

Potensi Bakteri Endofit Akar Ubi Jalar Varietas Papua Patippi dalam Melarutkan Fosfat secara *In Vitro*

Potency of Endophytic Bacteria Isolated from Sweet Potato's Roots Var. of Papua Patippi to Dissolve Phosphate In Vitro

Ana Mariatul Khiftiyah*, Yuliani, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

* e-mail: ana.khiftiyah@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan delapan isolat bakteri endofit yang sebelumnya telah berhasil diisolasi dari akar tanaman ubi jalar varietas Papua Patippi dalam melarutkan fosfat. Penelitian dilakukan selama bulan Februari sampai Juni 2016 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fisiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya. Kualitas kemampuan delapan isolat bakteri endofit dalam melarutkan fosfat diketahui dengan cara menghitung *solubilizing index* (SI) masing-masing isolat bakteri setelah ditumbuhkan pada media Pikovskaya agar yang mengandung trikalsium fosfat sebagai sumber fosfat. Konsentrasi fosfat terlarut yang dapat dilarutkan oleh bakteri diukur dengan metode spektrofotometri pada hari ke-0 dan hari ke-7 waktu inkubasi bakteri pada media Pikovskaya cair. Isolat bakteri endofit yang dapat melarutkan fosfat adalah isolat A2, A3, B1, B3, C1, dan C2 dengan kualitas kemampuan pelarutan fosfat yang terbesar ditunjukkan oleh isolat C2. Konsentrasi fosfat pada hari terakhir inkubasi yang berhasil dilarutkan oleh masing-masing isolat bakteri adalah antara 2,739 ppm sampai 3,962 ppm. Isolat bakteri yang dapat melarutkan fosfat dengan konsentrasi tertinggi adalah isolat bakteri A3.

Kata kunci: bakteri endofit; pelarutan fosfat; *solubilizing index* (SI)

ABSTRACT

This research aimed to test the ability of eight isolates of endophytic bacteria that had been isolated from the roots of sweet potato var. Papua Patippi in dissolving phosphate. This research was conducted during February to June 2016 in the Microbiology and Physiology Laboratory, Biology Department, Mathematics and Natural Science Faculty, State University of Surabaya. The quality capability of eight isolates of endophytic bacteria in dissolving phosphate determined by calculating the phosphate solubilizing index (SI) after the bacteria had been grown on solid Pikovskaya containing tricalcium phosphate as a source of phosphate for five days. The concentration of dissolved phosphate that could be dissolved by bacteria measured by spectrophotometric method on 0th and 7th day of incubation in broth Pikovskaya. Endophytic bacteria isolates that had ability to dissolve phosphate were isolate A2, A3, B1, B3, C1, and C2. Based on SI, C2 was the isolate that had the best quality to dissolve phosphate. The concentration of phosphate that had been dissolved by each isolates was between 2,739 ppm and 3,962 ppm. The highest concentration of dissolved phosphate was dissolved by A3.

Key words: endophytic bacteria; solubilizing phosphate; solubilizing index (SI)

PENDAHULUAN

Fosfor merupakan salah satu kebutuhan tanaman yang harus dipenuhi supaya pertumbuhan dan perkembangan tanaman tidak terganggu. Fosfor merupakan makronutrien kedua setelah nitrogen yang paling banyak dibutuhkan oleh tanaman (Sashidhar and Podile, 2010). Meskipun dibutuhkan oleh tanaman dalam jumlah yang banyak, namun sebagian besar fosfor tanah (95-99%) berada dalam bentuk tidak larut sehingga tanaman tidak mampu menyerap unsur tersebut (Ranjan *et al.*, 2013). Tanaman membutuhkan ~30 $\mu\text{mol/L}$ fosfor, sementara fosfor yang tersedia di tanah hanya sekitar 1

$\mu\text{mol/L}$ (Sashidhar and Podile, 2010). Tumbuhan menyerap fosfor dalam bentuk anion monovalen fosfat H_2PO_4^- dan bivalen fosfat HPO_4^{2-} (Salisbury and Ross, 1985). Rendahnya fosfor dalam bentuk yang terlarut disebabkan karena fosfor mudah terikat dengan Al, Fe, dan Ca (Widawati *et al.*, 2008). Fosfat cenderung berikatan dengan Al dan Fe membentuk Al-fosfat dan Fe-fosfat pada tanah dengan pH asam ($\text{pH} < 5$), sedangkan pada tanah dengan pH basa ($\text{pH} > 7$) fosfat cenderung berikatan dengan Ca membentuk Ca-fosfat (Widawati *et al.*, 2008).

Penanganan yang dilakukan untuk mengatasi keterbatasan fosfor dalam bentuk

terlarut di tanah salah satunya adalah dengan menggunakan bakteri pelarut fosfat (BPF). Beberapa bakteri yang diketahui dapat melarutkan fosfat merupakan bakteri endofit (Duangpaeng *et al.*, 2013). Bakteri endofit adalah bakteri yang berada dalam jaringan tumbuhan paling sedikit selama satu siklus hidupnya tanpa menyebabkan penyakit pada tumbuhan inang (Azevedo *et al.*, 2000; Mili[□]t[□] and Buzait[□], 2011). Bakteri endofit mampu memacu pertumbuhan tanaman, misalnya meningkatkan perkecambahan, meningkatkan biomassa, meningkatkan luas permukaan daun, meningkatkan jumlah klorofil, meningkatkan jumlah nitrogen yang dapat diserap oleh tanaman, pemanjangan akar dan pucuk tanaman, dan toleransi terhadap tekanan lingkungan (Marella, 2014). Bakteri endofit juga diketahui mampu menghasilkan fitohormon, misalnya hormon IAA (Anggara *et al.*, 2014), melarutkan fosfat (Duangpaeng *et al.*, 2013), dan sebagai agen biokontrol untuk tanaman inang (Resti *et al.*, 2013).

Anggara *et al.* (2014) telah melakukan isolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang dapat memproduksi IAA yang terdapat pada akar ubi jalar varietas Papua Patippi. Isolasi dan karakterisasi tersebut menghasilkan delapan isolat bakteri, yaitu isolat A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1 dan C2. Kemampuan dari kedelapan isolat bakteri tersebut dalam melarutkan fosfat belum diketahui. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan dari kedelapan isolat bakteri hasil isolasi dan karakterisasi Anggara *et al.* (2014) dalam melarutkan fosfat serta untuk mengetahui konsentrasi fosfat terlarut yang dapat dilarutkan oleh bakteri endofit akar ubi jalar varietas Papua Patippi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Februari-Juni 2016 di Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini merupakan isolat bakteri endofit akar ubi jalar varietas Papua Patippi hasil isolasi dan karakterisasi Anggara *et al.* (2014). Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Pikovskaya, media *nutrient agar*, dan larutan KH_2PO_4 (larutan standar fosfat). Media Pikovskaya dibuat berdasarkan komposisi Rao (1982) dalam Atekan *et al.* (2014).

Uji kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat secara kualitatif dimulai terlebih dahulu dengan meremajakan kedelapan isolat bakteri endofit dalam media *nutrient agar* (NA), kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan suhu

30°C. Setelah 48 jam, masing masing isolat bakteri endofit ditumbuhkan pada media Pikovskaya agar dalam cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama lima hari (Aung *et al.*, 2011). Pada hari kelima dilakukan pengukuran terhadap diameter koloni dan diameter *halozone* di sekitar isolat bakteri menggunakan penggaris. *Halozone* yang terbentuk di sekitar isolat bakteri menunjukkan bahwa terdapat aktivitas pelarutan fosfat (Atekan *et al.*, 2014). Berdasarkan *halozone* yang terbentuk maka dapat dihitung indeks pelarutan atau *solubilizing index* (SI). Nilai SI dapat dihitung dengan rumus berikut (Duangpaeng *et al.*, 2013):

$$SI = \frac{\text{Diameter koloni} + \text{diameter } halozone}{\text{diameter koloni}}$$

Pada rumus penghitungan *solubilizing index* tersebut, yang dimaksud diameter koloni adalah diameter koloni isolat bakteri yang dapat membentuk *halozone* di sekitar koloni bakteri tersebut, sedangkan diameter *halozone* merupakan lebar *halozone* ditambah dengan diameter koloni bakteri (Ulfiyati dan Zulaika, 2015). Bakteri yang dapat membentuk *halozone* ketika ditumbuhkan pada media Pikovskaya agar akan digunakan untuk uji kuantitatif untuk mengetahui konsentrasi fosfat yang dapat dilarutkan oleh bakteri endofit.

Isolat bakteri endofit yang dapat membentuk *halozone* di sekitar koloni bakteri selanjutnya ditumbuhkan dalam media Pikovskaya cair yang mengandung 5 g/L $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Sebanyak 1 ml isolat bakteri endofit pelarut fosfat dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml yang ditentukan dengan metode Mc Farland diinokulasikan ke dalam 100 ml Pikovskaya cair steril dalam wadah erlenmeyer 250 ml. Kultur bakteri yang mengandung 10^8 CFU/ml bakteri kemudian diinkubasi dalam *shaker incubator* selama tujuh hari dengan suhu 37°C. Pada hari ke-0 dan hari ke-7 sebanyak 1,5 ml sampel diambil untuk disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 1 ml supernatan digunakan untuk diukur konsentrasi fosfat terlarutnya dengan metode spektrofotometri menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 830 nm dengan reagen berupa larutan *sodium molybdate* dan *hydrazine sulphate* (Aung *et al.*, 2011). Media Pikovskaya steril (tanpa bakteri) disediakan sebagai kontrol.

Data yang diperoleh pada penelitian ini berupa nilai SI dan konsentrasi fosfat terlarut pada kultur bakteri. Data yang diperoleh selanjutnya akan dianalisis secara deskriptif. Kemampuan setiap isolat bakteri dalam melarutkan fosfat secara kualitatif dan kuantitatif akan dibandingkan.

HASIL

Isolat bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat dapat diketahui secara kualitatif dengan terbentuknya *halozone* di sekeliling isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media Pikovskaya agar. Pada penelitian ini isolat bakteri A1 dan B2 tidak menunjukkan *halozone* di sekitar koloni isolat

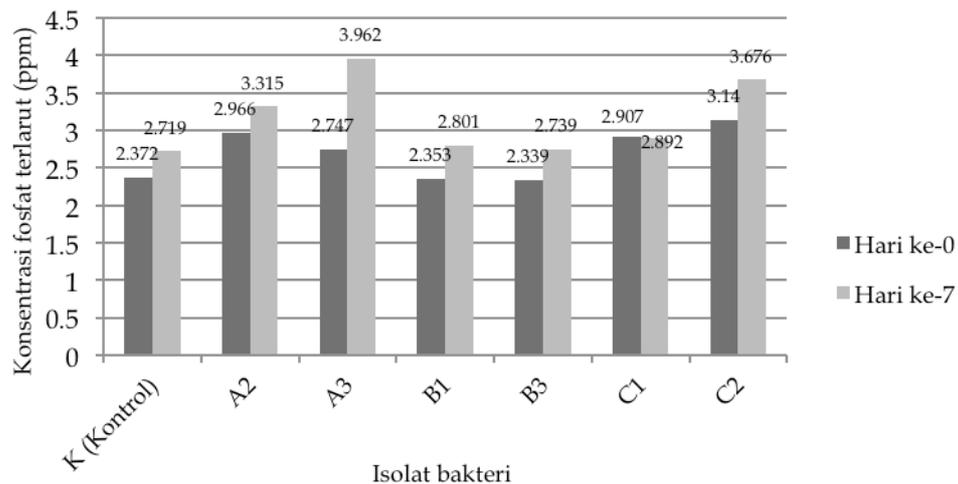
setelah inkubasi lima hari, sedangkan enam isolat lainnya yaitu isolat A2, A3, B1, B3, C1, dan C2 dapat membentuk *halozone* dengan luas yang bervariasi. Berdasarkan *halozone* yang terbentuk selanjutnya dapat dihitung indeks pelarutan fosfat atau SI dari masing-masing isolat bakteri. Nilai SI masing-masing isolat bakteri ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai *solubilizing index* (SI) isolat bakteri endofit akar ubi jalar varietas Papua Patippi.

No	Isolat	SI
1	A2	2,19
2	A3	2,40
3	B1	2,03
4	B3	2,10
5	C1	2,16
6	C2	2,44

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa isolat yang dapat melarutkan fosfat dengan nilai SI tertinggi yaitu isolat C2 sebesar 2,44 sedangkan isolat yang memiliki nilai SI terendah adalah isolat B1 sebesar 2,03. Isolat bakteri yang dapat melarutkan fosfat pada media Pikovskaya agar diukur kemampuan isolat bakteri tersebut dalam

melarutkan fosfat pada media Pikovskaya cair untuk mengetahui konsentrasi fosfat yang dapat dilarutkan oleh bakteri selama masa inkubasi tujuh hari. Hasil pengukuran konsentrasi fosfat terlarut pada awal dan akhir masa inkubasi ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Konsentrasi fosfat terlarut pada hari ke-0 dan ke-7 pada setiap isolat

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa konsentrasi fosfat terlarut pada masing-masing isolat bakteri bervariasi. Isolat A2, A3, B1, B3, dan C2 mengalami peningkatan konsentrasi fosfat terlarut yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan peningkatan fosfat terlarut pada kontrol, sedangkan untuk isolat C1 konsentrasi fosfat terlarut mengalami penurunan pada akhir masa inkubasi jika dibandingkan dengan konsentrasi fosfat terlarut pada awal masa inkubasi. Isolat bakteri yang mampu melarutkan fosfat tertinggi

adalah isolat A3 sebanyak 3,962 ppm, sedangkan isolat bakteri yang dapat melarutkan fosfat dengan konsentrasi terendah selama waktu inkubasi adalah isolat B3 sebesar 2,739 ppm.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini enam dari delapan isolat bakteri endofit yaitu isolat A2, A3, B1, B3, C1, dan C2 yang diuji dapat membentuk *halozone* di sekitar koloni bakteri, sehingga keenam isolat bakteri tersebut merupakan bakteri pelarut fosfat.

Terbentuknya *halozone* di sekitar isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media yang mengandung sumber fosfat menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat melarutkan fosfat (Rodríguez and Fraga, 1999). Pada penelitian ini nilai SI isolat C2>A3>A2>C1>B3>B1. Luas *halozone* menunjukkan kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat secara kualitatif, yaitu menunjukkan besar atau kecilnya kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat (Rahayu *et al.*, 2014). Berdasarkan nilai SI isolat bakteri yang memiliki kemampuan terbesar dalam melarutkan fosfat adalah isolat C2.

Isolat bakteri endofit yang dapat melarutkan fosfat kemudian ditumbuhkan pada media Pikovskaya cair untuk mengetahui konsentrasi fosfat yang dapat dilarutkan oleh bakteri tersebut. Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa konsentrasi fosfat terlarut pada hari terakhir inkubasi isolat A3>C2>A2>C1>B1>B3. Hasil tersebut tidak berkorelasi dengan uji kualitatif yang ditunjukkan dengan nilai SI isolat C2>A3>A2>C1>B3>B1. Penelitian Duangpaeng *et al.* (2013) menunjukkan bahwa isolat BRR3I01 yang memiliki nilai SI 3,9 dapat melarutkan fosfat dengan konsentrasi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan isolat CHR2I02 yang memiliki nilai SI 2,7. Isolat lainnya, yaitu isolat CHR4I07 yang memiliki nilai SI 3,2 dapat melarutkan fosfat dengan konsentrasi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan isolat CHR2I02 pada akhir masa inkubasi (Duangpaeng *et al.*, 2013).

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa isolat A2, A3, B1, B3, dan C2 mengalami peningkatan konsentrasi fosfat terlarut pada hari ke-7 inkubasi jika dibandingkan dengan hari ke-0 inkubasi, peningkatan konsentrasi fosfat terlarut juga sedikit lebih tinggi daripada kontrol. Berbeda dengan kelima isolat bakteri endofit pelarut fosfat sebelumnya, isolat C1 menunjukkan konsentrasi fosfat terlarut pada hari ke-7 inkubasi lebih rendah daripada konsentrasi fosfat terlarut pada awal inkubasi. Pada kultur isolat C1 konsentrasi fosfat terlarut berkurang sebanyak 0,015 ppm. Berkurangnya konsentrasi fosfat terlarut pada kultur isolat C1 dapat terjadi karena fosfat terlarut yang dilarutkan oleh bakteri digunakan sendiri oleh bakteri tersebut. Fosfor yang dihasilkan dari proses pelarutan maupun fiksasi fosfat oleh mikroorganisme akan digunakan oleh mikroorganisme tersebut (Saiyad *et al.*, 2015). Todar (2000) menyatakan bahwa fosfor termasuk elemen utama yang dibutuhkan dalam pertumbuhan bakteri. Fosfor tersebut penting sebagai penyusunan asam nukleat dan fosfolipid (Todar, 2000).

Pelarutan Ca-fosfat menjadi fosfat terlarut disebabkan karena adanya penurunan pH (Widawati *et al.*, 2008). Pada penelitian Suliasih dan Rahmat (2007) serta Widawati *et al.* (2008) yang menguji kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat pada media Pikovskaya cair, menunjukkan bahwa proses pelarutan fosfat diiringi dengan penurunan pH media.

Pada penelitian ini juga dilakukan uji pH kultur pada awal dan akhir masa inkubasi bakteri endofit pelarut fosfat dalam Pikovskaya cair sebagai data pendukung. Uji pH tersebut menunjukkan bahwa pada sebagian besar kultur isolat bakteri endofit kecuali kultur isolat C2 terjadi penurunan pH. Bakteri pelarut fosfat dapat memproduksi asam organik sehingga dapat menurunkan pH (Arcand and Schneider, 2006). Persamaan yang menunjukkan adanya reaksi substitusi proton melalui asam organik adalah (Goldstein, 1986 dalam Srividya *et al.*, 2009): $(Ca^{2+})_m (PO_4^{3-})_n + (HA) = (H^+) (PO_4^{3-}) + (Ca^{2+}) (A^-)$ Berdasarkan persamaan tersebut, HA merupakan asam organik yang dihasilkan oleh bakteri dengan jenis yang bervariasi dan jumlah proton yang berbeda (Goldstein, 1986 dalam Srividya *et al.*, 2009).

Berbagai jenis asam organik yang berperan dalam melarutkan fosfat telah banyak diketahui. Mahdi *et al.* (2011) menyatakan bahwa beberapa jenis asam organik yang ditemukan dalam pelarutan fosfat misalnya adalah asam fumarat, sitrat, 2-ketoglukonat, glukonat, laktat, gliksilat, dan ketobutirat. Selama pelarutan fosfat jenis asam organik yang paling sering ditemukan adalah asam glukonat dan asam 2-ketoglukonat (Krishnaraj and Dahale, 2014). Asam glukonat merupakan asam organik utama yang diproduksi oleh *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Rhizobium* spp., dan *Erwinia herbicola* (Krishnaraj and Dahale, 2014).

Pada kontrol terjadi peningkatan konsentrasi fosfat terlarut sebesar 0,347 ppm, lebih rendah daripada isolat A2, A3, B1, B3, dan C2. Adanya fosfor terlarut dengan konsentrasi yang lebih sedikit pada kontrol dibandingkan pada kultur isolat bakteri dapat terjadi karena proses sterilisasi dengan menggunakan autoklaf (Kenenen *et al.*, 2010). Sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu yang tinggi dapat memutuskan ikatan Ca-fosfat pada medium secara fisik, sehingga ion PO_4^{3-} yang sebelumnya terikat dengan Ca dapat terlepas dan menjadi bentuk fosfat terlarut (Raharjo *et al.*, 2007; Kenenen *et al.*, 2010).

Berbeda dengan isolat A2, A3, B1, B3, dan C1 yang mengalami penurunan pH pada hari terakhir inkubasi, pada isolat C2 tidak terjadi penurunan pH. Pada hari terakhir inkubasi, pH kultur isolat C2 meningkat menjadi 4,4 jika

dibandingkan dengan pH kultur pada hari ke-0 inkubasi yaitu sebesar 4,0. Meskipun pH kultur meningkat namun peningkatan konsentrasi fosfat terlarut pada kultur isolat C2 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol, isolat A2, B1, B3, dan C1. Penurunan pH pada media tidak selalu berhubungan dengan pelarutan fosfat (Nautiyal *et al.*, 2000). Penelitian Atekan *et al.* (2014) yang menguji kemampuan beberapa isolat bakteri dalam melarutkan fosfat menunjukkan bahwa dua dari delapan isolat bakteri pelarut fosfat yang diuji, yaitu isolat T-K2 dan T-K5 menunjukkan peningkatan konsentrasi fosfor terlarut pada akhir masa inkubasi, tetapi pH dari kultur kedua isolat tersebut juga mengalami peningkatan pada hari terakhir inkubasi.

Selain asam organik dan proton, faktor lain yang berperan penting dalam pelarutan trikalsium fosfat oleh mikroba adalah eksopolisakarida (EPS) (Yi *et al.*, 2008). Yi *et al.* (2008) menyatakan bahwa eksopolisakarida memiliki peran tidak langsung dalam pelarutan trikalsium fosfat. Pada penelitian Yi *et al.* (2008), isolat bakteri AzHy-510, memiliki pH kultur $4,69 \pm 0,05$, dapat melarutkan P sebesar $229,03 \pm 15,23$ ppm, konsentrasi P terlarut tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan isolat bakteri EnHy-402 yang mengandung konsentrasi P terlarut sebesar $111,73 \pm 8,07$ ppm dan memiliki pH kultur yang lebih rendah yaitu sebesar $4,51 \pm 0,02$. Isolat AzHy-510 diketahui dapat memproduksi EPS dengan konsentrasi 1,24 g/L sedangkan isolat EnHy-402 tidak memproduksi EPS.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit isolat A2, A3, B1, B3, C1, dan C2 dapat melarutkan fosfat. Di antara keenam isolat bakteri tersebut, isolat A3 merupakan isolat yang dapat melarutkan fosfat dengan konsentrasi tertinggi meskipun kemampuan dalam melarutkan fosfat secara kualitatif terbesar adalah isolat C2, sehingga aplikasi bakteri endofit yang telah diisolasi oleh Anggara *et al.*, (2014) dari akar ubi jalar varietas Papua Patippi yang dapat melarutkan fosfat dapat dilakukan pada daerah yang kekurangan fosfat.

SIMPULAN

Terdapat enam isolat dari delapan isolat bakteri endofit yang diisolasi dari akar ubi jalar varietas Papua Patippi yang mampu melarutkan fosfat (Trikalsium fosfat) yaitu isolat A2, A3, B1, B3, C1, dan C2. Bakteri yang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat dari yang terbesar adalah isolat C2, A3, A2, C1, B3, dan B1. Konsentrasi fosfat pada hari terakhir inkubasi isolat A2 adalah 3,315 ppm, A3 sebanyak 3,962

ppm, B1 sebanyak 2,801 ppm, B3 sebanyak 2,739 ppm, C1 sebanyak 2,892 ppm, dan C2 sebanyak 3,676 ppm. Isolat yang dapat melarutkan fosfat dengan konsentrasi tertinggi adalah isolat A3.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggara BS, Yuliani dan Lisdiana L, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* dari Akar Tanaman Ubi Jalar. *LenteraBio*. 3(3): 160-167.
- Arcand MM and Schneider KD, 2006. Plant- and Microbial-Based Mechanisms to Improve The Agronomic Effectiveness of Phosphate Rock: A Review. *Annals of The Brazilian Academy of Sciences*. 78(4): 791-807.
- Atekan, Nuraini Y, Handayanto E and Syekhfani, 2014. The Potential of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Sugarcane Wastes for Solubilizing Phosphate. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*. 1(4): 175-182.
- Aung TN, Nourmohammadi S, Sunitha EM and Myint M, 2011. Isolation of Endophytic Bacteria From Green Gram and Study on Their Plant Growth Promoting Activities. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2(3): 525-537.
- Azevedo JL, Maccheroni Jr W, Pereira JO and Araújo WL, 2000. Endophytic Microorganisms: A Review on Insect Control and Recent Advances on Tropical Plants. *Electronic Journal of Biotechnology*. 3(1): 40-65.
- Duangpaeng A, Phetcharat P, Chanthapho S and Okuda N, 2013. Screening of Endophyte Bacteria for Phosphate Solubilization from Organic Rice. *Proceeding- Science and Engineering*: 61-66.
- Keneni A, Assefa F and Prabu PC, 2010. Isolation of Phosphate Solubilizing Bacteria from The Rhizosphere of Faba Bean of Ethiopia and Their Abilities on Solubilizing Insoluble Phosphates. *J. Agr. Sci. Tech*. 12: 79-89.
- Krishnaraj PU and Dahale S, 2014. Mineral Phosphate Solubilization: Concepts and Prospects In Sustainable Agriculture. *Proc Indian Natn Sci Acad*. 80(2): 389-405.
- Mahdi SS, Hassan GI, Hussain A and Faisal-ur-Rasool, 2011. Phosphorus Availability Issue- Its Fixation and Role of Phosphate Solubilizing Bacteria in Phosphate Solubilization. *Research Journal of Agricultural Sciences*. 2(1): 174-179.
- Marella S, 2014. Bacterial Endophytes in Sustainable Crop Production: Applications, Recent Developments and Challenges Ahead. *International Journal of Life Sciences Research*. 2(2): 46-56.
- Mili[□]t[□] I and Buzait[□] O, 2011. IAA Production and Other Plant Growth Promoting Traits of Endophytic Bacteria from Apple Tree. *Biologija*. 57(2): 98-102.
- Nautiyal CS, Bhadauria S, Kumar P, Lal H, Mondal R and Verma D, 2000. Stress Induced Phosphate Solubilization In Bacteria Isolated From Alkaline Soils. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Microbiology Letters*. 182(2): 291-296.

- Raharjo B, Supriyadi A dan Agustina DK, 2007. Pelarutan Fosfat Anorganik oleh Kultur Campur Jamur Pelarut Fosfat Secara In vitro. *Jurnal Sains dan Matematika*. 15(2): 45-54.
- Rahayu F, Mastur dan Santoso B, 2014. Potensi beberapa Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Asal Lahan Tebu di Jawa Timur berdasarkan Aktivitas Enzim Fosfatase. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri*. 6(1): 23-31.
- Ranjan A, Mahalakshmi MR and Sridevi M, 2013. Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacterial Species from Different Crop Fields of Salem, Tamil Nadu, India. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. 3(1): 29-33.
- Resti Z, Habazar T, Putra DP dan Nasrun, 2013. Skrining dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Bawang Merah. *J. HPT Tropika*. 13(2): 167-178.
- Rodríguez H and Fraga R, 1999. Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Role In Plant Growth Promotion. *Biotechnology Advances*. 17: 319-339.
- Salisbury FB and Ross CW, 1985. *Plant Physiology. Third Edition*. California: Wadsworth Publishing Company.
- Saiyad SA, Jhala YK and Vyas RV, 2015. Comparative Efficiency of Five Potash and Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Key Enzymes Useful for Enhancing and Improvement of Soil Fertility. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 5(2): 1-6.
- Sashidhar B and Podile AR, 2010. Mineral Phosphate Solubilization By Rhizosphere Bacteria and Scope for Manipulation Of The Direct Oxidation Pathway Involving Glucose Dehydrogenase. *Journal of Applied Microbiology*. 109: 1-12.
- Srividya S, Soumya S and Pooja K, 2009. Influence of Environmental Factors and Salinity on Phosphate Solubilization by A Newly Isolated *Aspergillus niger* F7 from Agricultural Soil. *African Journal of Biotechnology*. 8(9): 1864-1870.
- Suliasih dan Rahmat, 2007. Aktivitas Fosfatase dan Pelarutan Kalsium Fosfat oleh beberapa Bakteri Pelarut Fosfat. *Biodiversitas*. 8(1): 23-26.
- Todar K, 2000. *Nutrition and Growth of Bacteria*. <http://lecturer.ukdw.ac.id/dhira/NutritionGrowth/introduction.html>. Diunduh tanggal 28 Juni 2016.
- Ulfiyati N dan Zulaika E, 2015. Isolat *Bacillus* Pelarut Fosfat dari Kalimas Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 4(2): 2337-3520.
- Widawati S, Nurkanto A dan Suidiana IM, 2008. Aktivitas Pelarutan Fosfat oleh Aktinomisetes yang diisolasi dari Waigeo, Kepulauan Raja Ampat, Papua Barat. *Biodiversitas*. 9(2): 87-90.
- Yi Y, Huang W and Ge Y, 2008. Exopolysaccharide: A Novel Important Factor In The Microbial Dissolution Of Tricalcium Phosphate. *World J Microbiol Biotechnol*. 24: 1059-1065.