

Stabilitas *Pseudomonas putida* dalam Medium Pembawa dan Potensinya sebagai Pupuk Hayati

M. EDI PREMONO¹ DAN RAHAYU WIDYASTUTI^{2*}

¹ Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Jalan Pahlawan 25, Pasuruan 67126
² Jurusan Tanah Faperta IPB, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144

Diterima 6 Oktober/Disetujui 9 November 1994

Stability of *Pseudomonas putida* in Some Carriers and Its Potential as Biofertilizer. *Pseudomonads* as soil inhabiting microorganisms can be used as biofertilizer because of their ability to produce growth regulator, to suppress pathogenic microorganisms, and to solubilize insoluble phosphate compounds. Based on those reasons this experiment was carried out to study the stability of *Pseudomonas putida* in some carriers and to investigate the role of this bacteria on corn growth planted in acid soil. Four kinds of carriers used were peat and compost, either with or without 10% of zeolite. *Pseudomonas putida* inoculated in those carriers were stored at two temperatures i.e. 4 and 28°C for 16 weeks. *Pseudomonas putida* in some carriers survived up to the 16th week with the population of $(4-40) \times 10^{10}$ cell per gram, while its ability to solubilize the rock phosphate not decreased during the storage. The compost containing 10% zeolite, stored at 28°C was found to be the best carrier. That of carrier containing *P. putida* when applied as biofertilizer tends to increase the height, dry weight, and the phosphorous content of four weeks corn plant tissue.

PENDAHULUAN

Pseudomonas yang hidup di daerah perakaran tanaman (*Rhizopseudomonas*) banyak diteliti sebagai jasad renik pelarut fosfat dan penghasil zat pengatur tumbuh bagi tanaman. Sifat tersebut sangat bermanfaat terutama pada tanah tertentu yang tidak mampu menyediakan fosfat yang cukup bagi tanaman, yakni pada tanah-tanah masam. Pada tanah yang demikian, efisiensi pemupukan P menjadi sangat rendah karena sebagian besar P yang diberikan akan terikat oleh aluminium, besi, dan mangan membentuk senyawa yang sukar larut.

Pemanfaatan *Pseudomonas* tersebut di atas memberikan hasil yang positif terhadap pertumbuhan tanaman dan hasil panennya (Subba Rao, 1981; Premono et al., 1991; 1992). Di antara spesies *Pseudomonas* yang penting ialah *P. fluorescens* dan *P. putida* (Vancura, 1989). Sebagai pelarut fosfat, jasad renik ini menghasilkan asam-asam organik berbobot molekul rendah yang akan membentuk kompleks dengan Al, Fe, Mn, dan Ca sehingga fosfat tidak terikat oleh ion-ion tersebut. Di samping itu ion organik akan bersaing pada tapak jerapan koloid tanah bermuatan positif, sehingga memperbesar peluang ortofosfat dapat diserap oleh tanaman. Peranan asam organik dalam mengkompleks Al, Fe, dan Mn tanah telah banyak diteliti oleh Nagarajah et al. (1970); Kwong dan Huang (1977); serta Earl et al. (1979).

Untuk menginokulasikan *Pseudomonas* ke dalam tanah atau akar tanaman diperlukan medium pembawa, tetapi jenis medium pembawa yang tepat bagi jasad renik ini belum banyak diteliti. Tujuan percobaan ini untuk mengetahui medium pembawa yang mampu mempertahankan viabilitas dan stabilitas *P. putida* sebagai pelarut fosfat dan menguji pengaruh inokulan tersebut pada jagung.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Biakan yang digunakan ialah *Pseudomonas putida* galur 010 yang diisolasi dengan medium Pikovskaya oleh Wijayanti (1991).

Uji Viabilitas dan Stabilitas. Biakan *P. putida* sebanyak 30 ml atau dengan kepekatan 3×10^{12} sel diinokulasikan pada empat macam medium pembawa (kompos; kompos halus mengandung 10% volume zeolit; gambut; gambut halus mengandung 10% volume zeolit) yang disterilisasi dengan panas lembab suhu 120°C selama 20 menit, dengan kadar air dipertahankan pada 60% kapasitas lapang. Masing-masing medium sebanyak 250 ml ditempatkan dalam kantong plastik dan diinkubasikan pada suhu 4 dan 28°C selama 16 minggu.

Populasi *P. putida* di dalam medium pembawa diamati setiap dua minggu dengan metode cawan yang berisi medium agar nutrisi, sedangkan kemampuannya dalam melarutkan batuan fosfat diamati setiap empat minggu menggunakan medium Pikovskaya bersumber P batuan fosfat (glukosa 10.0 g; batuan fosfat 5.0 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g; KCl 0.2 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g; MnSO_4 dan FeSO_4 sedikit; ekstrak ragi 0.5 g; akuades 1000 ml). Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok dengan tiga ulangan. Medium yang mampu mempertahankan stabilitas pelarutan fosfat dan populasi yang tinggi dari *P. putida* dipilih sebagai medium terbaik.

Pengujian Kemampuan Melarutkan Fosfat. Untuk mengetahui kemampuan melarutkan fosfat digunakan jagung sebagai tanaman peraga. Medium tumbuh adalah tanah latosol Darmaga (Oxye Dystropept) dengan tekstur pasir 14.29%, liat 43.4%, debu 42.31%; pH 3.9; N total 0.24%; C organik 0.71%; P_2O_5 17.34 ppm; Ca 0.51 me/100 g; Mg 0.29 me/100 g; Al-dd 3.49 me/100 g; Fe 0.77 ppm; Mn 13.77 ppm; Zn 4.77

*Penulis untuk korespondensi

ppm; Cu 2.07 ppm. Penggunaan inokulan pada percobaan ini dikombinasikan dengan pemberian beberapa dosis pupuk TSP dan batuan fosfat.

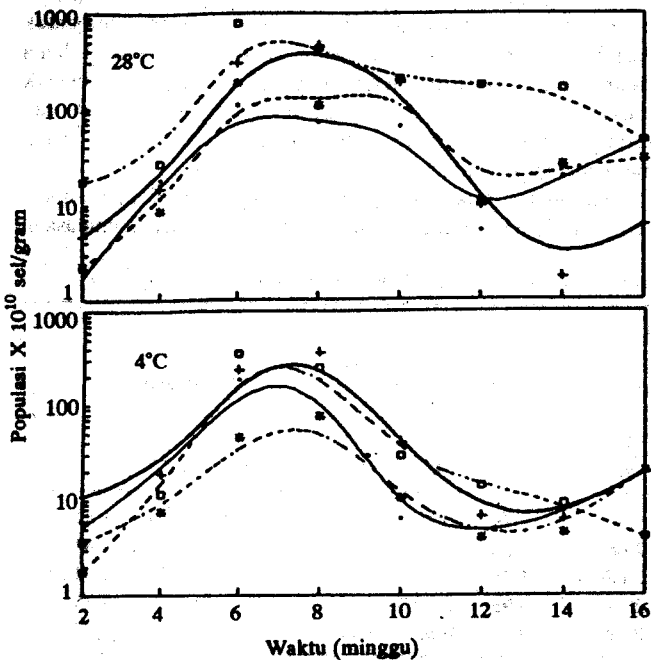
Inokulan diberikan dalam tiga taraf, yaitu tanpa inokulasi; inokulasi 1×10^{11} sel per pot; dan inokulasi 2×10^{11} sel per pot. Sedangkan perlakuan fosfat terdiri atas tanpa pemberian fosfat; 30 mg P_2O_5 (TSP); 50 mg P_2O_5 (TSP); 50 mg P_2O_5 (batuan fosfat); dan 80 mg P_2O_5 (batuan fosfat) per pot.

Percobaan dilakukan di rumah kaca pada pot berisi 1.25 kg tanah berat kering mutlak, tidak steril, dengan tanaman yang dipertahankan sampai umur empat minggu. Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok dengan tiga ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap tinggi dan bobot tanaman, serta kadar N, P, dan K jaringan tajuk.

HASIL

Viabilitas *P. putida*. *Pseudomonas putida* yang diinokulasikan pada berbagai medium pembawa dan disimpan pada suhu 4 maupun 28°C mampu bertahan hidup sampai minggu ke 16. Populasi awalnya berkisar 2×10^{10} - 17×10^{10} sel per gram medium pembawa dan terus meningkat mencapai puncak pada minggu ke- (8-10) dengan populasi 7×10^{11} - 45×10^{11} sel per gram medium. Setelah periode tersebut, populasinya berangsur menurun dan stabil pada populasi 4×10^{10} - 44×10^{10} sel per gram medium pembawa (Gambar 1). Pola populasi ini sejalan dengan hasil yang diperoleh Widyastuti dan Iswandi (1993).

Sampai minggu ke-10 hampir semua jenis medium pembawa yang disimpan pada suhu 28°C menyebabkan populasi *P. putida* yang lebih baik daripada penyimpanan suhu 4°C. Setelah 10 minggu penyimpanan pada suhu 4°C lebih baik, kecuali pada medium pembawa yang mengandung zeolit.

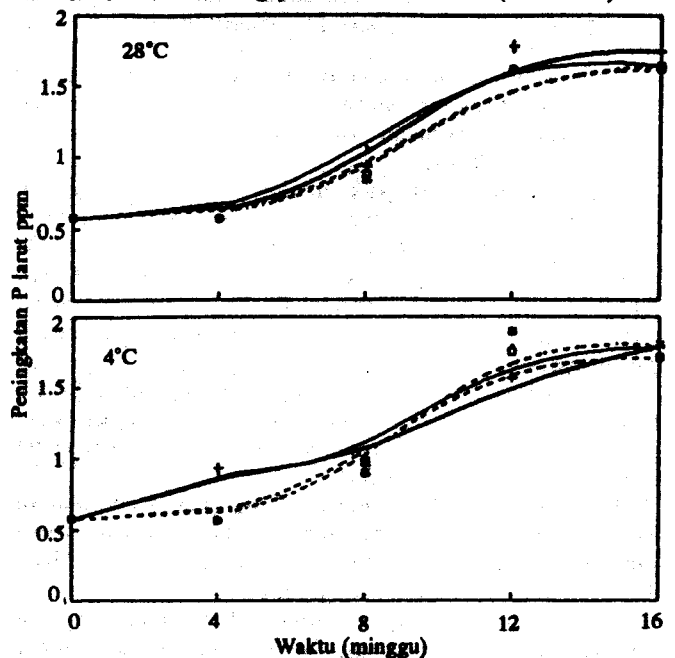


Gambar 1. Populasi *P. putida* pada Beberapa Bahan Pembawa yang Disimpan pada Suhu Berbeda. Simbol: — Gambut, - - - Gambut Zeolit, + Kompos, - - - Kompos Zeolit

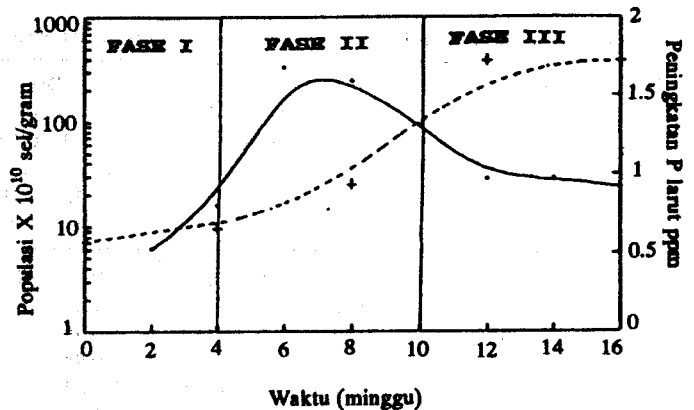
Stabilitas *P. putida*. Sebelum diinokulasikan ke dalam medium pembawa, *P. putida* mampu meningkatkan P larut sebesar 0.57 ppm dari P batuan fosfat dalam medium Pikovskaya. Nilai tersebut merupakan nilai peningkatan sebesar 10 kali lipat dibandingkan P larut pada kontrolnya.

Semakin lama disimpan kemampuan *P. putida* dalam melarutkan batuan fosfat menjadi baik (Gambar 2). Peningkatan melarutkan batuan fosfat tersebut dimulai pada minggu ke-8 dan semakin tinggi pada minggu ke-12 sampai 16. Peningkatan P larut pada minggu ke-16 mencapai tiga kali lipat jika dibandingkan dengan periode sebelum empat minggu penyimpanan.

Pola Populasi dan Stabilitas *P. putida*. Pola populasi dan pelarutan batuan fosfat dapat dibedakan dalam tiga fase, yaitu fase penyesuaian, fase gejala, dan fase stabil (Gambar 3).



Gambar 2. Kemampuan *P. putida* dalam Melarutkan Batuan Fosfat setelah Diinokulasikan pada Bahan Pembawa. — Gambut, - - - Gambut Zeolit, + Kompos, - - - Kompos Zeolit



Gambar 3. Dinamika Populasi *P. putida* dan Kemampuannya Melarutkan Fosfat. Simbol: — Populasi Sel, + Kemampuan Sel

Tabel 1. Pengaruh Dosis Isolat *P. putida*, Sumber dan Dosis Pupuk P terhadap Tinggi dan Bobot Kering Tanaman Jagung Umur Empat Minggu

Dosis P (mg P ₂ O ₅ / pot)	Sumber P	Dosis Isolat							
		Kontrol		1x10 ¹¹ sel/pot		2x10 ¹¹ sel/pot		Rataan	
		Tinggi (cm)	Bobot (g)	Tinggi (cm)	Bobot (g)	Tinggi (cm)	Bobot (g)	Tinggi (cm)	Bobot (g)
0.0	-	53.0	1.8	56.3	2.0	54.7	1.8	54.7	1.9
30.0	TSP	54.3	1.8	60.3	2.1	58.7	1.9	57.8	1.9
50.0	TSP	63.7	2.1	63.3	2.0	67.7	1.8	64.9	2.0
50.0	BF	57.0	1.9	64.3	2.0	61.3	2.1	60.9	2.0
80.0	BF	61.0	2.2	65.0	1.8	60.7	2.3	62.2	2.1
Rataan		57.8	1.9	61.9	2.0	60.6	2.0	-	-

TSP : Triple super phosphate, BF : Batuan fosfat

Fase penyesuaian terjadi pada empat minggu pertama penyimpanan. Pada fase ini tingkat populasi dan kemampuan bakteri dalam melarutkan batuan fosfat belum mengalami perubahan yang drastis.

Fase gejala terjadi pada minggu ke-6 sampai minggu ke-10. Pada fase ini populasi bakteri dan kemampuannya dalam melarutkan batuan fosfat meningkat dengan tajam. Pada periode ini kondisi lingkungan (sumber karbon, hara, air, ruang gerak) maupun kondisi fisiologis bakteri sangat mendukung dalam penggandaan sel maupun kemampuan genetisnya dalam melarutkan batuan fosfat.

Fase stabil dicapai setelah penyimpanan minggu ke-10. Pada fase ini populasi *P. putida* stabil pada tingkat yang rendah, tetapi kemampuannya dalam melarutkan batuan fosfat stabil pada tingkat yang tinggi.

Pemilihan Inokulan untuk Pengujian Kemampuan Melarutkan Fosfat. Kompos-zeolit sebagai bahan pembawa yang disimpan pada suhu 28°C dipilih sebagai medium terbaik dan selanjutnya dievaluasi pada jagung.

Tinggi dan Bobot Tanaman. Pemberian inokulan cenderung meningkatkan tinggi dan bobot kering jagung umur empat minggu, tetapi hasil analisis statistiknya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pemberian P dengan batuan fosfat juga cenderung dapat menggantikan pupuk TSP jika dikombinasikan dengan pemberian *P. putida* baik pada dosis 1 maupun 2 x 10¹¹ sel per pot (Tabel 1).

Kadar N, P, K Tanaman. Pengaruh inokulasi *P. putida* dan dosis fosfat maupun interaksinya cenderung meningkatkan kadar nitrogen jaringan tanaman, terutama pada pemberian dosis 2 x 10¹¹ sel *P. putida* per pot. Nitrogen jaringan pada tanaman jagung rata-rata lebih baik yang dipupuk TSP daripada batuan fosfat (Tabel 2).

Pemberian inokulan nyata meningkatkan kadar P tanaman, demikian pula dosis pupuk fosfat. Sedangkan pengaruh *P. putida* menunjukkan hasil yang bervariasi terhadap kadar K tanaman. Pemberian *P. putida* dan pupuk fosfat tidak mempengaruhi kalium tanaman, bahkan pada dosis inokulan 2 x 10¹¹ sel per pot bersifat negatif terhadap variabel tersebut.

PEMBAHASAN

Medium kompos tampak lebih baik dibandingkan gambut dalam mempertahankan populasi yang tinggi dari *P. putida* (Gambar 1). Penambahan zeolit menjadikan medium tersebut semakin baik. Zeolit merupakan kelompok mineral yang mempunyai sifat khusus, di antaranya mempunyai kisi-kisi yang saling berhubungan dan mempunyai kapasitas menahan zat alir yang tinggi (Mumpton, 1984). Dengan demikian zeolit akan memperbaiki sifat medium pembawa karena mampu mempertahankan kelembaban dalam jangka panjang, dan menyerap asam-asam organik hasil fermentasi yang mungkin bersifat racun bagi jasad renik.

Di antara empat macam medium pembawa, terlihat bahwa kompos yang dicampur dengan zeolit 10% dan disimpan pada suhu 28°C relatif lebih baik dalam mempertahankan populasi dan stabilitas *P. putida* daripada medium pembawa yang lain. Hal tersebut dapat dimengerti karena kompos merupakan sisa dekomposisi aerob dalam waktu yang singkat dan mengandung senyawa sintesis baru, kaya akan humus yang agak resisten terhadap dekomposisi. Namun demikian secara lambat karbon organik dalam kompos masih dapat dimanfaatkan oleh jasad renik. Gambut tidak sebaik K kompos karena terbentuk dari bahan organik dalam kurun waktu yang sangat lama dalam kondisi anaerob (tergenang air), sehingga membentuk senyawa spesifik yang resisten terhadap dekomposisi dan sering dijumpai senyawa-senyawa hasil fermentasi yang meracuni organisme.

Percobaan inokulasi *P. putida* dengan medium kompos-zeolit ternyata kurang memberikan hasil yang memuaskan

Tabel 2. Pengaruh Dosis Isolat *P. putida*, Sumber dan Dosis P terhadap Kadar Hara N, P, K Jaringan Jagung Umur Empat Minggu

Dosis P (mg P ₂ O ₅ / pot)	Sumber P	Dosis Isolat											
		Kontrol			1x10 ¹¹ sel/pot			2x10 ¹¹ sel/pot			Rataan		
		Kadar Hara (%)											
		N	P	K	N	P	K	N	P	K	N	P	K
0.0	-	0.69	0.20	1.94	0.60	0.23	1.90	0.79	0.25	1.60	0.69	0.23	1.81
30.0	TSP	0.72	0.24	2.00	1.03	0.25	2.06	1.02	0.26	1.48	0.92	0.25	1.84
50.0	TSP	0.80	0.25	2.01	0.96	0.26	2.08	1.35	0.27	1.76	1.04	0.26	1.93
50.0	BF	1.02	0.25	1.96	0.94	0.27	2.17	0.93	0.30	1.13	0.96	0.28	1.75
80.0	BF	0.97	0.31	2.08	0.88	0.34	2.29	0.93	0.33	1.71	0.93	0.33	2.03
Rataan		0.84	0.24a	2.24	0.88	0.27b	2.32	1.00	0.28b	0.96	-	-	-

TSP : Triple super phosphate, BF : Batuan fosfat

Huruf yang sama di belakang angka menurut baris, tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%, dengan uji Duncan

terhadap tinggi dan bobot kering jagung umur empat minggu. Hasil yang lebih baik kemungkinan dapat diperoleh jika umur tanaman jagung diperpanjang, karena batuan fosfat merupakan sumber P yang lambat tersedia. Namun, pengaruh inokulan dapat meningkatkan kadar P jagung umur empat minggu, demikian pula pada perlakuan dosis P tinggi. Peningkatan kadar P tanaman tersebut disebabkan aktivitas *P. putida* dalam melarutkan fosfat.

Aktivitas *P. putida* menghasilkan asam-asam organik, diantaranya asam oksalat (Premono, 1994) yang akan mengkelat anasir penjerap P, dan anion organiknya bersaing dengan ortofosfat dalam menduduki tapak jerapan aktif koloid tanah yang bermuatan positif. Dengan demikian penggunaan *P. putida* dapat meningkatkan serapan fosfat oleh tanaman. Penggunaan batuan fosfat yang dikombinasi *P. putida* dosis 1 maupun 2×10^{11} sel dapat menggantikan pemupukan TSP (Tabel 2), sehingga penggunaan TSP dapat dikurangi atau sebagian dapat disubstitusi dengan batuan fosfat.

DAFTAR PUSTAKA

- Earl, K. D., J. K. Syers, and J. R. Mc Laughlin. 1979. Origin of the Effect of Citrate, Tartarate, and Acetate on Phosphate Sorption by Soils and Synthetic Gels. *Soil Sci. Am. J.* 43:474-678.
- Jones, J. B. Jr., B. Wolf, and H. A. Mills. 1991. *Plant Analysis Handbook*. Georgia: Micro-Macro Publ. Inc.
- Kwong, K. F. Ng, K. and P. M. Huang. 1977. Surface Reactivity of Aluminium Hydroxides Precipitated in the Presence of Low Molecular Weight Organic Acids. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43:1107-1113.
- Mumpton, F. A. 1984. The Role of Natural Zeolites in Agriculture. *J. Animal Sci.* 12:3-24.
- Nagarajah, S., A. M. Posneer, and J. P. Quirk. 1970. Description of Phosphate from Kaolinite by Citrate and Bicarbonate. *Soil Sci. Am. J.* 32:507-510.
- Premono, M. E. 1994. Jasad Renik Pelarut Fosfat: Pengaruhnya terhadap P Tanah dan Efisiensi Tanaman Tebu. Makalah Seminar Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor, 25 Juli 1994.
- Premono, M. E., R. Widyastuti, dan I. Anas. 1991. Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat terhadap Senyawa P Sukar Larut, Ketersediaan P Tanah dan Pertumbuhan Jagung pada Tanah Masam. Makalah Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor, 2-3 Desember 1991.
- Premono, M. E., R. Widyastuti, dan I. Anas. 1992. Pengaruh bakteri Pelarut Fosfat terhadap Serapan Kation Unsur Mikro Tanaman Jagung pada Tanah Masam. Makalah Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bandung, 31 Juli - 1 Agustus 1992.
- Subba Rao, N. S. 1981. *Biofertilizers in Agriculture*. New Delhi: Oxford & IBH Publ. Co.
- Vancura, V. 1989. Inoculation of Plant with *Pseudomonas putida*, p. 185-190. In V. Vancura and F. Kunc (ed.). 1989. *Soil Interrelationship Between Microorganisms and Plant in Soil*. Amsterdam: Elsevier.
- Widyastuti, R dan I. Anas. 1983. Peningkatan Kualitas Kompos dengan *Pseudomonas* sp. *J. Mikrobiol. Indonesia* 2(2):27-29.
- Wijayanti, E. 1991. Peningkatan Kelarutan P dari Sumber Fosfat Sukar Larut dengan Menggunakan Bakteri Pelarut Fosfat. Skripsi. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.