

## UJI PATOGENISITAS BAKTERI PELARUT FOSFAT YANG DI ISOLASI DARI RHIZOSFER TANAMAN KOPI (*Coffea* Sp.) DAN PAITAN (*Tithonia diversifolia*) DI DESA RAILAKU VILA KECAMATAN RAILAKU TIMOR-LESTE

**The Pathogenicity Test of Phosphate Solvent Bacteria Isolated from Coffee (*Coffea* sp.) Plants Rhizosfer and Mexican Sun Flower (*Tithonia diversifolia*) in Railaku Village Villa Railaku Sub-District, East Timor**

*Paulinus Mendes Efi<sup>1)</sup>, Yosep S. Pata'dungan<sup>2)</sup>, Muhammad Basir<sup>2)</sup>*

<sup>1)</sup>Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako

<sup>2)</sup>Staf Pengajar pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako

Jl. Soekarno-Hatta Km 9, Tondo-Palu 94118, Sulawesi Tengah Telp. 0451-429738

Email : [paulinosmendes@gmail.com](mailto:paulinosmendes@gmail.com), [ypatadungan@yahoo.com](mailto:ypatadungan@yahoo.com), [basircyio@yahoo.com](mailto:basircyio@yahoo.com)

### ABSTRACT

The purpose of this research was to find out the number of colonies and the morphology of the phosphate solvent bacteria (PSB) isolated from coffee (*Coffea* sp.) and mexican sun flower (*Tithonia diversifolia*) rhizospheres and to tests their pathogenicity. This research was done from May to July 2018 when soil samples were taken from the coffee and mexican sun flower rhizosphere using a polar sampling method; three composite samples for each rhizosphere. Three isolates were obtained from the coffee soil namely isolate 1 (KB, ZS), isolate 2 (KB, ZL), isolate 3 (KK, ZL), and five isolates from the mexican sun flower soil namely isolate 4 (KB, ZS), isolate 5 (KB, ZS), isolate 6 (KK, ZS), isolate 7 (KK, ZL) and isolate 8 (KB, ZS). The eight isolates then tested for pathogenicity qualitatively by comparing them to *Xanthomonas oryzae* pathogens. The eight isolates of PSB were later tested by injecting them on rice plants which were grown in an aseptic room. All isolates showed no pathogenic properties. The isolates 3 and 6 which have a very good effect on plant growth are likely not just phosphate solvent bacteria but they can be also growth stimulator bacteria indirectly producing phytohormone which can induce growth.

**Keywords :** Coffee Plants, Mexican Sun Flowers, Pathogenecity, and Phosphate Solvent Bacteria.

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai dengan bulan Juli 2018. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui jumlah koloni dan morfologi bakteri pelarut fosfat (BPF) dari rhizosfer Kopi (*Coffea* sp.) dan Paitan (*Tithonia diversifolia*) sehingga bisa di uji sifat patogenesis dari beberapa isolat BPF yang digunakan. Pengambilan sampel tanah di lapangan menggunakan metode polar sampling, dengan metode tersebut maka diperoleh tiga sampel komposit untuk tanaman kopi dan juga tiga sampel komposit untuk tanaman paitan. Dari sampel-sampel tersebut diperoleh tiga isolat untuk kopi yaitu isolat 1 (KB,ZS), isolat 2 (KB,ZL), isolat 3 (KK,ZL) dan lima isolat untuk paitan yaitu isolat 4 (KB,ZS), isolat 5 (KB,ZS), isolat 6 (KK,ZS), isolat 7 (KK,ZL) dan isolat 8 (KB,ZS). Kedelapan isolat tersebut kemudian diuji patogenesisnya secara kualitatif dengan dibandingkan antara patogen (*Xanthomonas oryzae*) dan kontrol. Kedelapan isolat BPF tersebut diuji dengan cara menginjeksi pada tanaman padi yang ditumbuhkan pada ruang aseptik. Isolat-isolat tersebut tidak memiliki sifat sebagai patogen. Isolat 3 dan 6 yang memiliki pengaruh pertumbuhan, kemungkinan besar isolat BPF tersebut bukan hanya sebagai bakteri pelarut fosfat namun bisa jadi sebagai bakteri pemacu tumbuh secara langsung memproduksi fitohormon yang dapat menginduksi pertumbuhan.

**Kata Kunci :** Bakteri Pelarut Fosfat, *Rhizosfer*, Patogenesis, Tanaman Kopi, Tanaman Paitan.

## PENDAHULUAN

*Diresaun Statistika Nasional* Timor-Leste (2010), letak geografis Timor-Leste yang diapit oleh dua negara besar, Australia dan Indonesia, dimana yang pertama merupakan negara industri sedangkan yang satunya adalah negara berkembang, dapat sebagai referensi gambaran umum kepada Timor-Leste untuk belajar dari negara tetangganya. Timor-Leste memiliki keanekaragaman hayati yang cukup tinggi.

Usaha untuk menggali sumber daya hayati belum banyak dilakukan, terutama mikroba tanah belum banyak informasi yang diungkapkan, sehingga perlu dilakukan eksplorasi mengenai jenis mikroba tersebut. Eksplorasi dilakukan dengan cara mengambil contoh tanah dari daerah perakaran yang disebut dengan daerah rhizosfir tanaman kopi dan tanaman paitan yang tumbuh subur.

*Rhizosfer* merupakan bagian dari tanah yang memiliki aktivitas metabolisme tertinggi yang didefinisikan sebagai sebagian kecil volume tanah yang langsung dipengaruhi oleh pertumbuhan dan metabolisme akar tanaman. Tanaman dan mikroba berinteraksi dan saling menstimulasi yang disebabkan oleh eksudat akar. Berbagai spesies mikroorganisme hidup di sekitar daerah perakaran tanaman. Salah satu mikroorganisme penting adalah mikroorganisme pelarut fosfat (MPF). Peranan MPF di dalam tanah adalah membantu melarutkan Fosfor (P) yang umumnya dalam bentuk tidak larut menjadi bentuk terlarut sehingga dapat digunakan oleh tanaman. MPF umumnya ditemukan sebagai pelarut fosfat anorganik, yaitu sebesar  $10^{-4}$  sampai  $10^{-6}$  sel per gram tanah dan sebagian besar terdapat pada bagian perakaran (Herman dan Pranowo, 2013).

Bakteri pemacu tumbuh secara langsung memproduksi fitohormon yang dapat menginduksi pertumbuhan. Peningkatan pertumbuhan tanaman dapat terjadi ketika suatu rizobakterium

memproduksi metabolit yang berperan sebagai fitohormon yang secara langsung meningkatkan pertumbuhan tanaman. Metabolit yang dihasilkan selain berupa fitohormon, juga antibiotik, siderofor, sianida, dan sebagainya. Fitohormon atau hormon tumbuh yang diproduksi dapat berupa auksin, giberelin, sitokinin, etilen, dan asam absisat. Bakteri pemacu tumbuh secara tidak langsung juga menghambat patogen melalui sintesis senyawa antibiotik, sebagai kontrol biologis, (Purwaningsih, 2003).

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sumber Daya Lahan (SDL) dan Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako Palu, Mulai dari bulan Mei sampai dengan Juli 2018.

Alat yang di gunakan dalam penelitian ini adalah mistar, tube, linggis, skop, Erlenmeyer 500 ml, pipet tetes, pipet mikro 1 ml, cawan petri steril, botol susu yang berukuran 20 cm, timbangan analitik tiga desimal, incubator, laminar air flow, gelas ukur, autoklaf, plastik anti panas, aluminum foil, kertas label, alkohol 46% dan 70%, jarum ose, spreyer, kamera digital, masker, sarung tangan, bunsen, kotak es (cool box), Enkas dan mikroskop.

Bahan tanah yang digunakan adalah contoh tanah di sekitar rhizosfer vegetasi Kopi dan Paitan dari Desa Railaku Vila, aquades, media pikovskaya; (glukosa 10 g ;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  5 g ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,5 g ; KCl 0,2 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,1 g;  $\text{MnSO}_4$  0,01 g;  $\text{FeSO}_4$  0,01 g; NaCl 0,2 ekstrak ragi 0,5 g; agar 15 g; akuades), nutrisi Hidroponik AB mix, biji padi >80% (30 s.d 50 biji),  $\text{H}_2\text{O}_2$  10%, biakan murni MPF, kapas dan bahan untuk analisis sel dan pewarnaan gram bakteri.

Desain penelitian yang digunakan yaitu polar sampling dimana masing-masing sampel tanaman diambil 3 sampai 6 isolat BPF sehingga didapatkan maksimal 12 isolat yang akan di Uji Patogenisitas.

Pengujian dilakukan dengan cara membandingkan secara visual pada pertumbuhan tanaman padi yang diinkubasi dengan bakteri pelarut fosfat.

### **Pelaksanaan Penelitian**

#### ***Survei dan Pengambilan Sampel Tanah.***

Sampel tanah yang digunakan berasal dari Desa Railaku Vila, Kecamatan Railaku, Kabupaten Ermera, Timor-Leste. Metode yang digunakan dalam pengambilan sampel adalah polar sampling. Dimana setiap lokasi diambil 3 titik sampel tanaman secara acak dan setiap titik sampel tanaman diambil 3 titik secara polar. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada jarak 30 cm dari pangkal akar dengan kedalaman 5 sampai 20 cm di sekitar perakaran tanaman. Tanah kemudian dikompositkan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik lalu dibawa ke laboratorium, (Saraswati *et,al*, 2012).

***Analisis Kandungan Tanah.*** Analisis kandungan tanah meliputi parameter pH tanah, C organik dan N-total dan C/N rasio, (Saraswati *et,al*, 2012).

#### ***Perhitungan Jumlah Koloni atau Kepadatan BPF.***

Pengisolasian bakteri dilakukan dengan metode pengenceran (dillution method) (Waluyo, 2008). Sampel tanah ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dalam 9 ml akuades steril, lalu dihomogenisasi menggunakan vortex, selanjutnya diambil 1 ml larutan dari tabung reaksi dan dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril pada tabung reaksi lain sehingga diperoleh tingkat pengenceran  $10^{-1}$ . Prosedu kerja diatas diulangi terus menerus hingga tingkat pengenceran mencapai  $10^{-4}$ . Sampel tanah yang telah diencerkan dengan metode pengenceran diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril masing-masing 2 kali ulangan, kemudian ditambahkan media Pikovskaya. Cawan petri diputar agar homogen, kemudian media diinkubasi selama 72 jam pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ . Jumlah koloni yang tumbuh pada media dihitung dengan colony counter dengan ketetapan standar plate count kepadatan bakteri pada

tiap lokasi dihitung menggunakan metode penghitungan cawan (plate count) dengan rumus sebagai berikut (Waluyo, 2008):

$$(cfu.g^{-1}) = \frac{\text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}}{\text{berat tanah kering}}$$

#### ***Isolasi Pemurnian Bakteri Pelarut Fosfat.***

Pemurnian bakteri dilakukan dengan cara koloni bakteri yang tumbuh diambil menggunakan jarum ose secara aseptis dan digoreskan pada media Pikovskaya miring. Media tersebut diinkubasi selama 72 jam pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  sehingga didapatkan isolat murni. Isolat bakteri yang akan dimurnikan ditentukan berdasarkan diameter koloni dan zona bening pada kedua sampel tanah (Purwaningsih, 2003).

#### ***Analisis Pewarnaan Gram dan Sel Bakteri Pelarut Fosfat.***

Analisis pewarnaan gram dilakukan dengan cara fiksasi menggunakan akuades steril pada kaca objek dan mengambil bakteri dari beberapa isolat dan letakkan pada titik akuades tersebut kemudian di gores perlahan-lahan sampai meletakkan pada permukaan kaca, setelah merata lalu dikeringkan. Selanjutnya ditambahkan larutan kristal violet diamkan sampai 2 menit. Kemudian menambahkan larutan etanol 96% diamkan selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan larutan safranin dan diamkan selama 15 menit agar larutan larut pada permukaan sel setelah itu dicuci dengan air biasa. Selanjutnya pada fase akhir ditambahkan larutan lugol/Betadin sampai menutupi permukaan sel dan diamkan selama 10 menit, setelah di bilas dengan akuades biasa maka sel dari bakteri pelarut fosfat bisa di amati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 20 x 100 mm.

#### ***Uji Patogenisitas.***

Melarutkan larutan hidroponik AB mix, masing-masing larutan dilarutkan pada 4L akuades, selanjutnya media tersebut dimasukan ke dalam tabung reaksi dan masing-masing tabung berisi 100-150 ml. Memasukan kapas ke dalam tabung sampai tepat di permukaan larutan, tutup tabung dengan kapas, dan sterilkan

dengan autoklaf pada tekanan 0,1 Mpa dan suhu 121 °C selama 20 menit, kemudian mengeluarkan media dan diamkan sampai dingin. Langkah selanjutnya memilih beberapa biji padi yang mempunyai presentase tumbuh diatas 80%, lalu disterilisasi permukaan kulit pada beberapa biji padi terpilih. Biji padi direndam ke dalam alkohol 46% selama 1 menit, dipindahkan ke dalam akuades steril tiga kali masing-masing 10 menit, selanjutnya dipindahkan ke dalam H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% selama 2 s.d 4 menit, dan rendamkan di dalam akuades steril selama 5 jam.

Secara aseptik sebar atau semai biji-biji padi ke dalam cawang petri yang berisi kapas basah steril selama 2 s.d 4 hari, setelah muncul batang dan akar sepanjang 1 cm, secara aseptik memasukan biji-biji yang sudah berkecambah ke dalam tabung reaksi yang telah diisi oleh media hidropnik AB mix yang sudah dilarutkan dan steril. Langkah selanjutnya secara aseptik masukan juga (inokulasikan) 1 ml biakan murni BPF ke dalam tabung (8 s.d 10 tabung) dan inkubasi selama 2 s.d 3 minggu di dalam ruangan penumbuh (growth room) atau di ruangan yang pada saat tersinari oleh cahaya matahari. Dengan cara yang sama inokulasikan mikroba patogen ke dalam tabung lain dan kontrol (tampa inokulasi) sebagai pembanding.

Secara visual amati pertumbuhan tanaman yang tidak normal, tanaman yang ditandai dengan pertumbuhan tidak sehat dan sakit atau pertumbuhan terhambat

disebabkan oleh mikroba patogen, tetapi tanaman yang hidup sehat dan terlihat pertumbuhan baik maka menandakan bahwa mikroba tersebut sebagai BPF.

**Parameter pengamatan.** Parameter yang diggunakan pada penelitian ini meliputi; kerapatan bakteri pelarut fosfat (BPF), Morfologi dari bakteri pelarut fosfat seperti bentuk, warna, diameter koloni, sel BPF, sifat BPF, dan pengamatan khusus pada uji patogenisitas terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman padi yang di inokulasi oleh beberapa isolat baktei pelarut fosfat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Analisis Kandungan Kimia Tanah.** Berdasarkan hasil analisis kandungan kimiawi tanah dari *rhizosfer* kopi dan paitan maka didapat hasil sebagai berikut ini:

Hasil analisis kandungan tanah pada *rhizosfer* kopi (*Coffea* sp.) dan paitan (*Tithonia diversifolia*), memiliki pH H<sub>2</sub>O 6,44 dan 7,54 dengan kriteria pH netral. Namun analisis C-organik pada kedua sampel tersebut masing-masing memiliki kandungan C-organik yang hampir sama yaitu pada tanaman kopi kandungan C-organik sebesar 8,2 dan tanaman paitan memiliki kandungan C-organik 8,56 dengan kriteria sangat tinggi. Pada analisis N-total dari *rhizosfer* kopi memiliki 0,26% dan paitan dengan 0,29% maka kriterianya adalah sedang. C/N rasio pada tanaman kopi lebih besar dibandingkan tanaman paitan yaitu 31,54 dan 29,52 dengan kriteria sangat tinggi.

Tabel 1. Hasil Analisis Bebrapa Kandungan Kimia Tanah

Sampel	pH		C-Organik (%)	N-total (%)	C/N
	H <sub>2</sub> O	KCl			
Kopi	6,44	5,88	8,2	0,26	31,54
Paitan	7,54	6,93	8,56	0,29	29,52

Tabel 2. Hasil Pengamatan Total Koloni dan Populasi BPF

No	Sampel	Total Koloni	Total Populasi ( <i>cfu</i> ) g <sup>-1</sup> Tanah Kering
1	Kopi	155	212.10 <sup>4</sup>
2	Paitan	100	141.10 <sup>4</sup>

Keterangan : CFU= *Colony Forming Unit*

Tabel 3. Hasil Pengamatan Morfologi BPF

Isolat	Sampel	Warna	Bentuk Koloni	Ukuran		Ket
				K (cm)	ZB (cm)	
1	Kopi	Putih	Bulat, datar	0,8	0,1	KB,ZS
2	Kopi	Putih	Bulat, datar	0,5	0,3	KB,ZL
3	Kopi	Putih	Bulat, cembung	0,3	0,3	KK,ZL
4	Paitan	Kuning hehijauan	Bulat, datar	0,7	0,2	KB,ZS
5	Paitan	Kuning	Tidak beraturan, datar	0,3	0,2	KB,ZS
6	Paitan	Putih	Bulat, cembung	0,3	0,1	KK,ZS
7	Paitan	Putih	Bulat, cembung	0,3	0,5	KK,ZL
8	Paitan	Putih	Bulat, datar	0,5	0,1	KB,ZS

Keterangan : K = Koloni, ZB = Zona Bening, KK = Koloni Kecil; KB = Koloni Besar; ZS = Zona Sempit; dan ZL =Zona Lebar



(a)



(b)

Gambar 1. Morfologi bakteri pelarut fosfat dari rhizosfer (a) kopi (*Coffea* sp.) dan (b) paitan (*Tithonia diversifolia*) (difoto menggunakan kamera HP Samsung dengan kapasitas 7 mega pixel).

Menurut Marista, *et al* (2013) keberadaan karbon berkaitan dengan nitrogen dalam bentuk C/N rasio. Kadar C/N rasio yang tinggi memudahkan mikroorganisme aktif melakukan proses dekomposisi. Kondisi ini disebabkan masih terdapat sumber makanan dengan cara menguraikan bahan organik yang masih mengandung karbon, maka dari itu menyebabkan populasi mikroorganisme semakin banyak.

#### Populasi/Perhitungan BPF dalam Tanah.

Berdasarkan tabel dibawah ini maka hasil total populasi dari mikroorganisme bakteri pelarut fosfat terlihat pada table 2.

Hasil perhitungan total koloni bakteri pelarut fosfat dengan menggunakan *coloni counter* pada sampel tanah kopi berjumlah 155 koloni dengan total populasi adalah 212.10<sup>4</sup> *cfu* g<sup>-1</sup>. Sampel tanah paitan total koloni sebanyak 100, maka total populasi bakteri sebanyak 141.10<sup>4</sup> *cfu* g<sup>-1</sup>.

### Morfologi Bakteri Pelarut Fosfat.

Berdasarkan hasil pengamatan pada morfologi BPF maka diperoleh beberapa bentuk, warna dan ukuran yang berbeda-beda terlihat pada gambar 1.

Morfologi dari pada bakteri pelarut fosfat memiliki warna, bentuk koloni dan ukuran yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil pengamatan pada isolat bakteri pelarut fosfat dari sampel kopi dan paitan memiliki warna seperti putih, kuning, dan kuning pisang.

Bentuk bakteri berbeda-beda seperti, bulat datar, bulat cembung dan adapula yang bentuknya tidak beraturan. Berdasarkan ukuran maka dapat dilakukan pengukuran bakteri, yaitu ukuran koloni dan ukuran zona bening. Masing-masing koloni BPF memiliki ukuran yang yang berdeba-beda, terdapat isolat yang berukuran koloni sangat kecil yaitu 0,3 cm dan yang paling besar yaitu 0,8 cm. Besar dan kecil ukuran dari zona bening berdasarkan morfologi bakteri pelarut fosfat yang tumbuh pada media pikovskaya yaitu dari 0,1 cm sampai 0,5 cm. Untuk lebih jelasnya maka dapat dilihat pada (Tabel 4).

Menurut Maryanti (2006) tanda-tanda bahwa suatu bakteri dapat melarutkan fosfat yaitu dengan adanya zona bening pada sekitaran koloni bakteri dan penambahan ukuran koloni bakteri pada media pikovskaya, hal ini disebabkan

karena bakteri tersebut dapat melarutkan fosfat ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) yang terdapat pada formulasi media pikovskaya.

George *dkk.* (2002) menyatakan bahwa bakteri pelarut fosfat akan melarutkan fosfat dalam bentuk  $\text{PO}_4$  menggunakan enzim fosfatase, sehingga terbentuk zona bening disekitaran koloni bakteri pelarut fosfat.

### Identifikasi Sel dan Pewarnaan Gram

Bakteri. Berdasarkan hasil identifikasi sel dan perwarnaan gram bakteri pelarut fosfat maka hasil analisisnya sebagai berikut ini:

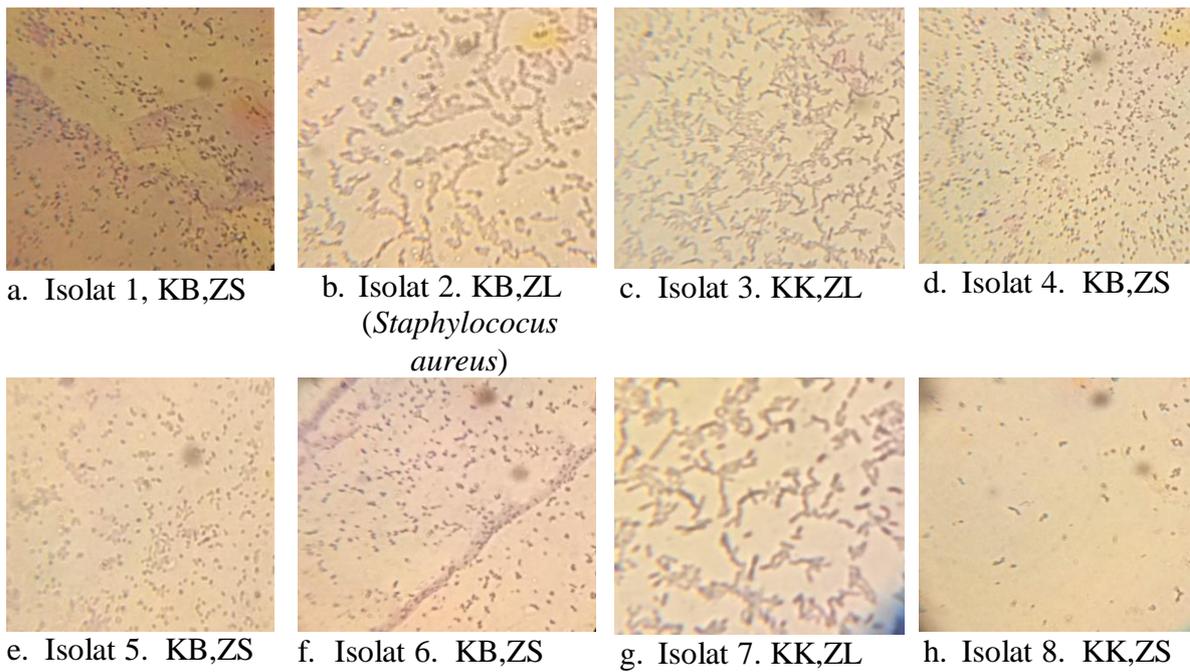
Berdasarkan hasil yang didapat pada tabel diatas bahwa bakteri pelarut fosfat pada beberapa isolat memiliki bentuk seperti basilus, cocus, streptococus, dan terdapat bakteri pelarut fosfat yang diduga bahwa bakteri tersebut adalah bakteri dengan species (*Staphylococcus aureus*) pada isolat rhizosfer kopi, bakteri tersebut memiliki bentuk bulat kecil dan terlihat seperti buah anggur (gambar 2b). Hasil identifikasi sel dan pewarnaan gram bakteri menunjukkan bahwa dari ke-8 (kedelapan) isolat yang digunakan dominasi oleh bakteri gram negatif.

Genus *Staphylococcus* termasuk bakteri golongan gram positif, berbentuk bulat tersusun seperti buah anggur dan bersifat non motil. (Marista, *et al.* 2013).

Tabel 4. Hasil Identifikasi Sel dan Pewarnaan Gram BPF dengan Pembesaran 20 x 100 mm

Ket (Isolat)	Bentuk	Pewarnaan (gram)	Pembelahan
KB,ZS (1)	Basilus (batang kecil)	negatif	1 kali
KB,ZL (2)	( <i>Staphylococcus aureus</i> )	positif	3 kali
KK,ZL (3)	Streptococus (batang)	negatif	4 kali
KB,ZS (4)	Diplococus (bulat kecil)	positif	2 kali
KB,ZS (5)	streptococus (bulat kecil)	negatif	3 kali
KK,ZS (6)	streptococus (bulat kecil)	negatif	4 kali
KK,ZL (7)	Streptococus	negatif	4 kali
KB,ZS (8)	Diplococus (batang)	positif	2 kali

Keterangan : KK = Koloni Kecil; KB = Koloni Besar; ZS = Zona Sempit; dan ZL =Zona Lebar.



Gambar 2. Bentuk sel dari pada Bakteri pelarut fosfat indigen asal *rhizosfer* Kopi (a, b, dan c) (*Coffea sp.*) dan Paitan (d, e, f, g dan h) (*Tithonia diversifolia*).



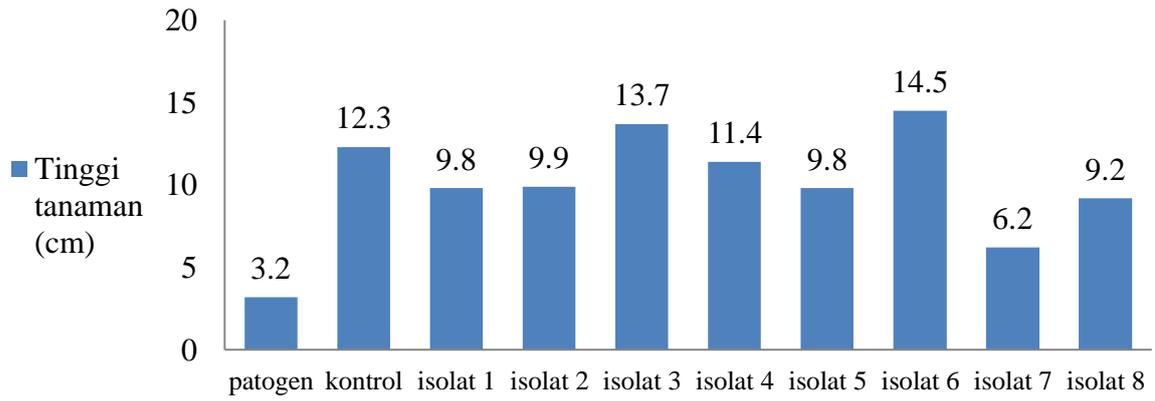
Gambar 3. Pengamatan Pertumbuhan Tanaman Padi Selama Inkubasi Pada Minggu Ke 2 Setelah Tanam.

Hasil analisis menggunakan mikroskop dengan pembesaran 20 x 100 mm. Terdapat bakteri pelarut fosfata yang memiliki gram positive dan negative. Dari hasil 8 isolat yang dianalisis terdapat bakteri yang melakukan pembelahan satu sampai empat kali (Tabel 4).

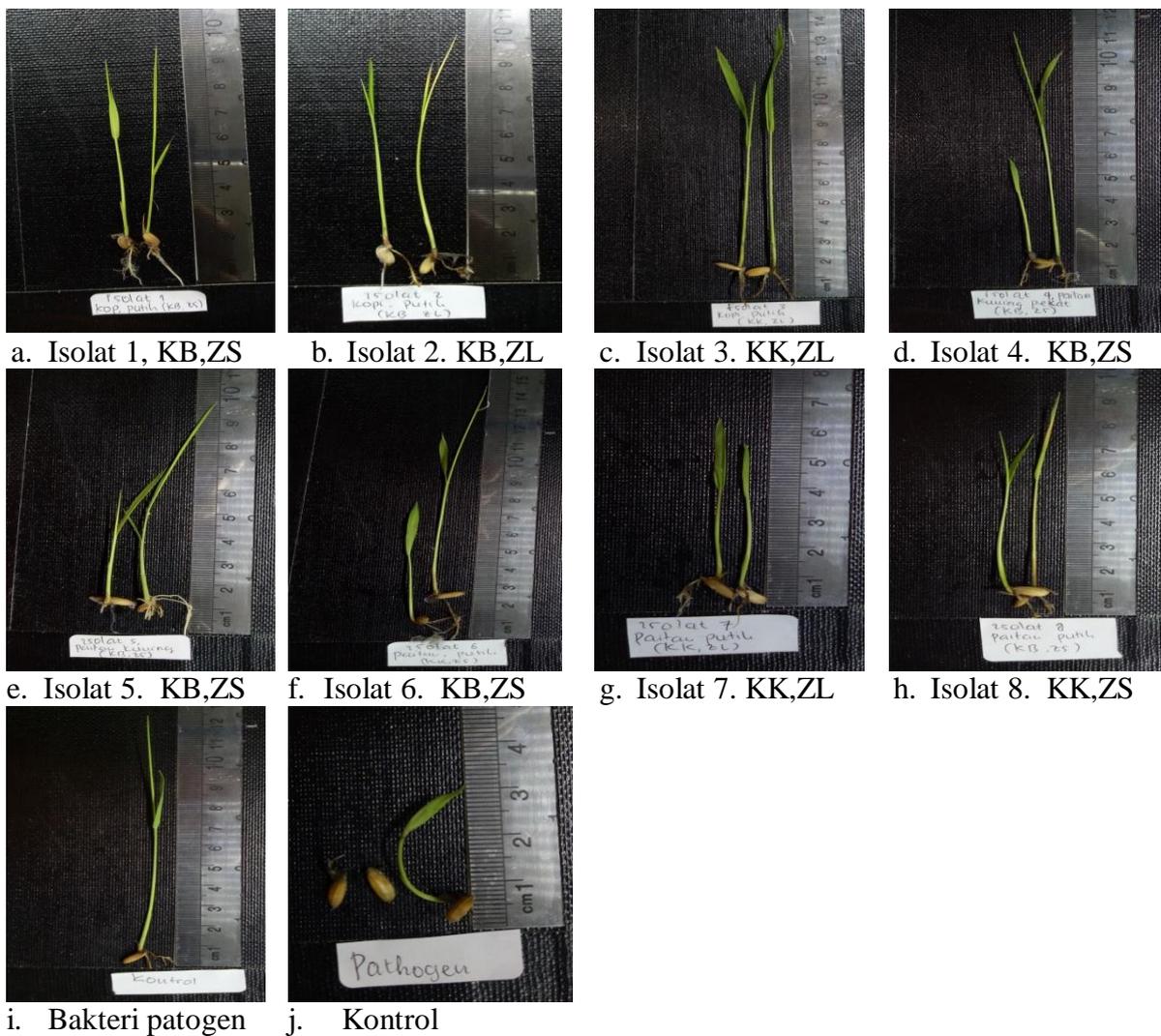
Karakterisasi yang akan dilakukan meliputi pengamatan morfologi bakteri. Pengamatan morfologi bakteri dilakukan secara makroskopis, mikroskopis dan uji

biokimia (Waluyo, 2008). Pengamatan sel secara makroskopis meliputi pengamatan morfologi koloni bakteri. Pengamatan dilakukan dengan mengamati bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni bakteri yang tumbuh pada media Pikovskaya (Purwaningsih, 2003).

**Uji Patogenisitas BPF.** Berdasarkan hasil pengamatan pada pertumbuhan tanaman padi maka didapatkan sebagai berikut ini



Gambar 4. Grafik pertumbuhan tanaman padi setelah 2 minggu diinkubasi pada ruang penumbuhan.



Gambar 5. Pengukuran hasil tanaman padi yang telah tumbuh pada media BPF selama 15 hari setelah tanam.

Pengamatan dilakukan mulai dari hari pertama dilakukan penanaman tanaman padi di dalam media pertumbuhan yaitu botol yang berisi media hidroponik AB mix, kapas dan isolat bakteri pelarut fosfat. Media pengamatan yaitu kontrol (tampa isolat BPF), patogen (*Xanthomonas oryzae*) dan media untuk isolat BPF. Pengamatan pada pertumbuhan tanaman padi ini diinkubasi pada ruang yang sesekali tersinari oleh matahari, (Gambar 3) dan terdapat lampu yang membantu dalam proses penyinaran di malam hari. Hari pertama isolat yang paling cepat mempengaruhi pertumbuhan tanaman padi yaitu pada isolat 6 dengan kode sampel paitan putih (KK,ZS). Hal ini berlanjut pada hari kedua dengan pertumbuhan yang sama dari isolat 6 dibandingkan isolat yang lain. Namun, pada hari keempat isolat 2, 3, 4 dan 5 mulai memperlihatkan reaksi biologinya sehingga terdapat reaksi pada pertumbuhan tanaman padi.

Patogen (*Xanthomonas oryzae*) menunjukkan reaksinya dengan menyerang tanaman padi pada hari kelima (5). Reaksi yang ditimbulkan oleh bakteri pelarut fosfat berlanjut hingga satu minggu pengamatan. Pertumbuhan tanaman padi setelah 1 minggu bisa dilihat pada grafik berikut, ini:

Pengamatan pertumbuhan tanaman padi setelah 2 minggu diinkubasi pada ruang tumbuh, terdapat hasil seperti pada grafik diatas. Tanaman padi yang ditambahi Patogen (*Xanthomonas oryzae*) memiliki tinggi 3,2 cm dibandingkan dengan kontrol (tampa BPF) dengan tinggi 12,3 cm. Isolat 1, 2, 5, dan 8 memiliki pertumbuhan yang sama yaitu 9,2 cm, 9,8 cm dan 9,9 cm. Isolat 7 sedikit lambat pertumbuhannya namun memiliki ciri-ciri seperti benih tumbuh dengan baik dan pertumbuhan daun sangat hijau dengan batang yang besar. Namun yang paling memiliki pertumbuhan baik yaitu pada isolat 3 dengan tinggi 13,7 cm dan isolat 6 dengan tinggi 14,5 cm. Hal ini menandakan bahwa isolat yang digunakan pada pengamatan uji patogenisitas yang diinjeksi pada tanaman

padi tersebut adalah bakteri pelarut fosfat dan tidak memiliki sifat sebagai bakteri patogen.

Hasil penelitian N. Arfarita *et al* (2017) menunjukkan bahwa panjang tanaman, dan panjang total akar, menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan tauge kacang hijau. Ketiga isolat memiliki kemungkinan dalam memproduksi hormon pertumbuhan, setelah perkecambahan diamati di sprouts berdasarkan aktivitas tertinggi dari bakteri pelarut fosfat.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada uji patogenisitas bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari *Rhizosfer* tanaman kopi (*Coffea* sp.) dan paitan (*Tithonia diversifolia*) di Desa Railaku Vila Kecamatan Railaku, Timor-Leste maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil analisis sifat kimiawi tanah pada *rhizosfer* kopi (*Coffea* sp.) dan paitan (*Tithonia diversifolia*), memiliki pH H<sub>2</sub>O 6,44 dan 7,54 netral. C-organik pada sample kopi yaitu 8,2% dan paitan 8,56% sangat tinggi. Sehingga C/N rasionya yaitu 31,54 pada sampel kopi dan 29,52 pada sampel paitan dengan kriteria sangat tinggi.
2. Morfologi bakteri pelarut fosfat memiliki warna putih, kuning dan kuning kehijauan dengan bentuk koloni bulat, datar dan cembung. Ukuran zona bening menjadi sangat penting pada pemilihan morfologi BPF.
3. Analisis pewarnaan gram BPF secara keseluruhan memiliki gram negatif dan terdapat pula 3 isolat yang memiliki gram positif.
4. Berdasarkan hasil uji patogenisitas pada BPF, tidak terdapat bakteri yang bersifat sebagai patogen, sehingga pertumbuhan tanaman padi pada minggu kedua terdapat isolat 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 memiliki pertumbuhan yang sangat baik,

artinya bahwa isolat yang digunakan memiliki kemungkinan dalam menghasilkan hormon pertumbuhan.

### Saran

Perlu adanya perhatian khusus kepada mikroorganisme tanah salah satunya seperti Bakteri Pelarut Fosfat (BPF), yang dapat dilihat dari ciri morfologinya pada media Pikovskaya. Bakteri yang dipilih dalam penelitian ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen biofertilizer.

Peneliti sangat menyarankan agar bisa dilakukan pengujian lanjutan pada mikroorganisme (bakteri pelarut fosfat) yang sudah diisolasi dari rhizosfer Kopi (*Coffea* sp.) dan Paitan (*Tithonia diversifolia*) agar bisa diketahui genus, species, dan hormon apa yang dihasilkan oleh bakteri tersebut sehingga bisa dijadikan sebagai salah satu agen hayati yang bermanfaat bagi tanaman dalam menyediakan unsur hara P dalam larutan tanah.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arfarita1,N,. Lestari, M, W., Murwani1, I., Higuchi, T, 2017. *Isolation of indigenous phosphate solubilizing bacteria from green bean rhizospheres*. Volume 4, Number 3 (April 2017): 845-851.
- Diresaun *Statistika nasional Timor-Leste* 2010. *Timor-Leste Geography and agriculture*. <http://www.factfish.com/countrycategory/timorleste/geography%20and%20agriculture>. Diakses pada tanggal 8 april 2018
- George, T.S., Gregori, P.J., Wood, M., Read, J and Buresh, R.J. 2002. Phosphatase activity and organic acids in the rhizosphere of potential agroforestry species and maize. *Soil Biol Biochem* 34:1487-1494.
- Herman M, dan Pranowo D, 2013. *Pengaruh Mikroba Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Dan Serapan Hara P Benih Kakao (Theobroma Cacao L.)*. Buletin Ristri 4 (2): 129-138.
- Marista, E., Khotimah, S., Linda, R., 2013. *Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (Musa paradisiaca var. nipah) di Kota Singkawang*. Vol 2 (2): 93 – 101.
- Purwaningsih, S, 2003. Isolasi, Populasi dan Karakteristik Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah dari Tanam Nasional Bogani Nani Wartabone, Sulawesi Utara. *Biologi* 3 (1): 22-31.
- Saraswati R., E. Husen., dan R.D.M. Simanungkalit, 2012. *Metode analisis Biologi Tanah*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian: Bogor. Hal 5-11.
- Waluyo, L, 2008. *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi*. Universitas Muhammadiyah Malang: Press, Malang/