

Pelarutan Tiga Jenis Fosfat Alam oleh Fungi Pelarut Fosfat

Solubilization of Three Rock Phosphates by Phosphate-Solubilizing Fungi

Anggi Nico Flatian*, Sudono Slamet, Ania Citraresmini

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jl. Kuningan Barat Raya, Jakarta, 12440, Indonesia

INFORMASI ARTIKEL

Riwayat artikel:

Diterima: 24 Januari 2018
Direview: 06 Agustus 2018
Disetujui: 27 Agustus 2018

Kata kunci:

Fungi pelarut fosfat
Fosfat alam
pH
Pelarutan P

Keywords:

Phosphate-solubilizing fungi
Rock phosphate
pH
P released

Direview oleh:

Rasti Saraswati, Ety Pratiwi

Abstrak. Fosfat alam dapat ditingkatkan kelarutannya melalui proses kimia dan menghasilkan pupuk P kimia mudah larut. Namun dalam proses pembuatannya memerlukan biaya dan jumlah bahan kimia yang relatif besar. Salah satu alternatif untuk meningkatkan kelarutan fosfat alam adalah menggunakan mikroba pelarut fosfat, termasuk golongan fungi yang dilaporkan memiliki kemampuan pelarutan P tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk (i) mengevaluasi kemampuan 5 isolat fungi pelarut fosfat (FPF) dalam melarutkan P dari 3 jenis fosfat alam (fosfat alam asal Mesir, Yordania, dan Maroko), dan (ii) mengevaluasi hubungan P terlarut dengan pH media. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat FPF yang diuji meningkatkan kelarutan fosfat alam secara signifikan. Kelarutan P maksimum pada pelarutan fosfat alam Mesir dicapai oleh isolat JK2 (211,8 $\mu\text{g P ml}^{-1}$), fosfat alam Yordania oleh JK1 (325,1 $\mu\text{g P ml}^{-1}$) dan fosfat alam Maroko oleh SS10.6 (118,7 $\mu\text{g P ml}^{-1}$). Terdapat korelasi negatif signifikan antara nilai P terlarut dengan nilai pH media. Besarnya nilai P terlarut dan pH media berfluktuasi dengan pola fluktuasi yang berbeda antara masing-masing isolat.

Abstract. The solubility of rock phosphates can be increased through chemical processes to produce soluble chemical P fertilizers. However, these processes are costly and require chemical fertilizers in large quantities. One alternative to increase the solubility of rock phosphate is by using Phosphate-solubilizing microbes, including fungi groups. The objectives of this experiment were to (i) evaluate the ability of 5 isolates of phosphate-solubilizing fungi in dissolving P from 3 types of rock phosphate (rock phosphates of Egypt, Jordan and Morocco), and (ii) evaluate the relationship of solubilized P and the medium pH. The results showed that the rock phosphate solubilization were significantly increased by the isolates tested. Maximum P-released from Egypt, Jordan, and Morocco rock phosphates respectively were reached by JK2 (211.8 $\mu\text{g P ml}^{-1}$), JK1 (325.1 $\mu\text{g P ml}^{-1}$) and SS10.6 (118.7 $\mu\text{g P ml}^{-1}$). Significant negative correlations were observed between the amount of P released and the medium pH. The amount of soluble P and the medium pH fluctuated with different patterns between each isolate.

Pendahuluan

Kekurangan unsur hara fosfor (P) merupakan salah satu faktor pembatas utama bagi pertumbuhan dan produksi tanaman. Tanaman membutuhkan P sebesar 0,3% sampai 0,5% dari bobot keringnya untuk pertumbuhan optimal. Namun demikian, kadar P tersedia di dalam tanah pada umumnya rendah dan sebagian besar berada dalam bentuk yang tidak tersedia bagi tanaman (Maschner, 1995). Pemberian pupuk P (SP-36, TSP, SSP, dan lain-lain) dikenal secara luas sebagai salah satu cara untuk memenuhi kebutuhan P tanaman. Di Indonesia, kebutuhan pupuk kimia termasuk pupuk P setiap tahun meningkat rata-rata sebesar 4,6% (Rachman dan Sudaryanto 2010).

Pembuatan pupuk P kimia mudah larut dilakukan dengan cara mengkonversi batuan fosfat alami seperti apatit [$(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F},\text{Cl},\text{OH}))$] yang memiliki kelarutan P rendah menjadi pupuk mudah larut (Khan *et al.* 2009;

Mendes *et al.* 2015). Kelarutan P batuan fosfat tersebut ditingkatkan melalui proses kimia. Proses tersebut memerlukan biaya tinggi, boros energi serta memerlukan bahan kimia seperti asam sulfat dan asam fosfat dalam jumlah besar (Rochayati *et al.* 2009). Selain itu, pemupukan tanaman dengan menggunakan pupuk kimia berlebih dapat menyebabkan dampak negatif terhadap lingkungan (Husnain *et al.* 2014).

Mikroorganisme adalah bagian yang tidak terpisahkan dari siklus P di dalam tanah dan berperan penting dalam menyediakan P bagi tanaman (Rhicardson dan Simpson 2011). Mikroba pelarut fosfat (MPF) dikenal sebagai salah satu alternatif untuk pemupukan P karena kemampuannya dalam melepaskan P dari sumber P sukar larut menjadi mudah larut melalui kemampuannya mensintesis dan mensekresikan asam organik seperti asam malat, oksalat, glukonat, dan lain sebagainya (Vassilev *et al.* 2001; Khan *et al.* 2007; Yadav *et al.* 2012; Walpola dan Yoon 2012; Sharma *et al.* 2013; Mendes *et al.* 2015; Klaic *et al.* 2017). Asam-asam organik yang dihasilkan dapat mengkelat

*Corresponding author: anggi.nico@batan.go.id

senyawa kompleks yang mengikat P (kation-kation seperti Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , dan Al^{3+}), sehingga terjadi pelarutan fosfat menjadi bentuk yang tersedia dapat diserap oleh tanaman (Subba-Rao 1982).

Dari seluruh jenis mikroba pelarut fosfat yang telah dilaporkan, golongan fungi mempunyai kemampuan yang lebih tinggi dalam menghasilkan asam organik sehingga kemampuannya melarutkan P sukar larut lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri (Goenadi dan Saraswati 1993; Pradhan dan Sukla 2005; Klačić *et al.* 2017).

Penggunaan MPF dapat dilakukan melalui dua cara aplikasi. Cara pertama adalah aplikasi langsung ke dalam tanah bersamaan dengan pemberian sumber P sukar larut seperti fosfat alam (Jain *et al.* 2010). Cara kedua adalah melalui metode *in vitro* untuk menghasilkan pupuk P kelarutan tinggi dari fosfat alam (Vassilev *et al.* 2014). Kelebihan metode *in vitro* adalah lebih terkontrolnya proses pelarutan dibandingkan aplikasi langsung. Di Indonesia penelitian metode *in vitro* ini telah dilakukan sekitar tahun 1990-an (Goenadi *et al.* 2000). Sedangkan MPF metode langsung telah dikembangkan dan dikomersialisasikan oleh Badan Litbang Pertanian sejak tahun 1997, dengan nama produk Pupuk Mikroba Pelarut Fosfat (PMPF). Penggunaan PMPF pada tanaman kedelai di lahan kering masam dapat menekan kebutuhan pupuk P sampai 60% (Saraswati 2015). Namun hingga saat ini pemanfaatannya belum meluas dan upaya untuk menghasilkan pupuk P mudah larut selain melalui proses kimia masih terus dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan lima isolat fungi pelarut fosfat (FPF) dalam melarutkan P dari tiga jenis fosfat alam (fosfat alam asal Mesir, Yordania, dan Maroko) secara *in vitro*. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk melihat dinamika P terlarut dan pH media selama pengujian.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pemupukan dan Nutrisi Tanaman, Bidang Pertanian, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional (PAIR-BATAN), Lebak Bulus, Jakarta. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan Agustus 2017.

Inokulum Fungi Pelarut Fosfat

Isolat yang digunakan pada percobaan ini adalah tiga isolat FPF (FPF4, FPF5, SS10.6) koleksi Laboratorium

Bioteknologi Tanah - Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan - Fakultas Pertanian IPB, dan dua isolat FPF (JK1, JK2) koleksi Laboratorium Tanah dan Nutrisi Tanaman Bidang Pertanian PAIR-BATAN. Isolat-isolat tersebut diperbanyak dengan cara menumbuhkannya pada media *Potatoes Dextrose Agar* (PDA) selama tujuh hari. Suspensi spora diambil dengan cara menggenangi kultur pada media PDA menggunakan akuades steril dan spora dipanen menggunakan spatula. Kerapatan spora dalam suspensi diukur secara langsung menggunakan hemasitometer. Selanjutnya suspensi tersebut *ditepatkan* hingga seluruh isolat memiliki kerapatan spora yang sama (10^9 spora ml^{-1}) menggunakan akuades steril.

Fosfat Alam

Fosfat alam yang digunakan adalah fosfat alam asal Mesir (26,44 % P_2O_5 total, 0,05 % P_2O_5 larut air dan 11,62 % P_2O_5 larut asam sitrat 2%), fosfat alam asal Yordania (28,43 % P_2O_5 total, 0,04 % P_2O_5 larut air dan 11,66 % P_2O_5 larut asam sitrat 2%), dan fosfat alam asal Maroko (27,70 % P_2O_5 total, 0,04 % P_2O_5 larut air dan 12,71 % P_2O_5 larut asam sitrat 2%). Sebelum digunakan fosfat alam dihaluskan dan disaring menggunakan saringan berukuran 270 mesh.

Uji Pelarutan Fosfat Alam oleh Fungi Pelarut Fosfat

Sebanyak 1 ml suspensi spora FPF dengan kerapatan yang sama (10^9 spora ml^{-1}) diinokulasikan pada 25 ml media Pikovskaya cair di dalam botol kaca. Trikalsium fosfat [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] sebagai sumber P pada media Pikovskaya diganti dengan fosfat alam dengan jumlah massa P yang setara, yaitu 1 g P per liter media. Komposisi media Pikovskaya cair (Subba Rao 1982) dalam 1 liter media adalah: glukosa (10 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g), KCl (0,2 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,5 g), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0025 g), $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0025 g), *yeast extract* (0,5 g) dan fosfat alam (1 g P).

Seluruh kultur diinkubasi selama 21 hari pada suhu ruang. Perlakuan tanpa inokulasi dijadikan sebagai perlakuan kontrol dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Parameter yang diamati adalah jumlah P terlarut dalam media dan pH media selama proses inkubasi. Waktu pengamatan adalah pada 7, 14, dan 21 hari setelah inkubasi (HSI). Saat pengamatan sebanyak 5 ml sampel kultur disaring menggunakan kertas saring secara aseptis hingga didapatkan supernatan berwarna bening. Nilai pH supernatan diukur menggunakan pH meter gelas elektroda (Mettler Toledo). Selanjutnya kandungan P dalam larutan tersebut diukur dengan

spektrofotometer (Agilent-Cary Seri UV Vis) menggunakan metode pewarnaan biru molibdat (Murphy dan Riley 1965).

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan metode sidik ragam dan apabila perlakuan berpengaruh nyata terhadap respon, maka dilanjutkan dengan uji beda nilai tengah *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Analisis kekuatan hubungan antar parameter dilakukan menggunakan analisis korelasi Pearson. *Software* yang digunakan untuk uji statistik adalah Microsoft Excel dan SPSS 16.0.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Pelarutan Fosfat Alam Mesir

Kemampuan FPF dalam melarutkan fosfat alam ditunjukkan dengan nilai P terlarut dalam media. Semakin tinggi P terlarut menunjukkan semakin tinggi kemampuan FPF dalam melarutkan fosfat alam. Nilai P terlarut dari fosfat alam Mesir dan pH media akibat inokulasi FPF ditunjukkan pada Tabel 1.

Isolat FPF yang diuji secara signifikan meningkatkan kelarutan fosfat alam Mesir, baik pada 7, 14 maupun 21 hari setelah inokulasi (HSI). Fosfat terlarut tertinggi dicapai pada 14 HSI oleh isolat JK2, yaitu sebesar 211,8 µg P ml⁻¹ atau dapat melarutkan fosfat alam dalam media sebesar 21,2%. Peningkatan kelarutan fosfat alam oleh isolat tersebut adalah sebesar 212 kali dibandingkan dengan kontrol.

Secara umum, hasil penelitian menunjukkan bahwa P terlarut meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi sampai 14 HSI. Selanjutnya pada 21 HSI, terjadi kecenderungan penurunan P terlarut dibandingkan pada 14 HSI. Kondisi ini tidak terjadi pada perlakuan inokulasi isolat FPF4, P terlarut cenderung mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu inkubasi hingga mencapai puncaknya saat 21 HSI. Sedangkan P terlarut pada perlakuan kontrol cenderung tidak mengalami perubahan yang signifikan.

Inokulasi FPF secara signifikan menyebabkan nilai pH media yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol pada seluruh waktu inkubasi yang diamati. Nilai pH akibat inokulasi FPF selama inkubasi berfluktuasi dan berbeda-beda antara isolat satu dengan lainnya. Nilai pH terendah dicapai oleh isolat JK2 pada saat 14 HSI, yaitu sebesar 3,39. Nilai pH tersebut menyebabkan P terlarut tertinggi dibanding perlakuan lainnya.

Pelarutan Fosfat Alam Yordania

Inokulasi FPF secara signifikan meningkatkan kelarutan fosfat alam Yordania dan menyebabkan pH media lebih rendah dibanding kontrol (Tabel 2). Dinamika pelarutan fosfat alam Yordania memiliki pola yang cenderung serupa dengan pelarutan fosfat alam Mesir. Nilai P terlarut terus meningkat sampai 14 HSI dan sedikit menurun pada 21 HSI. Kecuali pada perlakuan inokulasi isolat SS10.6 yang mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu inkubasi. Sedangkan pada perlakuan kontrol, P terlarut cenderung tidak berubah. Hanya terjadi sedikit peningkatan pada 21 HSI.

Tabel 1. P terlarut dari fosfat alam Mesir dan nilai pH media akibat inokulasi fungi pelarut fosfat

Table 1. P solubilized from the Egyptian rock phosphate and the pH value of media due to the inoculation of phosphate solubilizing fungi

Perlakuan	P terlarut (µg ml ⁻¹)			pH		
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	7 HSI	14 HSI	21 HSI
Kontrol	1,2 a	1,0 a	0,8 a	7,60 c	7,29 e	7,16 c
JK1	110,0 c	139,2 b	105,2 c	4,00 a	4,87 c	4,70 a
JK2	42,1 b	211,8 c	102,4 c	3,79 a	3,39 a	4,59 a
FPF4	3,5 a	3,1 a	40,3 b	5,54 b	6,04 d	5,27 b
FPF5	49,8 b	210,4 c	114,6 c	3,84 a	3,83 b	4,52 a
SS10.6	51,0 b	192,1 bc	134,1 c	4,16 a	3,65 ab	4,73 a

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Tabel 2. P terlarut dari fosfat alam Yordania dan nilai pH media akibat inokulasi fungi pelarut fosfat

Table 2. P solubilized from the Jordanian rock phosphate and the pH value of media due to the inoculation of phosphate solubilizing fungi

Perlakuan	P terlarut ($\mu\text{g ml}^{-1}$)			pH		
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	7 HSI	14 HSI	21 HSI
Kontrol	0,9 a	0,7 a	13,8 a	6,97 c	6,74 b	6,45 c
JK1	54,7 d	325,1 d	285,9 d	2,85 a	3,95 a	4,11 a
JK2	8,3 b	199,5 b	147,3 c	3,72 ab	3,73 a	4,48 ab
FPF4	5,2 ab	253,1 c	191,3 c	4,94 b	3,95 a	4,48 ab
FPF5	30,3 c	230,7 bc	88,6 b	3,26 a	4,27 a	4,77 b
SS10.6	0,9 a	33,3 a	194,4 c	4,66 b	3,72 a	4,29 ab

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Fosfat terlarut tertinggi dicapai oleh isolat JK1 pada 14 HSI ($325,1 \mu\text{g P ml}^{-1}$). Isolat tersebut dapat melarutkan 23,5% P dari fosfat alam Yordania di dalam medium atau meningkatkan kelarutan sebesar 446 kali dibandingkan kontrol. Nilai P terlarut tersebut merupakan nilai tertinggi dibandingkan fosfat alam lainnya.

Nilai pH media akibat inokulasi FPF mengalami fluktuasi selama waktu inkubasi. Nilai pH akibat inokulasi FPF secara signifikan lebih rendah dibanding kontrol terjadi pada seluruh waktu pengamatan. Nilai pH terendah dicapai oleh isolat JK1 pada saat 7 HSI (2,85).

Pelarutan Fosfat Alam Maroko

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi FPF juga menyebabkan peningkatan kelarutan P dari fosfat alam Maroko (Tabel 3). Peningkatan kelarutan fosfat alam maksimum dicapai pada 21 HSI oleh isolat SS10.6 ($118,7 \mu\text{g P ml}^{-1}$). Isolat tersebut dapat melarutkan 11,9% fosfat alam Maroko dalam media atau dapat meningkatkan

kelarutan sebesar 91 kali dibanding kontrol. Sedangkan pada perlakuan kontrol, nilai P terlarut cenderung tidak terjadi perubahan.

Pola pelarutan fosfat alam Maroko sedikit berbeda dibanding dua jenis fosfat alam lainnya. Sebagian besar isolat mencapai P terlarut maksimum pada saat 21 HSI, dimana nilai P terlarut terus meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi. Inokulasi isolat JK2 dan FPF4 saat 7 dan 14 HSI tidak menyebabkan peningkatan P terlarut dalam media. Nilai P terlarut cenderung sedikit lebih rendah dibandingkan kontrol. Selanjutnya, nilai P terlarut cenderung meningkat pada saat 21 HSI.

Isolat FPF menyebabkan nilai pH media yang lebih rendah dibandingkan kontrol, baik pada 7, 14 maupun 21 HSI. Nilai pH akibat inokulasi berfluktuasi sampai akhir masa inkubasi. Nilai pH terendah dicapai pada 7 HSI oleh isolat JK1 dan FPF5 yaitu masing-masing sebesar 3,64 dan 3,62.

Tabel 3. P terlarut dari fosfat alam Maroko dan pH media akibat inokulasi fungi pelarut fosfat

Table 3. P solubilized from the Moroccan rock phosphate and the pH value of media due to the inoculation of phosphate solubilizing fungi

Perlakuan	P terlarut ($\mu\text{g ml}^{-1}$)			pH		
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	7 HSI	14 HSI	21 HSI
Kontrol	1,9 a	0,9 a	1,3 a	7,47 c	7,13 c	6,16 c
JK1	18,3 c	46,8 b	40,6 b	3,64 a	5,15 b	4,84 b
JK2	0,9 a	0,8 a	42,2 b	7,23 c	5,86 b	3,72 a
FPF4	0,1 a	0,5 a	17,1 a	6,86 c	4,10 a	4,86 b
FPF5	9,1 b	95,0 c	105,6 c	3,62 a	4,21 a	4,04 ab
SS10.6	6,0 b	117,4 d	118,7 c	4,63 b	4,03 a	4,26 ab

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Tabel 4. Korelasi antara P terlarut dari fosfat alam Mesir, Yordania, dan Maroko dengan pH media pada 7, 14, dan 21 HSI

Table 4. Correlation between P solubilized from Egyptian, Jordanian and Moroccan rock phosphate and pH media value at 7, 14, and 21 days after inoculation.

Peubah	Koefisien korelasi		
	7 HSI	14 HSI	21 HSI
P terlarut dari fosfat alam Mesir dengan pH	- 0,68**	- 0,92**	- 0,84**
P terlarut dari fosfat alam Yordania dengan pH	- 0,71**	- 0,57*	- 0,83**
P terlarut dari fosfat alam Maroko dengan pH	- 0,85**	- 0,62**	- 0,57*

Keterangan: (**) korelasi signifikan pada taraf 1%, (*) korelasi signifikan pada taraf 5%

Korelasi Antara P Terlarut dengan pH

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif yang signifikan antara nilai P terlarut dengan nilai pH media (Tabel 4). Artinya, semakin rendah pH media yang dicapai maka nilai P terlarut semakin tinggi. Korelasi negatif signifikan tersebut terjadi pada seluruh fosfat alam yang diuji dan pada seluruh waktu inkubasi yang diamati. Nilai koefisien korelasi (*r*) pada penelitian ini berkisar antara -0,57 sampai -0,92. Korelasi tertinggi terjadi pada pelarutan fosfat alam mesir saat 14 HSI.

Pembahasan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan FPF dalam melarutkan tiga jenis fosfat alam dan mengetahui dinamika pelarutan P serta pH media selama proses inkubasi. Kemampuan mikroba dalam meningkatkan kelarutan fosfat alam ditunjukkan dengan nilai P terlarut yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol. Besarnya kemampuan isolat FPF dalam melarutkan fosfat alam berbeda-beda. Nilai P terlarut maksimum pada penelitian ini adalah 211,8 µg P ml⁻¹ (fosfat alam Mesir), 325,1 µg P ml⁻¹ (fosfat alam Yordania) dan 118,7 µg P ml⁻¹ (fosfat alam Maroko). Perbedaan kemampuan ini diduga terjadi karena perbedaan kuantitas dan sifat asam organik yang dihasilkan oleh FPF. Kemampuan mikroba dalam melarutkan P sukar larut pada umumnya dihubungkan dengan kemampuan mikroba dalam mensintesis dan mensekresikan asam-asam organik seperti oksalat, sitrat, laktat, malonat, glukonat, acetat, tartrat, dan lain sebagainya (Whitelaw 2000; Khan *et al.* 2007; Walpola dan Yoon 2012; Sharma *et al.* 2013). Hasil sekresi akan berfungsi sebagai katalisator, atau sebagai pengkhelet dan memungkinkan asam-asam organik ini

membentuk senyawa kompleks dengan kation-kation Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, dan Al³⁺ sehingga terjadi pelarutan fosfat menjadi bentuk tersedia yang dapat diserap oleh tanaman (Subba-Rao 1982). Mahidi *et al.* (2011), dan Walpola dan Yoon (2012) menyatakan bahwa efisiensi pelarutan P oleh mikroba bergantung pada sifat dan kekuatan asam organik yang dihasilkan. Asam-asam organik mempunyai kemampuan untuk melarutkan fosfat dari yang terkuat sampai yang terlemah menurut urutan sebagai berikut: sitrat > oksalat > malat > tartrat > laktat > glukonat > asetat > format (Khan *et al.* 2009).

Kelarutan maksimum setiap jenis fosfat alam dicapai oleh isolat yang berbeda. Kelarutan maksimum fosfat alam Mesir dicapai oleh isolat JK2, fosfat alam Yordania oleh isolat JK1 dan fosfat alam Maroko oleh isolat SS10.6. Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan kesesuaian antara asam organik yang dihasilkan oleh FPF dengan karakteristik fosfat alam yang digunakan. Reddy *et al.* (2002) melaporkan bahwa fungi yang berbeda lebih menyukai fosfat alam yang berbeda untuk pertumbuhannya. Hal tersebut juga kemungkinan menyebabkan pola pelarutan P yang berbeda selama proses inkubasi. Isolat FPF menyebabkan pelarutan maksimum fosfat alam Mesir dan Yordania saat 14 HSI dan mengalami sedikit penurunan pada 21 HSI, kecuali isolat FPF4 (fosfat alam Mesir) dan isolat SS10.6 (fosfat alam Yordania). Sedangkan pelarutan maksimum fosfat alam Maroko dicapai saat 21 HSI, kecuali isolat JK1. Selain itu, perbedaan ini kemungkinan juga dipengaruhi oleh perbedaan fase pertumbuhan dari masing-masing isolat. Son *et al.* (2006) melaporkan bahwa pertumbuhan *Pantoea agglomerans* mencapai pelarutan P dari Ca₃(PO₄)₂ tertinggi setelah mencapai fase pertumbuhan stasioner, yaitu setelah 6 HSI. Setelah itu pelarutan P menurun seiring bertambahnya waktu inkubasi. Hasil

serupa juga dilaporkan oleh Mendes *et al.* (2013) yang meneliti tentang pelarutan fosfat alam asal Araxa Brasil oleh *Aspergillus niger*.

Beberapa isolat (FPF4 dan SS10.6) menyebabkan konsentrasi P terlarut yang lebih rendah dibanding kontrol. Hal ini terjadi pada pelarutan fosfat alam Maroko di awal masa inkubasi (7 HSI). Hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah populasi isolat tersebut masih rendah, sehingga jumlah P yang dilepaskan masih lebih kecil dibanding jumlah P yang dikonsumsi isolat tersebut untuk pertumbuhannya. Nilai P terlarut yang lebih rendah mengindikasikan bahwa nilai P yang dilarutkan oleh FPF lebih kecil dari nilai P yang dikonsumsi untuk pertumbuhannya Whitelaw *et al.* (1999). Namun, setelah itu nilai P meningkat seiring meningkatnya waktu inkubasi yang mengindikasikan bahwa jumlah P yang dilepaskan telah lebih besar dari pada yang dikonsumsi oleh FPF.

Inokulasi FPF secara signifikan menyebabkan nilai pH media yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut terjadi pada ketiga fosfat alam yang digunakan. Nilai pH terendah dicapai oleh isolat JK1 pada pelarutan fosfat alam Yordania (2,85). Penurunan pH dapat menunjukkan adanya pelepasan asam organik oleh mikroba pelarut fosfat (Sharma *et al.* 2013). Asam organik tersebut merupakan hasil dari metabolisme mikroba yang pada umumnya merupakan hasil dari respirasi oksidatif atau fermentasi karbon organik seperti glukosa (Sharma *et al.* 2013). Penelitian-penelitian sebelumnya melaporkan bahwa penurunan pH yang diakibatkan sekresi asam-asam organik merupakan salah satu mekanisme utama pelarutan P oleh mikroba pelarut fosfat (Whitelaw 2000; Chen *et al.* 2006).

Penelitian ini menunjukkan bahwa pH berpengaruh signifikan terhadap pelarutan P oleh FPF. Terdapat korelasi negatif signifikan antara nilai P terlarut dengan nilai pH media. Korelasi negatif artinya adalah semakin rendah pH maka semakin tinggi nilai P terlarut yang dicapai. Korelasi tersebut terjadi pada semua jenis fosfat alam yang diuji dan pada semua waktu inkubasi yang diamati. Namun penurunan pH tersebut bukan menjadi satu-satunya faktor yang mempengaruhi peningkatan kelarutan fosfat alam. Seperti yang terjadi pada pelarutan fosfat alam Yordania oleh isolat JK1, kelarutan fosfat alam maupun pH media meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi dari 7 sampai 21 HST.

Korelasi kuat antara penurunan pH dan pelarutan P sukar larut juga dilaporkan oleh Bojinova *et al.* (2008),

Kang *et al.* (2008) dan Nath *et al.* (2017). Sintesis dan pelepasan asam organik oleh mikroba pelarut fosfat ke dalam media membuat sel dan lingkungan sekitarnya menjadi lebih masam. Selanjutnya menyebabkan pelepasan ion P dari mineral atau batuan melalui substitusi proton antara H^+ dengan kation yang mengikat P (Sharma *et al.* 2013). Sedangkan penelitian lain melaporkan bahwa tidak terdapat korelasi antara pH media dengan besarnya pelarutan fosfat alam oleh FPF (Reddy *et al.* 2002; Flatian 2017). Penurunan pH media bukanlah menjadi satu-satunya mekanisme mikroba-mikroba tertentu dalam melarutkan P sukar larut seperti fosfat alam (Sharma *et al.* 2013). Xiao *et al.* (2008) melaporkan bahwa inokulasi *Penicillium expansum* dan *Mucor ramosissimus* meningkatkan pH media sekaligus meningkatkan kelarutan P. Pelarutan P maksimum dicapai oleh *Penicillium expansum* dan *Mucor ramosissimus* masing-masing saat pH media sebesar 7,0 dan 7,5.

Kesimpulan

Fungi pelarut fosfat secara signifikan meningkatkan kelarutan fosfat alam Mesir, Yordania, dan Maroko. Nilai P terlarut maksimum dicapai oleh isolat JK1, yaitu sebesar $325 \mu\text{g P ml}^{-1}$ atau meningkatkan kelarutan fosfat alam Yordania sebesar 446 kali dibanding kontrol. Besarnya kelarutan fosfat alam sangat dipengaruhi oleh nilai pH media yang dicapai oleh fungi pelarut fosfat. Fungi pelarut fosfat memiliki kemampuan berbeda-beda dalam melarutkan tiga jenis fosfat alam. Besarnya nilai P terlarut dan pH media selama pengujian berfluktuasi dengan pola fluktuasi yang berbeda antara masing-masing isolat.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami tujukan kepada Prof. Ir. Iswandi Anas, MSc (IPB) yang telah memberikan koleksi isolat fungi pelarut fosfat, dan kepada Desi Emiliawati (Universitas Pamulang) yang telah mendukung penelitian dan tersusunnya penulisan paper ini.

Daftar Pustaka

- Bojinova D, Velkova R, Ivanova R. 2008. Solubilization of Marocco phosphorite by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*. 99 (15):7348-7353.
- Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Microbiology Research*. 163: 234-242.

- Flatian AN. 2017. Kontribusi P dari aktivitas mikroba pelarut fosfat, fosfat alam dan SP-36 berdasarkan teknik isotop ^{32}P . Tesis Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Goenadi DH, Saraswati R. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat fungi pelarut fosfat. *Menara Perkebunan*. 61(3):61-66.
- Goenadi DH, Siswanto, Sugiarto Y. 2000. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. *Soil Science Society of America Journal*. 64:927-932.
- Husnain, Nursyamsi D, Purnomo J. 2014. Penggunaan bahan agrokimia dan dampaknya terhadap pertanian ramah lingkungan. h. 7-46. Dalam: Husnain *et al.* (eds.). *Buku Pengelolaan Lahan pada Berbagai Ekosistem Mendukung Pertanian Ramah Lingkungan*. Balai Penelitian Tanah BLSLDP-Kementerian Pertanian, Bogor.
- Jain R, Saxena J, Sharma V. 2010. The evaluation of free and encapsulated *Aspergillus awamori* for phosphate solubilization in fermentation and soil-plant system. *Applied Soil Ecology*. 46:90-94.
- Kang SC, Pandey P, Khillon R, Maheshwari DK. 2008. Process of rock phosphate solubilization by *Aspergillus sp.* PS104 in soil amended medium. *Journal of Environmental Biology*. 29: 743-746.
- Khan AA, Jilani G, Akhtar MS, Naqvi SMS, Rasheed M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 1 (1):48-58.
- Khan MS, Zaidi A, Wani PA. 2007. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. h. 551-570. Dalam: Lichtfouse *et al.* (eds.). *Buku Sustainable Agriculture*. Springer Science Business Media, New York.
- Klaic R, Plotegher R, Ribeiro C, Zaingirolami TC, Farinas CS. 2017. A novel combined mechanical-biological approach to improve rock phosphate solubilization. *International Journal of Mineral Processing*. 161:50-58.
- Mahidi SS, Hassan GI, Hussain A, Faisal-ur-Rasool. 2011. Phosphorus availability issue-its fixation and role of phosphate solubilizing bacteria in phosphate solubilization-case study. *Agricultural Science Research Journal*. 2 :174-179.
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd Ed. Academic Pr, London.
- Mendes GO, da Silva NMRM, Anastácio TC, Vassilev NB, Ribeiro Jr. JI, da Silva IR, Costa MD. 2015. Optimization of *Aspergillus niger* rock phosphate solubilization in solid-state fermentation and use of the resulting product as a P fertilizer. *Microbial Biotechnology*. 8:930-939.
- Mendes GO, Vassilev NB, Bonduki VHA, da Silva IR, Ribeiro Jr. JI, Costa MD. 2013. Inhibition of *Aspergillus niger* phosphate solubilization by fluoride released from rock phosphate. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (16):4906-4913.
- Murphy J, Riley P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 27:31-36.
- Nath D, Maurya BR, Meena VS. 2017. Documentation of five potassium- and phosphorus-solubilizing bacteria for their K and P-solubilization ability from various minerals. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 10: 174-181.
- Pradhan N, Shukla LB. 2005. Solubilization of inorganic phosphate by fungi isolated from agriculture soil. *African Journal of Biotechnology*. 5:850-854.
- Rachman B, Sudaryanto T. 2010. Impact and future perspectives of fertilizer policy in Indonesia. *Agricultural Policy Analysis*. 8 (3): 193-205.
- Reddy MS, Kumar S, Babita K, Reddy MS. 2002. Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*. 84:187-189.
- Richardson AE, Simpson RJ. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. *Plant Physiology*. 156:989-996.
- Rochayati S, Sutriadi MT, Kasno A. 2009. Pemanfaatan fosfat alam untuk lahan kering masam. h. 46-61. Dalam: Sastramiharja *et al.* (eds.). *Buku Fosfat Alam: Pemanfaatan Fosfat Alam yang Digunakan Langsung Sebagai Pupuk Sumber P*. Balai Penelitian Tanah Departemen Pertanian Indonesia, Bogor.
- Saraswati R. 2015. Inovasi teknologi dan optimalisasi sumber daya lahan pertanian. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*. 7(2):73-82.
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA. 2013. Phosphate solubilizing microbe: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*. 2:587.
- Son HJ, Park GT, Cha MS, Heo MS. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresource Technology*. 97:204-210.
- Subba-Rao NS. 1982. *Biofertilizer in Agriculture*. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi.
- Vassilev N, Mendes G, Costa M, Vassileva M. 2014. Biotechnological tools for enhancing microbial solubilization of insoluble inorganic phosphates. *Geomicrobiology Journal*. 31: 751-763.
- Vassilev N, Vassileva M, Fenice M, Federici F. 2001. Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic (rock) phosphate and P plant acquisition. *Bioresource Technology*. 79:263-271.
- Walpola BC, Yoon M. 2012. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. *African Journal of Microbiology Research*. 6(37):6600-6605.
- Whitelaw MA. 2000. Growth promotion of plant inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Advances in Agronomy*. 69:99-147.
- Whitelaw MA, Hardena TJ, Helyar KR. 1999. Phosphate solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*. 31:655- 665.

Xiao CQ, Chi RA, Huang XH, Zhang WX, Qiu GZ, Wang DZ. 2008. Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines. *Ecological Engineering*. 33:187–193.

Yadav H, Gothwal RK, Nigam VK, Sinha-Roy S, Ghosh P. 2013. 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*. 2:217–225.