

# Dinamika Populasi *Rhizopseudomonas* pada Permukaan Akar Tebu

## *Population Dynamics of Rhizopseudomonas on Root Surface of Sugarcane*

M. EDI PREMONO<sup>1\*</sup>, W.E. WIDAYATI<sup>1</sup>, S. SUMOWIJARDJO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Jalan Pahlawan 25, Pasuruan 67126

<sup>2</sup>Laboratorium Fitopatologi, Faperta, Universitas Gadjah Mada, Sekip, Unit I, Yogyakarta 55281

Diterima 4 Desember 2001/Disetujui 18 Maret 2002

Three *rhizopseudomonas* strains i.e. Lp 312.1; Lp 112.1, and L27A4Al, have been formulated as a multistrain biofertilizer based on their adaptability variation. The biofertilizer was applied in a greenhouse experimentation to study the capability of *rhizopseudomonas* to colonize 6 weeks-old sugarcane roots using conventional and serological tests. The results showed that there was a dynamic population of *rhizopseudomonas* derived from the biofertilizer. In general, single strain population showed higher population density compared to multistrain. Low population of multistrain was probably caused by the antagonistic interaction among them. However, it could be demonstrated that each strain was still alive and active following serological test. It was also evidence that three strains completely colonized 6 weeks-old sugarcane root surface. Domination of Lp. 312.1 strain on root surface was higher than either Lp 112.1 or L27A4Al as shown from both serological test using polyclonal antibody and agglutination test using root exudates.

### PENDAHULUAN

*Rhizopseudomonas*, bakteri pemacu tumbuh yang memiliki habitat di rizosfer dapat membantu memperbaiki pertumbuhan tanaman dan mengefisienkan penggunaan pupuk. Aktivitas jasad renik tersebut menghasilkan hormon, enzim, asam organik, antibiotik, dan siderofor, sehingga rizobakteri ini dikenal mampu memacu pertumbuhan tanaman, memobilisasi hara melalui dekomposisi, melarutkan hara terfiksasi, mengendalikan patogen akar, dan meningkatkan mobilitas kation-kation tanah melalui pengkelatan, terutama besi. *Rhizopseudomonas* melangsungkan kehidupannya dengan mengkolonisasi akar tanaman dan memperoleh senyawa-senyawa karbon eksudat akar (Kloepper *et al.* 1989). Dengan demikian antara rizobakteri dengan akar tanaman terdapat hubungan spesifik yang bersifat mutualisme.

Salah satu kelebihan *rhizopseudomonas* yang menonjol ialah mampu melarutkan senyawa fosfat sehingga penggunaan agen ini mampu mengatasi ketidakefisienan pemupukan P pada pertanian tebu. Hasil penelitian Premono (1994) menunjukkan bahwa efisiensi pupuk P pada tanah masam di Lampung hanya berkisar 1-5%. *Rhizopseudomonas* mampu meningkatkan efisiensi pemupukan P menjadi 5-20% melalui mekanisme-mekanisme: (i) pengkelatan kation penjerap P, seperti Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup> dan Ca<sup>2+</sup> oleh asam organik (Fox *et al.* 1990, Bolan *et al.* 1994, Kpombekou & Tabatabai 1994, Premono 1994, Illmer *et al.* 1995), (ii) penutupan muatan positif koloid tanah oleh anion-anion organik yang dihasilkan oleh jasad renik, dan (iii) pelarutan senyawa-senyawa P akibat pelepasan

proton yang terjadi pada proses respirasi sel ataupun asimilasi amonium (Ilmer & Schinner 1995). Peningkatan efisiensi pemupukan P akan berdampak pada penghematan penggunaan pupuk dan bermanfaat dalam penghematan devisa negara yang dibelanjakan berupa impor bahan baku pupuk P dan subsidi pupuk (Baharyah 1990).

Studi *rhizopseudomonas* terhadap pertumbuhan tanaman telah banyak dilakukan (Buntan 1992, Premono 1994, Premono *et al.* 1994, 1995a, 1995b, 1996), demikian pula studi pendahuluan stabilitas *rhizopseudomonas* di dalam media pembawa (*carrier*) dan ketahanan hidupnya di rizosfer tanaman (Premono & Widyastuti 1994, Widayati & Premono 1998), namun telaah pasca inokulasi yang mempelajari ekologi dan kolonisasi akar dalam menggambarkan hubungan/interaksi bakteri-akar tanaman belum banyak diungkapkan. Di lain pihak, keberhasilan pupuk hayati semacam ini juga sangat dipengaruhi oleh lingkungan setempat, yakni kelembaban tanah, aerasi, kadar dan macam C-organik, pH tanah, kadar hara-hara, dan sifat mikroflora yang ada di rizosfer. Oleh karena itu, formulasi multi galur yang berisikan campuran *rhizopseudomonas* dengan kemampuan daya adaptasi yang beragam akan memberikan peluang keberhasilan yang lebih tinggi daripada formulasi tunggal masing-masing.

### BAHAN DAN METODE

**Pupuk *Rhizopseudomonas* dan Uji Kolonisasi pada Akar Tebu.** Pupuk *rhizopseudomonas* diformulasi dalam pengemban yang berisi campuran gambut, zeolit dan tanah, dengan lapisan alginat sebagai selimut gelintiran. Sebanyak tujuh macam pupuk hayati *rhizopseudomonas* disiapkan,

\* Penulis untuk korespondensi, Tel. +62-343-421086, Fax. +62-343-421178, E-mail: isri@telkom.net

yaitu: (i) Lp 112.1, (ii) Lp 312.1, (iii)  $L_{27}A_4Al$ , (iv) campuran Lp 112.1 dan Lp 312.1, (v) campuran Lp 112.1 dan  $L_{27}A_4Al$ , (vi) campuran Lp 312.1 dan  $L_{27}A_4Al$ , serta (vii) campuran Lp 112.1, Lp 312.1, dan  $L_{27}A_4Al$ .

Percobaan dilakukan di rumah kaca, menggunakan pot berisi 5 kg tanah dalam keadaan bobot kering mutlak (BKM). Tanah yang digunakan berupa campuran tanah Ultisol dengan pasir kuarsa, masing-masing dengan perbandingan bobot 1:4. Bibit tebu varietas Ps 80-1424 dalam bentuk bagal mata satu ditanam dalam pot bersamaan dengan inokulasi  $5 \times 10^4$  sel bakteri per gram tanah. Percobaan dilaksanakan dengan pemberian pupuk hayati rhizopseudomonas sebanyak delapan tingkat, yaitu: kontrol (tanpa inokulasi) dan tujuh macam formulasi yang telah dipersiapkan sebelumnya. Tanaman ditumbuhkan selama 12 minggu, yang secara periodik diamati pada minggu ke-6 setelah tanam.

**Uji Kolonisasi dengan Pencawanan.** Pada umur enam minggu, akar tebu dikeluarkan dari pot secara hati-hati, dipisahkan dari kotoran yang menempel, direndam sesaat dalam air suling untuk membersihkan kotoran-kotoran yang masih menempel. Selanjutnya sebanyak 10 g akar segar direndam dalam 90 ml 5 mM NaCl, dikocok 150 rpm selama 20 menit, dan dipisahkan akar dengan filtrat. Sampel akar selanjutnya direndam dalam 90 ml 5 mM Na - EDTA, dikocok 20 menit, dan dipisahkan akar dengan filtrat. Akar tersebut selanjutnya direndam dalam 90 ml 5 mM Na-asetat, dikocok 150 rpm selama 20 menit, dan dipisahkan akar dari filtrat.

Masing-masing filtrat hasil ekstraksi dengan NaCl, Na-EDTA, maupun Na-asetat selanjutnya diencerkan dengan larutan garam fisiologi sampai tingkat  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ , dan  $10^{-10}$ . Sebanyak satu mililiter dari masing-masing pengenceran dibiakkan ke dalam medium Pikovskaya padat, diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam, dan dihitung jumlah koloni yang memiliki zona jernih.

**Uji Kolonisasi dengan Antibodi.** Antibodi poliklonal untuk rhizopseudomonas galur Lp 112.1, Lp 312.1, dan  $L_{27}A_4Al$  telah disiapkan. Filtrat hasil ekstraksi akar dengan 5 mM NaCl, 5 mM Na-EDTA dan 5 mM Na-asetat pada tingkat pengenceran  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ , dan  $10^{-10}$  diperlukan sebagai antigen dan selanjutnya antigen ini diuji reaksinya dengan antibodi poliklonal menggunakan teknik *indirect* ELISA. Cawan ELISA yang digunakan dicuci tiga kali dengan *phosphate buffer saline tween* (PBS *Tween*) 0.05%. Selanjutnya sumur-sumur dalam cawan dilapisi dengan *poly L. lysine* yang telah diencerkan sampai  $10^{-2}$  menggunakan 200  $\mu$ l 0.02 M PBS pH 7.2 dan diinkubasikan selama 30 menit. Sebanyak 100  $\mu$ l antigen dimasukkan ke dalam sumur dan diinkubasi pada suhu 4-6°C selama 16 jam. Selanjutnya masing-masing sumur difiksasi selama 15 menit pada suhu ruang menggunakan 150  $\mu$ l 0.1% (v/v) glutaraldehid dalam 0.02 M PBS pH 7.2 dan dicuci tiga kali dengan 0.05% PBS *Tween*. Pemblokkan dilakukan dengan 1% (g/v) BSA dalam 0.02 M PBS pH 7.2, sebanyak 200  $\mu$ l untuk tiap sumur, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 90 menit, kemudian dicuci tiga kali dengan 0.05% PBS *Tween*. Selanjutnya sebanyak 100  $\mu$ l antibodi dimasukkan ke dalam sumur-sumur, diinkubasi pada

suhu 6°C selama 18 jam, dibubuhi 100  $\mu$ l konjugat antirabbit IgG yang telah diencerkan  $4 \times 10^{-3}$  dengan 0.02 M PBS pH 7.2, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Pada akhir inkubasi ke dalam sumur ditambahkan 100  $\mu$ l buffer substrat ELISA pH 9.8 yang telah ditambah dengan 0.01% *4p - Nitrophenyl phosphate*, dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30-90 menit. Hasil reaksi antigen (rhizopseudomonas) - antibodi dibaca dengan ELISA *reader* (*Titertec Multiscan MCC/340*). Tingkat absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm.

**Spesifitas Reaksi Eksudat Akar - Rhizopseudomonas.** Tebu varietas Ps 80-1424 dalam bentuk bagal mata satu ditanam dalam pot berisi 3 kg tanah (media seperti pada uji kolonisasi rhizopseudomonas). Setelah tebu berumur 30 hari, akar dibongkar dengan hati-hati dan senyawa glikoprotein dipanen dengan metode Anderson (1983). Untuk kegiatan penelitian ini digunakan 15 pot percobaan yang ditempatkan dalam rumah kaca.

Sebanyak satu tetes suspensi rhizopseudomonas (galur Lp 112.1, Lp 412.1, dan  $L_{27}A_4Al$ ) dalam medium TSA 30% atau kaldu nutrisi (NB) dengan kepadatan agar 30%, ditambahkan 150  $\mu$ l 0.1 mM  $MgCl_2$  dan 350  $\mu$ l eksudat akar. Sebagai pembanding digunakan air suling untuk menggantikan eksudat akar. Suspensi dikocok pelan-pelan, diinkubasi selama 30 menit. Reaksi aglutinasi diamati secara visual dan mikroskopis.

## HASIL

**Deteksi Rhizopseudomonas dalam Pupuk.** Hasil pengukuran kepadatan rhizopseudomonas dalam formulasi pupuk hayati galur tunggal dan multi galur dilakukan dengan cara pencawanan, diikuti dengan uji serologi menggunakan teknik *indirect* ELISA (Tabel 1).

Populasi rhizopseudomonas dalam formulasi pupuk hayati (gelintiran) sangat bervariasi, dari  $1.09-2.89 \times 10^9$  cfu (*colony forming unit*) per gram pupuk. Terlihat pula adanya indikasi

Tabel 1. Hasil pengamatan populasi rhizopseudomonas dan uji serologi dalam pupuk

Antigen (pupuk rhizopseudomonas)	Antibodi	Uji serologi		Populasi rhizopseudomonas dalam pupuk $\times 10^9$ cfu $g^{-1}$
		Elisa*	buffer reader	
$L_{27}A_4Al$	$L_{27}A_4Al$	1.120	0.473	2.89
Lp 112.1	Lp 112.1	1.363	0.814	1.95
Lp 312.1	Lp 312.1	1.755	0.559	2.01
$L_{27}A_4Al$ dan Lp 112.1	$L_{27}A_4Al$	0.935	0.473	1.31
	Lp 112.1	1.547	0.814	
$L_{27}A_4Al$ dan Lp 312.1	$L_{27}A_4Al$	1.678	0.473	1.94
	Lp 312.1	1.551	0.558	
Lp 112.1 dan Lp 312.1	Lp 112.1	1.971	0.814	1.13
	Lp 312.1	1.556	0.559	
$L_{27}A_4Al$ , Lp 112.1, dan Lp 312.1	$L_{27}A_4Al$	1.237	0.473	1.09
	Lp 112.1	1.931	0.814	
	Lp 312.1	1.583	0.559	
		LSD 0.05		0.89
		CV %		15.53

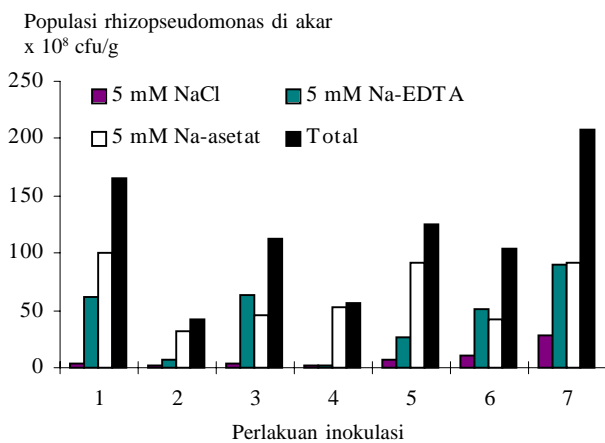
\*Pembacaan dilakukan pada tingkat pengenceran pupuk  $10^{-1}$  dengan waktu inkubasi 45 menit

antagonisme antargalur rhizopseudomonas, tetapi hasil pembacaan ELISA reader menunjukkan galur-galur rhizopseudomonas tetap masih dapat hidup dalam pengemban yang sama. Antagonisme terdeteksi dari populasi rhizopseudomonas pada galur tunggal, baik Lp 112.1, Lp 312.1. Imaupun L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al, yang selalu lebih tinggi daripada populasi rhizopseudomonas dalam formulasi multi galur. Galur Lp 112.1 lebih mendominasi dibandingkan galur Lp 312.1 dan L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al dalam formulasi multi galur.

**Uji Kolonisasi Rhizopseudomonas.** Kepadatan rhizopseudomonas yang mengkolonisasi akar tebu delapan minggu disajikan pada Gambar 1 dan Tabel 2. Gambar 1 menunjukkan bahwa akar tebu umur enam minggu dikolonisasi oleh sel-sel rhizopseudomonas dengan kepadatan 5.7 sampai 20.8 x 10<sup>9</sup> cfu per gram akar. Populasi rhizopseudomonas yang melekat lebih kuat di akar (Na-asetat) ternyata lebih tinggi daripada populasi rhizopseudomonas yang melekat lebih lemah pada permukaan akar (hasil ekstraksi dengan NaCl dan atau Na-EDTA).

Pengamatan lebih saksama menggunakan antibodi, ditunjukkan dengan nilai kepositifan reaksi serologi (hasil pembacaan ELISA reader, Tabel 2), menunjukkan bahwa ketiga galur rhizopseudomonas yang diuji tersebut memiliki preferensi kelekatan terhadap akar yang berbeda.

Hasil pembacaan ELISA reader, terutama pada perlakuan pupuk rhizopseudomonas multi galur (L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al dan Lp 112.1; L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al dan Lp 312.1; Lp 112.1 dan Lp 312.1; L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al, Lp 112.1, dan Lp 312.1) menunjukkan bahwa dengan ekstraksi NaCl galur L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al selalu lebih bereaksi positif dibanding galur Lp 312.1 dan Lp 112.1. Selanjutnya dengan ekstraksi Na-EDTA menunjukkan bahwa Lp 112.1 lebih positif dibandingkan dengan Lp 312.1 dan L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al, sedangkan dengan ekstraksi Na-asetat menunjukkan bahwa Lp 312.1 bereaksi lebih positif dibanding Lp 112.1 dan L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al. Mengingat berturut-turut Na-asetat, Na-EDTA, NaCl, mengekstrak rhizopseudomonas yang lebih dekat dengan akar maka preferensi dominasi galur di zona-zona permukaan akar mulai dapat dipahami.



Gambar 1. Populasi rhizopseudomonas yang mengkolonisasi akar tebu pada berbagai perlakuan inokulasi. 1. L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al; 2. Lp 312.1; 3. Lp 112.1; 4. L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al dan Lp 312.1; 5. L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al dan Lp 112.1; 6. Lp 312.1 dan Lp 112.1; 7. L<sub>27</sub>A<sub>4</sub>Al, Lp 312.1 dan Lp 112.1.

**Koleksi Eksudat dan Uji Aglutinasi.** Dari 15 pot tebu berumur empat minggu dapat diperoleh sebanyak 20 ml eksudat akar. Eksudat akar tersebut selanjutnya diuji reaksi aglutinasinya dengan rhizopseudomonas, dan dipreparasi untuk pemisahan fraksi-fraksinya menurut bobot molekul masing-masing. Uji aglutinasi diperlukan untuk membuktikan adanya reaksi antara rhizopseudomonas dengan glikoprotein yang terdapat dalam eksudat akar. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa reaksi aglutinasi membutuhkan waktu kurang lebih 10-15 menit sehingga gumpalan-gumpalan (aglutinan) yang terbentuk dapat dilihat secara visual, dan semakin jelas dengan pengamatan mikroskopis (Tabel 3).

**PEMBAHASAN**

Hasil deteksi rhizopseudomonas dalam formulasi pupuk hayati menunjukkan bahwa populasi pada formulasi pupuk galur tunggal selalu menunjukkan angka lebih tinggi daripada populasi rhizopseudomonas dalam formulasi multi galur. Hal tersebut menunjukkan ada indikasi terjadi antagonisme antargalur, namun hasil uji lanjut dengan antibodi poliklonal memperlihatkan bahwa jasad renik yang tertanam dalam formulasi multi galur masih menunjukkan adanya aktivitas. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa antagonisme antargalur tidak bersifat total pemusnahan antargalur, tetapi bersifat dominasi galur satu terhadap galur lainnya.

Tabel 2. Hasil uji serologi rhizopseudomonas yang mengkolonisasi akar

Rhizopseudomonas dari akar (Antigen)	Ekstrak akar	Pembacaan ELISA reader dengan antibodi			Bufer			
		L <sub>27</sub> A <sub>4</sub> Al	Lp 112.1	Lp 312.1				
L <sub>27</sub> A <sub>4</sub> Al	Na-EDTA	0.630	++		0.190			
	NaCl	0.522	+		0.205			
	Na-asetat	0.622	++		0.190			
Lp 112.1	Na-EDTA		0.586	+	0.225			
	NaCl		0.602	+	0.217			
	Na-asetat		0.655	+	0.236			
Lp 312.1	Na-EDTA			0.547	+	0.208		
	NaCl			0.519	+	0.221		
	Na-asetat			0.529	+	0.202		
L <sub>27</sub> A <sub>4</sub> Al dan Lp 112.1	Na-EDTA	0.573	+	0.745	+++	0.219		
	NaCl	0.588	+	0.715	+++	0.219		
	Na-asetat	0.596	+	0.716	+++	0.221		
L <sub>27</sub> A <sub>4</sub> Al dan Lp 312.1	Na-EDTA	0.541	+		0.778	++	0.216	
	NaCl	0.737	+++		1.007	++++	0.212	
	Na-asetat	0.645	++		0.815	+++	0.214	
Lp 112.1 dan Lp 312.1	Na-EDTA		0.611	++	0.702	+++	0.188	
	NaCl		0.653	++	0.917	++++	0.187	
	Na-asetat		0.794	+++	0.923	++++	0.183	
L <sub>27</sub> A <sub>4</sub> Al, Lp 112.1, dan Lp 312.1	Na-EDTA	0.530	+	0.591	+	0.583	+	0.259
	NaCl	0.616	++	0.661	++	0.649	++	0.238
	Na-asetat	0.550	+	0.578	+	0.601	++	0.265

Nilai + (positif) ditetapkan secara kualitatif berdasarkan delta pembacaan sampel terhadap bufernya

Tabel 3. Hasil uji reaksi aglutinasi rhizopseudomonas terhadap eksudat akar

Galur rhizopseudomonas	Reaksi aglutinase
Lp 112.1	+++
Lp 312.1	+++
L27A4A1	+

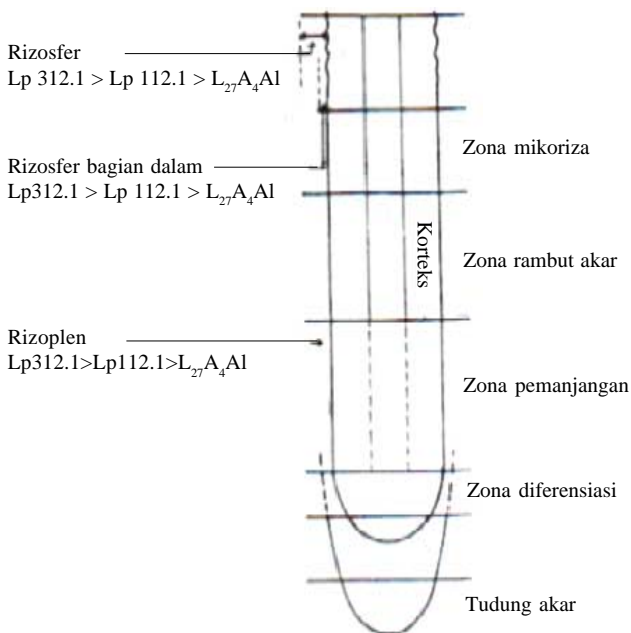
Nilai + (positif) menunjukkan ukuran kekuatan reaksi, ditetapkan di bawah mikroskop menggunakan pembanding (kontrol) air suling sebagai pengganti eksudat akar

Tabel 3 menunjukkan bahwa fenomena dominasi galur dalam formulasi pupuk hayati pada campuran dua galur secara konsisten memperlihatkan dominasi galur yang berurutan yaitu:  $L_{27}A_4Al > Lp\ 312.1 > Lp\ 112.1$ . Dari uji tersebut juga diketahui bahwa galur campuran  $L_{27}A_4Al$  dan  $Lp\ 112.1$  tidak menunjukkan reaksi.

Formulasi pupuk rhizopseudomonas baik secara tunggal maupun multi galur setelah diinokulasikan pada awal penanaman tebu menghasilkan keragaman kolonisasi yang terjadi pada permukaan akar tebu umur enam minggu. Dari Gambar 2 dan Tabel 2 dapat diketahui bahwa akar yang diekstrak bergantian dengan 5 mM Na-EDTA, 5 mM NaCl, dan 5 mM Na-asetat menunjukkan bahwa secara umum populasi rhizopseudomonas hasil ekstraksi Na-asetat > Na-EDTA > NaCl. Secara berurutan ekstraktan rhizopseudomonas tersebut menunjukkan kedekatan yang lebih baik terhadap akar tebu, artinya rhizopseudomonas yang terukur dengan Na-asetat mengkolonisasi akar lebih kuat dibandingkan berturut-turut dengan hasil ekstraksi NaCl dan Na-EDTA. Hasil uji berikutnya, dengan antibodi poliklonal, juga menunjukkan bahwa masing-masing galur rhizopseudomonas ( $L_{27}A_4Al$ ,  $Lp\ 112.1$ , dan  $Lp\ 312.1$ ) memiliki dominasi yang mirip pada setiap zona permukaan akar. Secara hipotetik pada permukaan akar tebu umur enam minggu, dominasi rhizopseudomonas secara konsisten berturut-turut ditunjukkan oleh galur  $Lp\ 312.1 > Lp\ 112.1 > Lp\ L_{27}A_4Al$  (Gambar 2).

Secara spesifik, jika ketiga galur tersebut diinokulasikan bersamaan, maka interaksi biologi ketiganya menyebabkan masing-masing galur menempati situs lapisan permukaan akar berbeda. Dominasi galur yang berbeda pada permukaan akar dapat disebabkan oleh adanya preferensi antagonisme antargalur atau adanya perbedaan spesifitas reaksi masing-

Zona rhizopseudomonas pada:



Gambar 2. Dominasi rhizopseudomonas secara hipotetik pada permukaan akar tebu umur 6 minggu.

masing galur dengan substansi yang dikeluarkan oleh akar tebu. Dugaan tersebut diperkuat dengan hasil pengamatan reaksi aglutinasi galur-galur rhizopseudomonas dengan eksudat akar tebu yang dapat disimak pada Tabel 3. Ternyata bahwa rhizopseudomonas galur  $Lp\ 312.1$  dan  $Lp\ 112.1$  memperlihatkan reaksi aglutinasi lebih kuat terhadap eksudat akar tebu daripada galur  $L_{27}A_4Al$ . Dengan demikian kolonisasi rhizopseudomonas galur  $L_{27}A_4Al$  akan selalu berada lebih jauh dari permukaan akar dibandingkan dengan galur  $Lp\ 312.1$  dan galur  $Lp\ 112.1$ .

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Program Penelitian Riset Unggulan Terpadu (RUT VI), untuk itu diucapkan terima kasih kepada Penanggung Jawab RUT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson AJ. 1983. Isolation from root and shoot surface of agglutinins that show specificity for saprophytic *Pseudomonas*. *Can J Bot* 61:3438-3443.
- Baharsyah S. 1990. Penghapusan subsidi pupuk: suatu tinjauan ekonomi. *Prosiding Lokakarya Nasional Efisiensi Penggunaan Pupuk V*. Cisarua, 12-13 Des 1990.
- Bolan NS, Naidu R, Mahimaraja S, Baskaran S. 1994. Influence of low-molecular-weight organic acids on the solubilization of phosphate. *Biol Fertil Soils* 18:311-319.
- Buntan A. 1992. Efektivitas bakteri pelarut P dalam kompos terhadap peningkatan serapan P dan efisiensi pemupukan P pada jagung [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fox TR, Commerford NB, Mc Fee WM. 1990. Phosphorus and aluminium release from a spodic horizon mediated by organic acid. *Soil Sci Soc Am J* 54:1763-1767.
- Illmer P, Babato A, Schinner F. 1995. Solubilization of hardly soluble  $AlPO_4$  with P-solubilizing microorganism. *Soil Biol Biochem* 27:265-270.
- Illmer P, Schinner F. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biol Biochem* 27:257-263.
- Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM. 1989. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7:39-43.
- Kpoblekou-A K, Tabatabai A. 1994. Effect of organic acid on release of phosphorus from phosphate rock. *Soil Sci* 158:442-453.
- Premono ME. 1994. Jasad renik pelarut fosfat: pengaruhnya terhadap P tanah dan efisiensi pemupukan P pada tanaman tebu [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Premono ME, Anas I, Soepardi G, Hadioetomo RS, Saono S, Sisworo WH. 1994. Isolasi dan seleksi jasad renik pelarut P (JRPP) dari perkebunan tebu. *Majalah Penelitian Gula*. XXX: 25-30.
- Premono ME, Anas I, Soepardi G, Hadioetomo RS, Saono S, Sisworo WH. 1995a. *Pseudomonas putida* sebagai agen hayati untuk meningkatkan efisiensi pupuk dan produksi tebu. *Prosiding Pertanian Teknis P3GI*. Pasuruan: 1-8. 29-30 Nop 1995. hlm 19-29.
- Premono ME, Anas I, Soepardi G, Hadioetomo RS, Saono S, Sisworo WH. 1995b. Pengaruh jasad renik pelarut P terhadap tanaman tebu di tanah masam. *Prosiding Kongres HITI*. Jakarta, 11-12 Des 1995. hlm 451-458.
- Premono ME, Moawad AM, Vlek PLG. 1996. Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indon J Crop Sci* 11:13-23.
- Premono ME, Widyastuti R. 1994. Stabilitas *Pseudomonas putida* dalam beberapa bahan pembawa dan peranannya sebagai pupuk hayati. *Hayati* 1:55-58.
- Widayati WE, Premono ME. 1998. Viabilitas dan stabilitas populasi jasad renik pelarut fosfat dalam pengembalian terformulasi. *Bulletin P3GI* 151:1-13.