

# Jurnal Biotek

p-ISSN: 2581-1827 (print), e-ISSN: 2354-9106 (online)  
 Website: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/biotek/index>

## KERAGAMAN MORFOLOGI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN DAN PELARUT FOSFAT DARI BERBAGAI LINGKUNGAN AGROEKOSISTEM DI KABUPATEN TAKALAR

Sangkala<sup>1\*</sup>, Ambri Bakhtiar<sup>2</sup>, Elkawakib Syam'un<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Politeknik Negeri Sambas, Indonesia

<sup>2</sup>Universitas Hasanuddin, Indonesia

\*Correspondence email: [kaka09bio@gmail.com](mailto:kaka09bio@gmail.com)

ARTICLE INFO	ABSTRAK
<p><b>Article History</b></p> <p>Received : 29-03-2021            Accepted : 07-06-2021            Published : 30-06-2021</p> <p><b>Keywords:</b>  <i>agroecosystem, bacteria, nitrogen fixing, phosphate solubilizing</i></p>	<p><i>Penelitian deskriptif ini bertujuan untuk mengetahui keragaman morfologi bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat dari berbagai lingkungan agroekosistem di Kabupaten Takalar. Penelitian dilaksanakan dari September 2018 sampai April 2019. Sampel tanah diperoleh dari lahan di Kecamatan Galesong Selatan, Kabupaten Takalar yaitu lahan kering, lahan sawah irigasi teknis dan lahan pertanaman cabai. Isolasi dan karakterisasi morfologi koloni di Laboratorium Bio-Sains Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, sedangkan karakterisasi morfologi sel di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Hasil penelitian menunjukkan terdapat keragaman karakteristik morfologi isolat bakteri penambat Nitrogen dan pelarut Fosfat pada lokasi penelitian. Isolat bakteri penambat Nitrogen pada lahan sawah irigasi teknis yaitu SIT02, PNSIT01 dan PNSIT02, lahan pertanaman cabai yaitu isolat PNTC01, PNTC02 dan PNSIT02. Bakteri pelarut Fosfat pada lahan sawah irigasi teknis yaitu SIT01, SIT03, SIT04 dan SIT05, lahan pertanaman cabai yaitu isolat TC01 dan TC02 dan lahan kering yaitu isolat TK01. Karakteristik isolat bakteri penambat Nitrogen berbentuk bulat sampai batang, Gram positif dan negatif, bentuk koloni bulat sampai tidak beraturan, elevasi cembung, permukaan mengkilap, margin rata sampai berombak, dan warna putih sampai kuning sedangkan bakteri pelarut Fosfat berbentuk batang, gram positif, bentuk koloni bulat, elevasi cembung sampai flat, permukaan mengkilap, margin rata sampai berombak dan warna putih.</i></p> <p><b>ABSTRACT:</b> <i>This descriptive study aims to determine the morphological diversity of Nitrogen-fixing bacteria and Phosphate solubilizing bacteria from various agro-ecosystem environments in Takalar Regency. The research was done from September 2018 to April 2019. Soil samples were taken from dried land, irrigated rice fields, and rice fields of the south Galesong District. Colony morphology was isolated and characterized in the Laboratory of Bio-Science, Faculty of Agriculture, Hasanuddin University, and</i></p>

---

*cell morphology was characterized in the Laboratory of Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Brawijaya. The results showed variations in the morphological characteristics of the bacteria. Nitrogen-fixing bacteria isolates in irrigated rice fields were SIT02, PNSIT01, and PNSIT02, while the chili fields were PNTC01, PNTC02, and PNSIT02. Phosphate solubilizing bacteria in irrigated rice fields were SIT01, SIT03, SIT04, and SIT05, the chili fields were TC01 and TC02 isolates, and the dry land was TK01. The characteristics of Nitrogen-fixing bacteria isolates are round to stem, Gram-positive and negative, round to irregular colony shape, convex elevation, glossy surface, flat to choppy margins, and white to yellow. Phosphate-solubilizing bacteria are rod-shaped, gram-positive bacteria with a spherical colony form, convex to flat elevation, glossy surface, flat to wavy edges, and white color.*

---

## **PENDAHULUAN**

Tanah mengandung kesatuan berbagai komponen hidup dan tak hidup didalamnya. Berbagai organisme termasuk mikroorganisme baik itu yang bermanfaat maupun yang merugikan bagi manusia hidup di dalamnya. Organisme-organisme tersebut memegang peranan penting dalam siklus ekologi secara alami di muka bumi. Masing-masing organisme tersebut memiliki keterkaitan dalam mempertahankan keberlanjutan kehidupan.

Mikroorganisme merupakan salah satu komponen biotik di dalam tanah yang keberadaannya ditemukan dalam jumlah yang sangat besar. Diperkirakan dalam 1 gram tanah dihuni oleh kurang lebih 1 milyar mikroorganisme yang terdiri dari golongan bakteri dan jamur.

Pemanfaatan mikroba tanah terutama bakteri penambat Nitrogen dan pelarut Fosfat sebagai penyedia hara bagi tanaman telah banyak dikaji untuk menggantikan pupuk anorganik yang terus meningkat. Beberapa genus bakteri jumlahnya melimpah di daerah rhizosfer antara lain *Pseudomonas*, *Azotobacter* dan *Bacillus* (Mukamoto dkk, 2015). Contohnya *Azotobacter* dapat ditemukan dengan kepadatan  $8.3 \times 10^5$  cfu per gram tanah (Prayudyaningsih, Nursyamsi. & Sari, 2015). Pemanfaatan bakteri untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman telah banyak dilakukan pada berbagai penelitian mikroorganisme tanah. Penelitian Nursanti (2017) memanfaatkan mikroba indigenous dapat menyediakan hara pada tanah secara alami yaitu *Azotobacter*, *Azospirillum* dan mikroba pelarut Fosfat yaitu *Pseudomonas*, *Aspergillus* dan *Mikoriza*. Penggunaan bakteri mampu mengurangi biaya pengeluaran pertanian sampai dengan 40%

dan meningkatkan produksi hingga 15% sampai 70% dan dapat mengurangi penggunaan pupuk kimia sampai 50% (Supriyo, Minarsih & Prayudi, 2014).

Marlina, Silviana & Gofar (2013) mengembangkan isolat *Azospirillum* sp. dan *Azotobacter* sp. hasil seleksi sebagai pupuk hayati. Penelitian lain melaporkan bahwa tanaman yang diinokulasikan bakteri penambat Nitrogen memperoleh pasokan Nitrogen yang dieksresikan oleh bakteri ke lingkungan sekitar daerah perakaran tanaman. *Azotobacter* dan *Azospirillum* merupakan bakteri penambat Nitrogen yang berperan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Wuriesylian, Gofar, Madjid, Widjajanti & Putu, 2013). Bakteri penambat Nitrogen efektif dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman sehingga mengurangi penggunaan pupuk (Latupapua & Suliasih, 2001). Hasil penelitian serupa yaitu bakteri penambat Nitrogen dan pelarut Fosfat yang digunakan dalam penelitian Suliasih & Widawati (2015) berdampak baik terhadap hasil tanaman yaitu dapat meningkatkan tinggi, berat kering dan indeks panen tanaman jagung, sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai pupuk hayati. Pupuk hayati adalah salah satu terobosan sistem produksi pertanian organik (Simanungkalit, 2000). Hal ini membuka prospek bakteri penambat Nitrogen dan pelarut Fosfat untuk dieksplorasi lebih jauh baik dari variasi spesies maupun sumbernya.

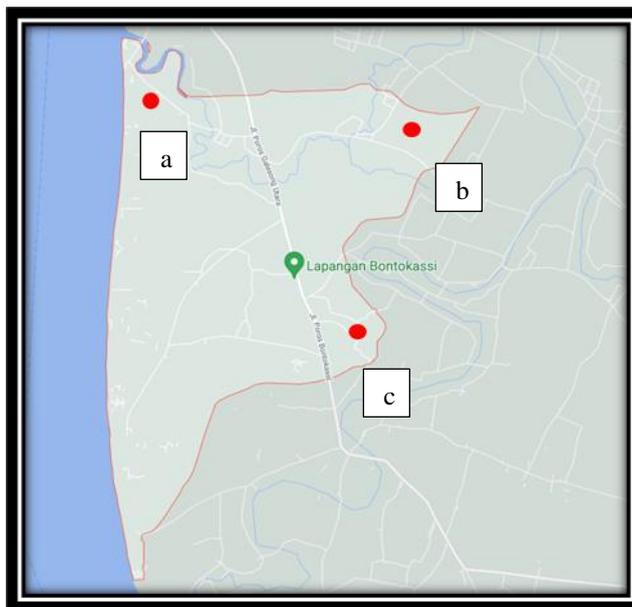
Keragaman kondisi lingkungan menyebabkan variasi spesies bakteri yang ditemukan di tiap lokasi juga berbeda. Hal ini diakibatkan karena kondisi lingkungan yang berbeda memberikan efek terhadap kondisi fisiologis bakteri sehingga mengharuskan bakteri tanah yang mendiami lokasi tersebut beradaptasi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, sehingga hanya mikroba yang memiliki kemampuan adaptasilah yang dapat bertahan di lingkungan itu. Inokulum bakteri, baik itu bakteri penambat Nitrogen maupun bakteri pelarut Fosfat, yang diberikan kedalam tanah sebagai pupuk hayati seringkali tidak memberikan dampak yang signifikan terhadap pertumbuhan tanaman karena lingkungan tanah yang tidak sesuai dengan lingkungan alamiah asal bakteri tersebut sehingga diperlukan suatu usaha untuk menemukan jenis-jenis bakteri yang sesuai dengan lingkungannya untuk tumbuh optimum.

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan dan mengetahui karakteristik morfologi bakteri penambat Nitrogen serta bakteri pelarut Fosfat yang diisolasi dari berbagai kondisi lingkungan agroekosistem berbeda. Penelitian ini merupakan langkah awal untuk menemukan isolat bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat

terbaik yang nantinya dapat dikembangkan sebagai agen pupuk hayati dimasa depan sehingga dapat mengurangi ketergantungan penggunaan pupuk kimia pada kegiatan budidaya tanaman.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2018 sampai April 2019. Kegiatan pengambilan sampel tanah dilakukan di Kecamatan Galesong Selatan, Kabupaten Takalar yaitu pada lahan kering di Desa Bontokanang pada koordinat  $5^{\circ}21'09.4''S$   $119^{\circ}21'50.2''E$ , lahan sawah irigasi teknis di Desa Tarowang pada koordinat  $5^{\circ}21'18.4''S$   $119^{\circ}23'44.5''E$  dan lahan pertanian cabai di Desa Tindang pada koordinat  $5^{\circ}22'53.4''S$   $119^{\circ}23'42.3''E$  sedangkan perbanyakan mikroba dilakukan di Laboratorium Bio-Sains Fakultas Pertanian Unhas. Identifikasi karakteristik morfologi isolat melalui uji mikroskopis pada Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.



Gambar 1. Peta titik lokasi pengambilan sampel  
(a) Lahan kering, (b) Sawah irigasi teknis dan (c) Pertanian

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel tanah yang mewakili berbagai kondisi agroekosistem yang berbeda yaitu pada lahan kering, lahan sawah irigasi teknis dan lahan pertanian cabai. Titik pengambilan cuplikan tanah tiap lokasi sebanyak 5 titik sampling. Pengambilan sampel tanah dilakukan secara komposit dengan penentuan titik sampling secara diagonal merujuk pada metode menurut Saraswati, Husen, & Simanungkalit (2007). Sampel tanah diambil dengan cara menggali sedalam 15 cm dari permukaan tanah sekitar perakaran secara perlahan-lahan menggunakan sendok tanah dan

mengambil sebanyak 100 gram sampel tanah pada tiap titik sampling yang selanjutnya sampel dari tiap titik sampling per lokasi digabung dan dihomogenkan untuk mendapatkan contoh sampel perwakilan tiap lokasi. Membersihkan sampel tanah dari benda asing dengan cara memisahkan akar dari bongkahan tanah besar dan benda lain seperti batu atau semacamnya kemudian memasukkan sampel ke dalam plastik dan selanjutnya diberi label.

Bakteri diisolasi menggunakan media selektif. Bakteri penambat Nitrogen diisolasi menggunakan media Ashby broth yang mengandung Agar, 15 g; mannitol, 15 g;  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.2 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.2 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.2 g;  $\text{MoO}_3$  (10%), 0.1 ml;  $\text{FeCl}_3$  10%, 0.1 ml (Atlas, 2009), sedangkan bakteri pelarut Fosfat diisolasi menggunakan media Pikovskaya broth yang mengandung 10 g glukosa; 5 g  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; 0,5 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,1 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; sedikit  $\text{MnSO}_4$ ; sedikit  $\text{FeSO}_4$  dan 0,5 g ekstrak ragi (Rao, 1982). Campuran tiap komposisi bahan dari kedua media dimasukan kedalam Erlenmeyer dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Proses isolasi awal bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat merujuk pada metode menurut Saraswati, Husen & Simanungkalit (2007). Sampel tanah ditimbang sebanyak 10 gram selanjutnya ditumbuhkan pada masing-masing 90 ml media bebas Nitrogen Ashby broth dan media Pikovskaya broth kemudian dihomogenkan dan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 30 °C. Setelah 2 minggu masa inkubasi, dilakukan perhitungan kepadatan populasi biakan dari kedua media selektif tersebut dengan cara memipet sebanyak 1 ml suspensi biakan dari media Ashby broth dan media Pikovskaya broth ke dalam 9 ml larutan NaCl fisiologis, kemudian kocok dan buat seri pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-9}$ , selanjutnya dihomogenkan dan diambil sebanyak 1 mL suspensi bakteri dari tiap seri pengenceran dan ditumbuhkan pada media Ashby Agar dan Pikovskaya Agar menggunakan metode sebar. Media agar selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 30 °C. Pengamatan dilakukan tiap hari untuk melihat pertumbuhan bakteri pada media. Perhitungan jumlah koloni dilakukan pada hari ke-5 inkubasi dengan menggunakan metode Total Plate Count. Indikator koloni bakteri penambat Nitrogen dapat dilihat dari koloni yang tumbuh pada permukaan media bebas Nitrogen Ashby Agar sedangkan indikator koloni bakteri pelarut Fosfat adalah munculnya zona bening di sekitar koloni yang tumbuh pada media Pikovskaya agar.

Koloni bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi karakteristik morfologinya dengan melihat karakteristik bentuk koloni, permukaan, elevasi, margin (pinggir koloni) dan warna koloni. Koloni yang tumbuh selanjutnya dimurnikan dengan metode gores pada permukaan media selektif Ashby Agar dan Pikovskaya Agar. Proses pemurnian berlangsung 4 kali bertujuan untuk mendapatkan koloni yang berasal dari satu sel bakteri. Pemilihan media Ashby dan Pikovskaya dalam penelitian ini karena kedua jenis media ini merupakan media selektif yang umum dan mudah digunakan pada kegiatan isolasi bakteri penambat Nitrogen dan pelarut Fosfat. Bakteri penambat Nitrogen diisolasi menggunakan media selektif tanpa kandungan Nitrogen (Pambudi, Niroko & Sari, 2016) sedangkan bakteri pelarut Fosfat menggunakan media selektif Pikovskaya. Isolasi dan identifikasi karakteristik morfologi koloni dilakukan pada laboratorium Bio-Sains Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.

Analisis lebih lanjut terhadap isolat yang diperoleh dilakukan dengan mengidentifikasi karakteristik morfologi sel melalui reaksi pengecatan Gram pada Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman Universitas Brawijaya. Proses pengecatan dimulai dengan mengambil 1 ose suspensi bakteri dan meratakannya di atas gelas objek kemudian difiksasi di atas api spiritus. Meneteskan larutan Crystal Violet (gram A) sebanyak 1 tetes. Membiarkannya selama 1 menit lalu mencuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Meneteskan larutan Lugol Iodium (gram B). Membiarkannya selama 1 menit. Mencuci dengan air mengalir. Mengeringkannya dengan kertas isap secara hati-hati. Meneteskan larutan Alkohol 96 % (gram C). Membiarkannya selama 30 detik. Mencucinya dengan air mengalir. Membiarkannya mengering. Selanjutnya meneteskan larutan Safranin (gram D) sebanyak 1 tetes. Membiarkannya selama 45 detik. Mencucinya dengan air mengalir. Membiarkannya mengering (Fajrin, Erdiansyah, & Damanhuri, 2017). Melakukan pengamatan di bawah mikroskop pada perbesaran 1000 kali. Pembentukan warna ungu atau biru menunjukkan gram positif sedangkan pembentukan warna merah muda menunjukkan gram negatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Data perhitungan kepadatan sel bakteri penambat Nitrogen dan pelarut Fosfat (tabel 1) dengan menggunakan metode Total Plate Count (TPC) pada media selektif Ashby dan Pikovskaya menunjukkan kepadatan populasi kedua jenis bakteri pada tiap lokasi sampling. Kepadatan yang tinggi populasi bakteri penambat Nitrogen pada lahan pertanaman cabai dan sawah irigasi teknis yaitu  $10^7$  CFU/g sampel tanah sedangkan kepadatan yang tinggi bakteri pelarut Fosfat pada sampel lahan sawah irigasi teknis dan pertanaman cabai yaitu  $10^8$  CFU/g sampel tanah. Pada sampel tanah lahan kering tidak diperoleh isolat bakteri penambat Nitrogen.

Tabel 1. Kepadatan Sel Isolat Bakteri Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat yang Diperoleh dari Lahan dengan Kondisi Agroekosistem yang Berbeda

Lokasi sampling	Kepadatan Sel (CFU/g)	
	Media Ashby	Media Pikovskaya
Lahan kering	0	$2,0 \times 10^5$
Lahan sawah irigasi teknis	$2,8 \times 10^7$	$6,0 \times 10^8$
Lahan pertanaman cabai	$4,4 \times 10^7$	$5,5 \times 10^8$

Tingkat kepadatan sel bakteri pada tabel 1 menunjukkan kepadatan bakteri penambat Nitrogen tertinggi diperoleh pada lahan pertanaman cabai pada sampel kedalaman 15 cm yaitu  $4,4 \times 10^7$  CFU/ gram sampel tanah. Tingginya populasi bakteri penambat Nitrogen pada lahan pertanaman cabai dibandingkan dengan lokasi sampling lainnya karena lahan pertanaman cabai senantiasa berada pada kondisi yang aerob sehingga mendukung pertumbuhan bakteri penambat Nitrogen yang umumnya bersifat aerob. Sementara untuk populasi bakteri pelarut Fosfat tertinggi diperoleh pada sampel tanah sawah irigasi teknis yaitu  $6,0 \times 10^8$   $4,4 \times 10^7$  CFU/ gram sampel tanah. Tingginya populasi bakteri pada lahan irigasi teknis disinyalir karena tingginya kandungan Fosfat pada lahan. Hal ini diduga karena lahan sawah senantiasa mendapat asupan pupuk sepanjang musim pada saat kegiatan budidaya yang mengakibatkan penumpukan residu Fosfat yang tidak diabsorpsi oleh perakaran tanaman sehingga mendukung pertumbuhan bakteri pelarut Fosfat.

Penelitian ini juga menunjukkan terdapat interaksi bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat pada lahan sawah irigasi teknis dan pada lahan pertanaman cabai. Interaksi tersebut dapat dilihat dari keberadaan keduanya pada lahan sawah irigasi teknis dan lahan pertanaman cabai. Puspitawati, Sugianta & Anas (2013) mengemukakan bahwa bakteri pelarut Fosfat dapat hidup sinergis dengan bakteri jenis lain di dalam tanah. Hal

ini diduga karena kondisi kedua lahan tersebut mendukung untuk pertumbuhan kedua jenis bakteri terutama dalam hal ketersediaan bahan organik yang tinggi sehingga kompetisi sangat minim. Oleh karena itu, kedua jenis bakteri dapat hidup secara sinergis. Berbeda halnya dengan lahan kering yang tidak ditemukan bakteri penambat Nitrogen karena kondisi lahan kering yang ekstrim akibat suhu tanah yang tinggi sehingga menyebabkan bakteri penambat Nitrogen sukar tumbuh pada lokasi tersebut.

Kepadatan populasi bakteri yang tinggi juga dipengaruhi oleh faktor tingkat keasaman tanah yang mendukung untuk pertumbuhan spesies yang hidup didalamnya. Hal ini dapat dilihat dari kondisi pH lokasi sampling yaitu pH 6 yang sesuai untuk pertumbuhan berbagai jenis spesies bakteri. Selain itu, lokasi sampling yang merupakan lahan budidaya tanaman yaitu padi dan cabai dapat menyediakan sumber makanan bagi bakteri yang ada di dalamnya karena lokasi tersebut disinyalir memiliki cukup bahan organik yang berasal dari limbah tanaman hasil panen. Hasil pengukuran pH tiap lokasi sampling disajikan pada tabel 2 dibawah ini.

**Tabel 2. Data Pengukuran pH pada Lokasi Sampling**

<b>Lokasi Sampling</b>	<b>pH</b>
Lahan kering	6
Lahan sawah irigasi teknis	6
Lahan pertanaman cabai	6

Isolasi tahap awal bakteri pada sampel tanah berhasil diperoleh 13 isolat yaitu 1 isolat diisolasi dari tanah kering, 5 isolat dari rhizosfer cabai dan 7 isolat dari tanah sawah irigasi teknis. Data hasil pengamatan morfologi ke-13 isolat bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat menunjukkan karakteristik morfologi koloni sebagian isolat pada tiap lokasi sampling yang bervariasi. Hasil pengamatan disajikan pada tabel 3 menunjukkan karakteristik morfologi koloni bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat yang telah diisolasi pada penelitian ini.

Tabel 3. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat yang Diperoleh dari Lahan dengan Kondisi Agroekosistem yang Berbeda

Asal Sampel	Kode isolat	Morfologi koloni				
		Bentuk	Elevasi	Permukaan	Margin	Warna
<b>Bakteri Penambat Nitrogen</b>						
Sawah irigasi teknis	PN SIT 01	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Sawah irigasi teknis	PN SIT 02	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Sawah irigasi teknis	SIT 02	Tidak beraturan	Cembung	Mengkilap	Berombak	Putih
Pertanaman cabai	PN TC 01	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Pertanaman cabai	PN TC 02	Tidak beraturan	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Pertanaman cabai	PN TC 03	Tidak beraturan	Cembung	Mengkilap	Rata	Kuning
<b>Bakteri Pelarut Fosfat</b>						
Sawah irigasi teknis	SIT 01	Bulat	Flat	Mengkilap	Berombak	Putih
Sawah irigasi teknis	SIT 03	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Sawah irigasi teknis	SIT 04	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Sawah irigasi teknis	SIT 05	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Pertanaman cabai	TC 01	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Pertanaman cabai	TC 02	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih
Lahan kering	TK 01	Bulat	Cembung	Mengkilap	Rata	Putih

Pengamatan selanjutnya adalah mengidentifikasi karakteristik morfologi sel bakteri yang telah diperoleh pada tahap pertama secara mikroskopik. Pengamatan secara mikroskopik terhadap isolat-isolat yang diperoleh menggunakan teknik pengecatan Gram. Adapun hasil pengamatan secara mikroskopik bakteri penambat Nitrogen disajikan pada tabel 4.

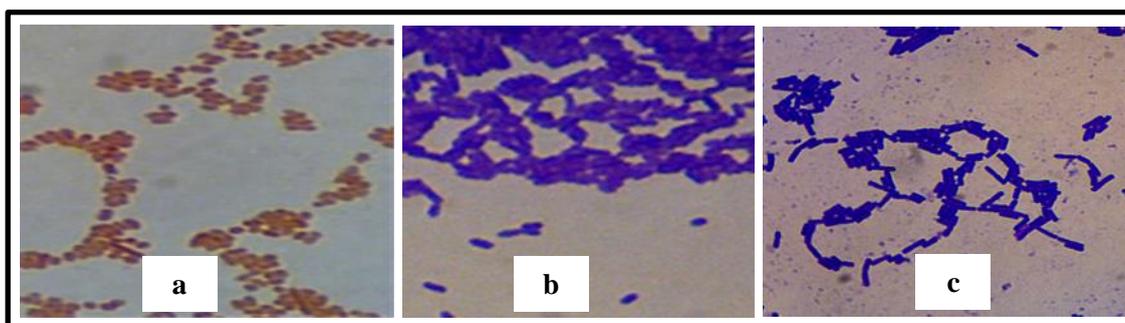
Tabel 4. Karakteristik Morfologi Sel Bakteri Penambat Nitrogen yang Diperoleh dari Lahan dengan Kondisi Agroekosistem yang Berbeda

Asal sampel	Kode	Karakteristik Morfologi Sel	
		Bentuk Sel	Type Gram
Sawah irigasi teknis	PN SIT 01	Batang	Positif
Sawah irigasi teknis	PN SIT 02	Batang	Positif
Sawah irigasi teknis	SIT 02	Bulat	Negatif
Lahan pertanaman cabai	PN TC 01	Batang	Positif
Lahan pertanaman cabai	PN TC 02	Batang	Positif
Lahan pertanaman cabai	PN TC 03	Bulat	Positif

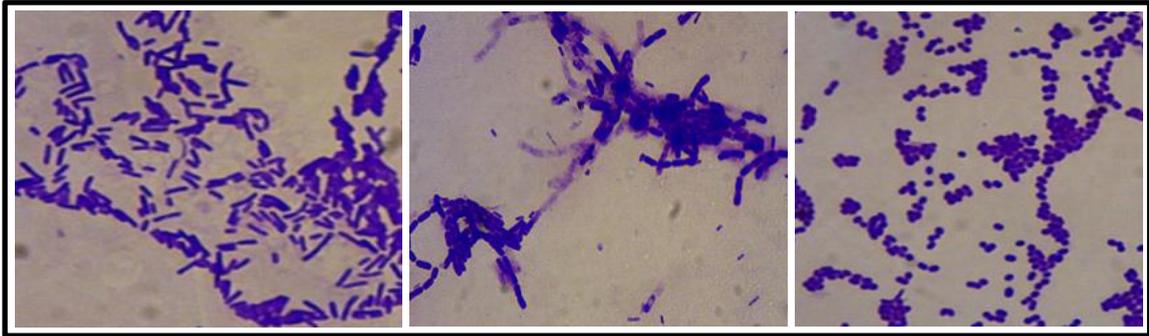
Data hasil pengamatan yang terdapat pada tabel 3 dan tabel 4 menunjukkan terdapat keragaman karakteristik morfologi beberapa isolat bakteri penambat Nitrogen

yang diperoleh dari lahan dengan kondisi yang berbeda yaitu lahan basah yang diwakili oleh sawah irigasi teknis serta lahan pertanaman cabai. Hasil identifikasi mikroskopik melalui pengecatan gram menunjukkan pada lahan sawah irigasi teknis diperoleh 3 isolat bakteri penambat Nitrogen yang terdiri dari 1 isolat yang memiliki bentuk sel bulat dengan tipe gram negatif (SIT02) dan 2 isolat bentuk batang dengan tipe gram positif (PNSIT01 dan PNSIT02). Isolat PNSIT01 dan PNSIT02 diduga merupakan jenis bakteri penambat nitrogen yang sama. Oleh karena itu, diperlukan pengujian fisiologis lebih lanjut untuk mengetahui karakter fisiologis isolat tersebut.

Tiga isolat yang diperoleh dari lahan pertanaman cabai terdiri dari 2 isolat bentuk batang dengan tipe gram positif (PNTC01 dan PNTC02) dan 1 isolat bentuk sel bulat dengan tipe gram positif (PNSIT02). Isolat PNTC01 dan PNTC02 diduga merupakan isolat yang berbeda karena memiliki karakter bentuk koloni yang berbeda yaitu isolat PNTC01 berbentuk bulat sementara isolat PNTC02 berbentuk tidak beraturan. Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan terdapat keragaman isolat bakteri penambat Nitrogen yang diperoleh dari kedua lokasi sampling. Hal ini mengindikasikan bahwa tiap lokasi dihuni oleh lebih dari satu jenis bakteri penambat Nitrogen di dalamnya. Karakteristik morfologi sel bakteri penambat Nitrogen hasil pewarnaan Gram yang diisolasi dari kedua lahan disajikan pada gambar 2 dan 3 dibawah ini.



Gambar 2. Bentuk Sel Bakteri Penambat Nitrogen Pada Lahan Sawah Irigasi Teknis  
(a) SIT02, (b) PNSIT01 dan (c) PNSIT02



Gambar 3. Bentuk Sel Bakteri Penambat Nitrogen Pada Lahan Pertanian Cabai  
(a) PNTC01, (b) PNTC02 dan (c) PNTC03

Pada lahan irigasi teknis ditemukan bakteri penambat Nitrogen berbentuk bulat dengan tipe gram negatif yaitu isolat (SIT02) yang diduga merupakan jenis *Rhizobium* sp. Morfologi koloni bakteri *Rhizobium* sp. dicirikan bentuk biasanya bulat, memiliki tepian yang halus dan warna koloni biasanya putih susu (Somasegaran & Hoben, 1994; Irfan, 2014; Fajrin, Erdiansyah & Damanhuri, 2017). Jenis *Rhizobium* sp. diduga bersimbiosis dengan perakaran gulma yang banyak dijumpai pada lahan. Umumnya bakteri ini ditemukan bersimbiosis membentuk bintil pada tanaman kacang-kacangan. *Rhizobium* sp. juga kemungkinan berasal dari lahan pertanian kedelai yang berada di sekitar lokasi pengambilan sampel yang terbawa oleh aliran air irigasi.

Umumnya jenis bakteri penambat Nitrogen yang telah banyak diketahui adalah *Azotobacter* yang berperan penting dalam meningkatkan ketersediaan Nitrogen di dalam tanah. *Azotobacter* digolongkan ke dalam kelompok bakteri Gram negatif yang memiliki bentuk oval, bulat dan beberapa spesies ada yang berbentuk batang. Ciri khas *Azotobacter* yaitu memiliki alat gerak berupa flagel, bersifat aerob, tumbuh optimal pada suhu 20-30°C pada pH 7,0-7,5. Karakteristik morfologi koloni *Azotobacter* yaitu berbentuk convex, smooth, putih, dan moist (Pambudi dkk, 2016). *Azotobacter* merupakan bakteri penambat N dengan karakteristik hidup secara aerob (Roni & Lindawati, 2018). Rao (1982) mengemukakan bahwa kemampuan fiksasi N *Azotobacter* berkisar antara 2-15 mg N/g. Selain *Azotobacter*, dikenal jenis *Azospirillum* sp. melakukan penambatan N bebas dan sebagian Nitrogen hasil penambatan akan dilepaskan ke lingkungannya sehingga dapat dimanfaatkan oleh tanaman (Garner, Pearce & Mirchel., 1995). Bakteri penambat Nitrogen yang mampu mengeksresikan amonium memiliki sel yang berbentuk bulat dan tergolong gram negative (Hartono & Jumadi, 2014). Kedua jenis bakteri penambat Nitrogen ini hidup bebas pada daerah rhizosfer tanaman dan menyediakan Nitrogen yang berfungsi sebagai sumber hara tanaman. *Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp. telah

banyak diisolasi dari berbagai rhizosfer karena keberadaan kedua jenis bakteri penambat Nitrogen ini sangat banyak dan umum ditemui. Selanjutnya, hasil pengamatan secara mikroskopik bakteri pelarut Fosfat dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Keragaman Bakteri Pelarut Fosfat yang Diperoleh dari Lahan dengan Kondisi Agroekosistem yang Berbeda

Asal sampel	Kode	Karakteristik Morfologi Sel	
		Bentuk Sel	Tipe Gram
Sawah irigasi teknis	SIT 01	Batang	Negatif
Sawah irigasi teknis	SIT 03	Batang	Negatif
Sawah irigasi teknis	SIT 04	Batang	Negatif
Sawah irigasi teknis	SIT 05	Batang	Negatif
Lahan pertanaman cabai	TC 01	Batang	Negatif
Lahan pertanaman cabai	TC 02	Batang	Negatif
Lahan kering	TK 01	Batang	Negatif

Jenis bakteri pelarut Fosfat yang diperoleh dari lahan kering, lahan basah yang diwakili oleh sawah irigasi teknis serta lahan pertanaman cabai memiliki karakteristik yang hampir sama (tabel 5). Namun demikian, bukan berarti spesies yang diperoleh pada penelitian ini adalah spesies yang sama karena kedepannya masih perlu uji lanjutan untuk menentukan spesies dari isolat-isolat tersebut.

Hasil pengamatan morfologi sel isolat bakteri pelarut Fosfat (tabel 5) menunjukkan pada lahan sawah irigasi teknis diperoleh 4 isolat yang seluruhnya merupakan jenis bakteri yang berbentuk batang dengan tipe gram negatif (SIT01, SIT03, SIT04 dan SIT05). Variasi karakteristik isolat yang ditemukan pada lokasi ini dapat dilihat pada isolat SIT01 yang memiliki perbedaan karakteristik koloni dengan isolat lainnya. Karakteristik koloni isolat bakteri pelarut Fosfat pada tabel 3 menunjukkan koloni isolat SIT03, SIT04 dan SIT05 yang diperoleh pada lahan sawah irigasi teknis memiliki kemiripan yaitu bentuk koloni bulat, elevasi cembung, permukaan mengkilap, *margin* rata dan warna putih yang menandakan kemungkinan ketiga isolat tersebut merupakan jenis yang sama. Oleh karena itu, diperlukan pengujian lebih lanjut untuk menentukan karakter fisiologis tiap isolat tersebut. Isolat SIT01 memiliki bentuk koloni bulat, elevasi *flat*, permukaan mengkilap, *margin* berombak dan berwarna putih. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat SIT01 kemungkinan berbeda dengan ketiga isolat lainnya. Kondisi lahan persawahan yang ditumbuhi oleh banyak tumbuhan, bukan hanya tanaman padi, tetapi gulma dan rumput liar yang merupakan sumber bahan karbon organik bagi bakteri sehingga kemungkinan pada lahan sawah irigasi teknis dihuni lebih dari satu jenis

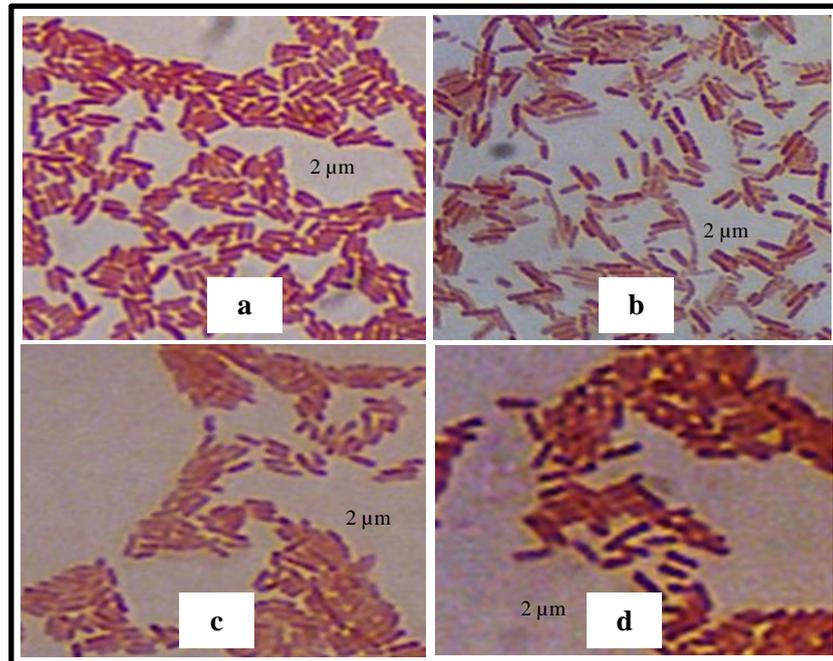
bakteri pelarut Fosfat. Selain itu, faktor lingkungan lain seperti kelembaban dan suhu yang relatif konstan dapat mendukung keberadaan berbagai jenis bakteri pada lahan tersebut.

Jenis bakteri pelarut Fosfat dapat dijumpai pada lahan basah yaitu sawah irigasi teknis karena bakteri ini mampu hidup bebas dalam kondisi tergenang mengingat lahan sawah memiliki karakteristik tanah yang digenangi air dalam kurun waktu tertentu. Unsur Fosfat secara alami banyak dijumpai di alam terutama dalam tanah. Pada lahan sawah tergenang, Fosfat banyak diperoleh melalui pemupukan. Walaupun jumlahnya banyak ditemukan di tanah, unsur Fosfat terkadang tidak tersedia bagi tanaman. Hal ini karena Fosfat sering berada dalam bentuk terikat oleh unsur lain seperti Aluminium, Kalsium serta Magnesium sehingga tidak tersedia bagi tanaman. Kondisi tersebut mengakibatkan Fosfat tidak terserap oleh tanaman sehingga tanaman sering kali mengalami defisiensi Fosfat.

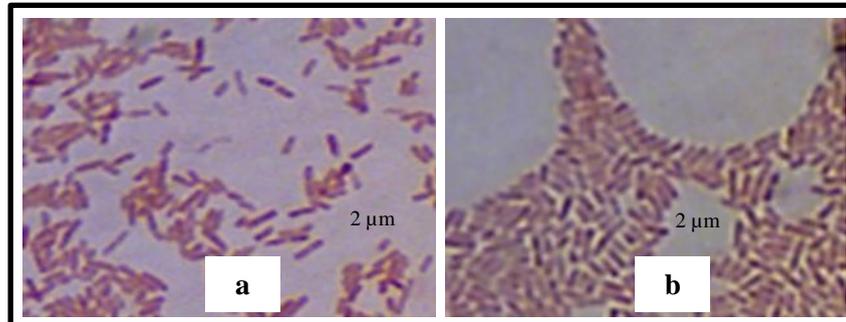
Pada lahan pertanaman cabai ditemukan jenis isolat TC01 dan TC02 merupakan bakteri pelarut Fosfat berbentuk batang yang disinyalir mampu menyediakan hara Fosfat untuk kebutuhan Fosfat tanaman cabai. Karakteristik morfologi isolat yang diperoleh pada lahan pertanaman cabai tidak berbeda dengan karakteristik isolat pada lahan sawah irigasi teknis yaitu bentuk koloni bulat, elevasi cembung, permukaan mengkilap, *margin* rata, dan warna putih. Kondisi lahan pertanaman cabai yang aerob mendukung keberadaan berbagai jenis bakteri dimana bakteri pelarut Fosfat seperti dari genus *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. merupakan jenis bakteri yang mampu tumbuh optimum dalam kondisi aerob.

Pada lahan kering hanya dijumpai 1 isolat bakteri pelarut Fosfat yaitu isolat TK01 yang memiliki karakteristik bentuk sel batang, merupakan tipe Gram positif, bentuk koloni bulat, elevasi cembung, permukaan mengkilap, *margin* rata, dan warna putih. Minimnya isolat yang berhasil diisolasi karena kondisi lingkungan lahan kering yang ekstrim dan termasuk lahan marginal di sektor pertanian akibat ketersediaan air yang kurang serta temperatur lingkungan tanah yang tinggi menyebabkan keberadaan jenis bakteri pelarut Fosfat terbatas. Fenomena ini sekaligus menjelaskan bahwa tanah kering lokasi sampling masih berpotensi dihuni oleh spesies bakteri tertentu karena diduga bakteri tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi pada berbagai kondisi lingkungan sekalipun kondisi lingkungan ekstrim. Bentuk sel bakteri pelarut fosfat pada

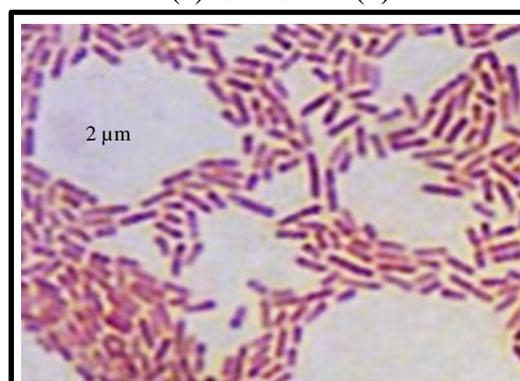
lahan sawah irigasi teknis, lahan pertanaman cabai dan lahan kering dapat dilihat pada gambar 4, 5 dan 6 secara berturut-turut.



Gambar 4. Bentuk Sel Bakteri Pelarut Fosfat pada Lahan Sawah Irigasi Teknis (a) SIT01, (b) SIT03, (c) SIT04 dan (c) SIT05



Gambar 5. Bentuk Sel Bakteri Pelarut Fosfat pada Lahan Pertanaman Cabai (a) TC01 dan (b) TC02



Gambar 6. Bentuk Sel Bakteri Pelarut Fosfat pada Lahan Kering (TK01)

Kendala terbesar pada lahan kering umumnya adalah suhu lingkungan yang tinggi. Suhu lingkungan yang tinggi akan menyebabkan penguapan tinggi sehingga tanah cepat kehilangan air yang berakibat pada kelembaban tanah yang rendah. Lingkungan yang ekstrim akibat suhu yang tinggi menyebabkan terbatasnya spesies makhluk hidup yang mendiaminya. Hal tersebut sejalan dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dimana hanya satu isolat bakteri pelarut Fosfat yang berhasil diisolasi sementara untuk bakteri penambat Nitrogen tidak ada isolat yang didapatkan.

Bakteri pelarut Fosfat dikenal memiliki kemampuan menyediakan hara yang dibutuhkan oleh tanaman terutama Fosfat. Bakteri yang hidup pada perakaran tanaman umumnya memiliki kepadatan 10 sampai 100 kali lebih banyak dibanding pada tanah tanpa perakaran. Pertumbuhan bakteri didukung oleh akar tanaman yang mengekskresikan bahan organik untuk merangsang pertumbuhan bakteri (Widawati & Suliasih, 2006).

Bakteri pelarut Fosfat telah banyak diaplikasikan dalam memicu pertumbuhan tanaman. Bakteri ini di dalam tanah dapat melepaskan unsur Fosfat yang terikat menjadi bebas sehingga tersedia untuk kebutuhan tanaman (Mukamto dkk, 2015). Bakteri tanah yang dapat melarutkan Fosfat di dalam tanah salahnya adalah genus *Bacillus* sp. yang memiliki kemampuan memproduksi asam organik yang dapat membentuk ikatan dengan mineral pengikat Fosfat di dalam tanah sehingga Fosfat yang awalnya terikat berubah bentuk menjadi Fosfat terlarut (Gheeta, Venkatesham, Hindumathi & Bhadraiah, 2014).

Kondisi pH tanah yang rendah mengakibatkan mineral Fosfat terikat oleh Aluminium dan Besi (Rochayati & Dariah 2012). Selain dikarenakan turunnya pH, adanya kecenderungan mineral seperti Kalsium, Magnesium, Besi, dan Aluminium untuk membentuk ikatan dengan asam-asam organik menjadi salah satu faktor yang menyebabkan Fosfat menjadi lebih mudah larut (Raharjo, Supriyadi & Agustina, 2007; Mukamto dkk, 2015). Genus *Pseudomonas* memiliki sel berbentuk batang, pada umumnya bersifat motil, memiliki flagella serta termasuk ke dalam jenis bakteri Gram negatif. Selain itu, ditemukan beberapa diantara jenis bakteri *Pseudomonas* juga bersifat aerob fakultatif (Pambudi dkk, 2016).

Bakteri pelarut Fosfat tumbuh optimum pada suhu 30 °C – 40 °C dengan kondisi pH 4-5 (Handayanto & Hairiyah, 2007). Bakteri ini memiliki peran menyediakan Fosfat menjadi bentuk tersedia pada tanah karena bakteri jenis ini memiliki kemampuan dalam

memutus ikatan Fosfat dengan unsur lain seperti Aluminium, Kalsium serta Magnesium dengan cara melepaskan enzim Fosfatase ke lingkungan sekitarnya. Bakteri pelarut Fosfat pada penelitian ini mampu melarutkan Fosfat terikat menjadi bentuk tersedia yang ditandai dengan zona bening yang terbentuk pada media selektif Pikovskaya.

Kemampuan dalam melarutkan Fosfat ditandai dengan holozone (zona bening) di sekitar daerah koloni. Zona bening pada media Pikovskaya Agar yang terlihat jelas pada hari ke empat inkubasi dan semakin lebar sejalan dengan lama waktu inkubasi. Ukuran zona bening yang terbentuk di sekitar koloni menandakan kemampuan bakteri untuk melarutkan Fosfat yang terikat pada media selektif sehingga zona bening yang terbentuk di sekitar koloni pada saat pengujian menandakan adanya aktivitas pelarutan dan pelepasan ikatan Fosfat dengan Kalsium oleh bakteri (Mukamto dkk, 2015).

Inokulum yang mengandung bakteri pelarut Fosfat dapat menjadi pilihan untuk mengurangi pemakaian pupuk konvensional (anorganik), karena kemampuannya melarutkan Fosfat sehingga dapat diserap oleh tanaman (Sharma, Sayyed, Trivedi & Gobi 2013; Pambudi dkk, 2016). Fosfat secara mutlak diperlukan dalam metabolisme karena berperan sebagai komponen pembentuk energi dan sebagai unsur penyusun protein dan asam nukleat (Silitonga, Priyani & Nurwahyuni, 2011; Mukamto dkk, 2015). Bakteri pelarut Fosfat memiliki kemampuan dalam melepaskan Fosfat dari ikatan Fe, Al, Ca dan Mg dengan cara mensekresikan asam organik ke lingkungan sekitarnya seperti format, asetat, propionat, laktat, glikolat, fumarat, dan suksinat (Pratiwi, 2008; Mukamto dkk, 2015). Fosfat dihidrolisis oleh asam organik menjadi fitat kemudian enzim fitase (fosfomonoesterase) mengubah fitat menjadi myo-inositol dan fosfat. Fitase yang diekskresikan oleh bakteri pelarut Fosfat pada daerah akar tanaman berfungsi mengubah bentuk unsur fitat terikat. Fosfat yang dibebaskan kemudian diserap oleh tanaman melalui aktivitas 3- dan 6-(4)- fitase. Oleh karena itu, peran rizobakteria pelarut Fosfat menjadi penting bagi tanaman dalam membantu menyediakan Fosfat (Idriss dkk, 2002; Mukamto, dkk, 2015).

Data-data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan data awal untuk menemukan jenis bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat yang dapat digunakan sebagai agen pupuk hayati pada berbagai kondisi lahan. Hasil penelitian ini kedepannya masih perlu dikembangkan untuk melihat karakteristik fisiologis, kemampuan penambatan Nitrogen dan pelarutan Fosfat tiap isolat yang berhasil

didapatkan serta menentukan jenis isolat-isolat tersebut melalui identifikasi secara molekuler.

## **KESIMPULAN**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat keragaman morfologi bakteri penambat Nitrogen dan bakteri pelarut Fosfat pada ke 3 lokasi penelitian. Isolasi tahap awal bakteri pada sampel tanah mendapatkan 13 isolat yaitu 1 isolat diisolasi dari tanah kering, 5 isolat dari sampel tanah pertanaman cabai dan 7 isolat dari tanah sawah irigasi teknis. Isolat bakteri penambat Nitrogen diperoleh pada lahan sawah irigasi teknis yaitu SIT02, PNSIT01 dan PNSIT02 sedangkan pada lahan pertanaman cabai yaitu isolat PNTC01, PNTC02 dan PNSIT02. Isolat bakteri pelarut Fosfat diperoleh pada lahan sawah irigasi teknis sebanyak 4 isolat yaitu SIT01, SIT03, SIT04 dan SIT05, pada lahan pertanaman cabai di temukan isolat TC01 dan TC02 dan pada lahan kering terdapat 1 isolat bakteri pelarut Fosfat yaitu isolat TK01. Karakteristik isolat bakteri penambat Nitrogen yaitu bentuk sel bulat dan batang, tipe Gram positif dan negatif, bentuk koloni bulat sampai tidak beraturan, elevasi cembung, permukaan mengkilap, *margin* rata sampai berombak, dan warna koloni putih sampai kuning sedangkan bakteri pelarut Fosfat memiliki karakteristik bentuk sel batang, tipe gram positif, bentuk koloni bulat, elevasi cembung sampai flat, permukaan mengkilap, *margin* rata sampai berombak dan warna putih.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih kepada Universitas Hasanuddin Makassar melalui kegiatan Runas (Riset Unggulan Unhas), Laboratorium DNA Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Universitas Brawijaya atas segala bantuan dan sumbangsuhnya dari awal hingga penelitian ini selesai.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Atlas, R.M. (2009). *Handbook of Microbiological Media 4<sup>th</sup> Edition*. Taylor and Francis : CRC press web site.
- Fajrin, V.N., Erdiansyah, I. & Damanhuri, 2017. Koleksi dan Identifikasi Bakteri Penambat N Pada Pusat Lokasi Tanaman Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merr.) Di Kabupaten Jember. *Jurnal Agriprima*, 1(2), 143-153. <https://agriprima.polije.ac.id/index.php/journal/article/view/v1i2-f/pdf>.
- Garner, F.P, Pearce, R.B. & Mirchel, R.I. (1995). *Phyciology of Crop Plants*. Iowa: The Iowa States University Press.

- Gheeta, K., Venkatesham, E., Hindumathi, A., & Bhadraiah, B. (2014). Isolation, Screening and Characterization of Plant Growth Promoting Bacteria and Their Effect on *Vigna radita* (L.) R.Wilczek. *Int. Jurnal Curr. Microbiol.* 3(6), 799-809. <https://www.ijcmas.com/vol-3-6/K.Geetha,%20et%20al.pdf>.
- Handayanto, E. & Hairiyah, K. (2007). *Biologi Tanah Landasan Pengelolaan Tanah Sehat. Edisi I*. Jakarta: Pustaka Adipura.
- Hartono & Jumadi, O. (2014). Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiotik Pengekskresi Amonium pada Tanah Pertanaman Jagung (*Zea mays* L.) dan Padi (*Oryza sativa* L.) Asal Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, Indonesia. *Jurnal Sainsmat*, 3(2), 143-153. <http://ojs.unm.ac.id/index.php/sainsmat/article/view/1122>.
- Idriss, E.E., Makarewicz, O., Farouk, A., Rosner, K., Grenier, R., Bochow, H., Richter, T., & Borris, R. (2002). Extracellular Phytase Activity of *Bacillus Amyloliquefaciens* FZB45 Contributes to Its Plant-Growth-Promoting Effect. *Jurnal Microbiology*. 148 (Pt 7), 2097 – 2109. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12101298/>.
- Irfan, M. (2014). Isolasi dan Enumerasi Bakteri Tanah Gambut di Perkebunan Kelapa Sawit PT. Tambang Hijau Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. *Jurnal Agroteknologi*, 5(1), 1–8. <http://ejournal.uin-suska.ac.id/index.php/agroteknologi/article/view/1141/1030>.
- Latupapua, H.J.D & Suliasih. (2001). Daya Pacu Mikroba Pelarut Fosfat dan Penambat Nitrogen pada Tanaman Jagung. *Jurnal Biologi Indonesia*, 3(2), 99-107. [https://ejournal.biologi.lipi.go.id/index.php/jurnal\\_biologi\\_indonesia/article/view/3477](https://ejournal.biologi.lipi.go.id/index.php/jurnal_biologi_indonesia/article/view/3477).
- Marlina, N., Silviana & Gofar, N. (2013). Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen (*Azospirillum* dan *Azotobacter*) Asal Rhizosfer Tanaman Budidaya di Lahan Lebak untuk Memacu Pertumbuhan Tanaman Padi. *Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang Ilmu-ilmu Pertanian BKS-PTN Wilayah Barat Tahun 2013*, 1, 19–20. [https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as\\_sdt=0,5&cluster=3677403907820811055](https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0,5&cluster=3677403907820811055).
- Mukamto, Ulfah, S., Mahalina, W., Syauqi, A., Istiqfaroh, L., & Trimulyono, G. (2015). Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Leguminosae. *Jurnal Sains dan Matematika*, 3(2), 62 – 68. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/sainsmatematika/article/view/221>.
- Nursanti, Ida. (2017). Teknologi Produksi dan Aplikasi Mikroba Pelarut Hara sebagai Pupuk Hayati. *Jurnal Media Pertanian*, 2(1), 24 – 36. <http://jagro.unbari.ac.id/index.php/agro/article/view/24>.
- Pambudi., A, Noriko, N. & Sari, E.P. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah Sawah di Kecamatan Medan Satria dan Bekasi Utara, Kota Bekasi, Jawa Barat. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 3(4), 187-195. <https://jurnal.uai.ac.id/index.php/SST/article/view/233>.

- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Prayudyaningsih, R., Nursyamsi & Sari, R. (2015). Mikroorganisme Tanah Bermanfaat pada Rhizosfer Tanaman Umbi diBawah Tegakan Hutan Rakyat Sulawesi Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1 (4), 954-959.  
[https://www.researchgate.net/publication/300783229\\_Mikroorganisme\\_tanah\\_bermanfaat\\_pada\\_rhizosfer\\_tanaman\\_umbi\\_di\\_bawah\\_tegakan\\_hutan\\_rakyat\\_Sulawesi\\_Selatan](https://www.researchgate.net/publication/300783229_Mikroorganisme_tanah_bermanfaat_pada_rhizosfer_tanaman_umbi_di_bawah_tegakan_hutan_rakyat_Sulawesi_Selatan).
- Puspitawati, M.D., Sugiyanta, & Anas, I. (2013). Pemanfaatan Mikroba Pelarut Fosfat untuk Mengurangi Dosis Pupuk P Anorganik pada Padi Sawah. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 41 (3), 188 – 195.  
<https://journal.ipb.ac.id/index.php/jurnalagronomi/article/view/8095>.
- Raharjo, B., Suprihadi, A. & D.K, Agustina. (2007). Pelarut Fosfat Anorganik oleh Kultur Campuran Jamur Pelarut Fosfat Secara In Vitro. *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*, 15(2), 45-54.  
<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/sm/article/view/3262>.
- Rao, S. (1982). *Biofertilizer in Agriculture*. New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co.
- Rochayati, S. & Dariah, A. (2012). *Pengembangan Lahan Kering Masam, Peluang, Tantangan dan Strategi serta Teknologi Pengelolaan. Dalam: Prospek Pertanian Lahan Kering Dalam Mendukung Ketahanan Pangan*. Jakarta: IAARD Press.
- Roni., N.G.K & Lindawati, S.A. (2018). Kajian Partial Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiotik Asal Rhizosfer Tanaman Gamal Sebagai Plant Growth Promoting Pada Lahan Sistem Tiga Strata Pecatu. *Jurnal Pastura*, 7(2), 78-82.  
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/pastura/article/view/45509>.
- Saraswati, R., Husen, E. & Simanungkalit, R.D.M. (2007). *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian.
- Sharma., S.B., Sayyed R.Z., Trivedi, M.H. & Gobi T.A. (2013). Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. *Springer Plus*, 2(587), 1-14.  
<https://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/2193-1801-2-587>.
- Silitonga., D.M., Priyani, N., & Nurwahyuni, I. (2013). Isolasi dan Uji Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (Indole Acetic Acid) Terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine max L.*) pada Tanah Kuning. *Jurnal Saintia Biologi*, 1(2), 35-41.  
<http://jurnal.usu.ac.id/index.php/sbiologi/article/view/1280/667>.
- Simanungkalit, R.D.M. (2000). *Apakah Pupuk Hayati dapat Mengantikan Pupuk Kimia?: Simposium Penelitian Tanaman Pangan IV*. Jakarta: Puslitbangtan. Badan Litbang Pertanian.

- Somasegaran, P., & Hoben, H. J. (1994). *Handbook for Rhizobia*. New York, NY: Springer New York.
- Suliasih & Widawati, S. (2015). Peningkatan Hasil Jagung dengan Menggunakan Pupuk Organik Hayati (POH). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1 (1), 145-149. <http://lipi.go.id/publikasi/peningkatan-hasil-tanaman-jagung-zea-mays-dengan-menggunakan-pupuk-organik-hayati-poh/3828>.
- Supriyo. A, Minarsih, S., & Prayudi, B. (2014). Efektifitas Pemberian Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Padi Gogo pada Tanah Kering. *Jurnal Agritech*, 16(1), 1 – 12. <http://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/AGRITECH/article/view/1014>.
- Widawati, S & Suliasih. (2006). Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) di Cikaniki, Gunung Botol dan Ciptarasa, serta Kemampuannya Melarutkan P Terikat di Media Pikovskaya Padat. *Jurnal Biodiversitas*, 7(2), 109 – 113. <https://biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D0702/D070203.pdf>.
- Wuriesyliane, Gofar, N., Madjid, A., Widjajanti, H. & Ni Luh Putu, S.R. (2013). Pertumbuhan dan Hasil Padi pada Inseptisol Asal Rawa Lebak yang Diinokulasi Berbagai Konsorsium Bakteri Penyumbang Unsur Hara. *Jurnal Lahan Sub Optimal*, 2(1), 18-27. <https://jlsuboptimal.unsri.ac.id/index.php/jlso/article/view/32>.