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, (2013) 217-225.
- [2] L. Rasipour, N.A. Asgharzadeh, "The interaction between the PSB and *Bradyrhizobium japonicum* growth factors, tumor size and uptake of some nutrient in soybean", *Agricultural and Natural Resource Sciences*, (2007) 40-63.
- [3] N. Vassilev, M. Vassilea, I. Nikolaeva, "Simultaneous P solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trend", *Application Microbiology Biotechnology*, (2006),137-144.
- [4] W. Hartatik, "Fosfat Alam Sumber Pupuk P yang Murah", *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, (2007)
- [5] S.K. Sethi, & S.P. Adhikary, "Azotobacter: a plant growth-promoting rhizobacteria used as biofertilizer", *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, Vol 6, No. 1, (2012) 68-74.
- [6] A. Ranjan, M.R. Mahalakshmi, & M. Sridevi, "Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterial species from

- different crop fields of Salem, Tamil Nadu, India”, *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurologycal Diseases*, Vol 3, No.1, (2013) 29-33.
- [7] Atekan, Y. Nuraini, E. Handayanto, Syekhfani, “The potential of phosphate solubilizing bacteria isolated from sugarcane wastes for solubilizing phosphate”, *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, Vol 1, No. 4, (2014) 175-182.
- [8] A. Islamiyati, dan E. Zulaika, “Potensi Azotobacter sebagai pelarut fosfat”, Skripsi. (2014), Surabaya: Program Studi S1 Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- [9] A.L.Sakinah, E.Zulaika, “Resistensi Azotobacter terhadap HgCl<sub>2</sub> yang Berpotensi menghasilkan Enzim Merkuri Reduktase”, *Jurnal Sains dan Seni POMITS*, Vol 3, No. 2, (2014).
- [10] K.Khotimah, dan E.Zulaika, “Azotobacter sebagai Bioakumulator Merkuri”, *Jurnal Sains POMITS*, Vol 3, No. 2, (2014)
- [11] M. Teymouri, J. Akhtari, M. Karkhane, A. Marzban, “Assessment of phosphate solubilization activity of Rhizobacteria in mangrove forest”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, (2016)
- [12] Y. Bashan, A.A. Kamnev, L.E. de Bashan, “Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure”, *Biol Fertil Soils*, No. 49, (2013) 465-479.
- [13] N.Patel, N. Kumar, “Variation in the Nature of Organic Acid Secretion and Mineral Phosphate Solubilization by *Citrobacter* sp. DHRSS in the Presence of Different Sugars”, *Curr Microbiol*, (2008) 168-174.
- [14] S. Sutton, “Measurement of microbial cell by optical density”, *Journal of Validation technology*, Vol 17, No.1, (2011) 46-49
- [15] M.H. Ly, M. Aguedo, S. Gudot, M.L. Le, P. Cayot, J.A. Teixeira, T.M. Le, J.M. Belin, Y. Wache. “interaction between bacterial Surfaces and milk proteins, impact on food emulsions stability”. *Science Direct*, Vol 22, (2008) 742-751.
- [16] D. Paul, N. Sinha, “Biological Removal of Phosphate Using Phosphate Solubilizing Bacterial Consortium from Synthetic Wastewater: A Laboratory Scale”, *Environment Asia*, No.8. (2015) 1-8.
- [17] Y. Deng, S.Y. Wang, “Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity”, *J Microbiol*, Vol. 54, No.1, (2016) 23–30