

Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pelarut Fosfat dari Rizosfer Tanaman Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Hari Inti Herlambang, Achmad Himawan^{*)}, Elizabeth Nanik Kristalisasi

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian INSTIPER Yogyakarta

^{*)}Email korespondensi: wawanhimawan2014@gmail.com

ABSTRACT

Nutrient elements are very important for robusta coffee plants, but the availability of these nutrients in acidic soil (pH less than 5.5) or alkaline soil (pH greater than 8) is limited, as phosphorus (P) becomes bound by iron (Fe), aluminum (Al), and calcium (Ca), making it unavailable to plants. Therefore, phosphate-solubilizing bacteria are needed to convert unavailable phosphorus into available phosphorus. The purpose of this study was to identify the presence of phosphate-solubilizing bacteria in the rhizosphere of robusta coffee plants from Glagaharjo Village, Kepuharjo Village, and Umbulharjo Village, as well as to isolate and test their potential as phosphate-solubilizing bacteria. The method used in the study was an observational method presented in descriptive form. The descriptive writing includes information about the sampling location (temperature, humidity, sunlight intensity, altitude), procedures for isolating phosphate-solubilizing bacteria, macroscopic observations, microscopic observations, phosphate solubilization potential testing, catalase testing, and oxidase testing. The results of the study found 45 bacterial isolates from the three Villages. However, analysis of phosphate-solubilizing bacteria showed that only 16 isolates were suspected to be phosphate-solubilizing bacteria, potentially capable of solubilizing phosphate, as indicated by clear zones formed when cultured on Pikovskaya agar medium. Based on the characterization results, phosphate-solubilizing bacteria were found in each of the sample locations: Location 1 (Glagaharjo Village), Location 2 (Kepuharjo Village), and Location 3 (Kepuharjo Village, Cangkringan Subdistrict, Sleman Regency). The identified bacterial genera were Azotobacter and Pseudomonas, and all isolates tested positive in catalase and oxidase tests.

Keywords: Bacterial isolation; phosphate-solubilizing bacteria; rhizosphere of robusta coffee

PENDAHULUAN

Komoditas kopi merupakan salah satu sektor pertanian penting dalam perekonomian Indonesia, namun pada tahun 2020 sampai 2022 produksi kopi mengalami fluktuasi. Tahun 2020 produksi kopi sejumlah 762,38 ribu ton, meningkat pada tahun 2021 menjadi 786,19 ribu ton atau naik 3,12%. Pada tahun 2022, produksi kopi menurun 1,43% atau turun menjadi 774,96 ribu ton (Badan Pusat Statistik, 2023). Berkurangnya hasil kopi dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah faktor unsur hara.

Unsur hara sangat penting bagi tanaman kopi. Namun, kondisi masam dengan pH di bawah 5,5 menyebabkan unsur hara seperti P, K, N, Ca, S, Mg tidak tersedia pada tanah. Fosfat (P) sebagai salah satu nutrisi penting yang dibutuhkan dalam jumlah banyak bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman kopi robusta (*Coffea robusta*). Namun, ketersediaan fosfat dalam tanah sering kali terbatas (terjerab) oleh unsur hara logam Besi (Fe) dikarenakan pH masam yang menyebabkan tidak sepenuhnya Fosfat (P) dapat terserap oleh tanaman (Supriadi et al., 2018)

Upaya meningkatkan efisiensi penyerapan fosfat oleh tanaman salah satunya adalah dengan pemanfaatan mikroorganisme pelarut fosfat. Beberapa literatur menyebutkan bakteri pelarut fosfat mengubah fosfat yang sukar larut menjadi bentuk fosfat yang dapat diserap tanaman, sehingga meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman (Malhotra et al., 2018)

Meskipun penelitian mengenai bakteri pelarut fosfat telah dilakukan pada berbagai tanaman, namun penelitian khusus mengenai isolasi dan uji potensi bakteri pelarut fosfat dari rizosfer tanaman kopi robusta masih terbatas. Seperti penelitian (Triana et al., 2019) yang hanya menemukan satu jenis bakteri genus *Pseudomonas*.

Perkebunan kopi robusta di provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta adalah perkebunan rakyat yang salah satunya berlokasi di Kecamatan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Masyarakat memiliki pohon kopi robusta disekitar rumah atau lahan khusus. Pada 10 tahun terakhir curah hujan di stasiun Bronggang 2.480 mm/tahun dan 2.537 mm/tahun di stasiun Pakem. Temperatur suhu rata-rata wilayah 32°C dengan suhu terendah 18°C dengan jenis tanah terdiri dari Regosol dan Entisol. Kini masyarakat Kecamatan Cangkringan sudah bisa mengolah sendiri sampai menjadi produk akhir berupa green bean, biji hasil roasting, bubuk kopi dengan berbagai cara pengolahan. Proses pengolahan kopi robusta ini menjadi objek wisata tersendiri untuk dikunjungi wisatawan. Wisatawan memiliki kesempatan untuk menyaksikan proses pengolahan kopi secara langsung, mulai dari pembibitan, perawatan, hingga pengolahan menjadi kopi bubuk yang siap konsumsi.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat INSTIPER Yogyakarta, Kecamatan Maguwoharjo, Kabupaten Sleman, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Lokasi pengambilan sampel tanah tanaman kopi robusta berbeda-beda di sekitar wilayah Kecamatan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – Agustus 2024.

Alat yang digunakan yaitu Lux meter, Hygrometer, pH meter, pisau, skop mini, kertas label, neraca analitik, jangka sorong, Laminar Air Flow (LAF), pipet mikro 1 ml, wadah sampel, sendok, gelas ukur 500 ml, labu elenmeyer 500 ml, labu erlenmeyer 1 l, cawan petri, tabung reaksi 10 ml, kaca pengaduk, gunting, autoklaf, kompor listrik, bunsen, kaca preparat, cover glas, ose, vortex, mikroskop, optilab.

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquadest steril, media nutrient agar, reagen pewarnaan gram, media Pikovskaya agar, alkohol 70%, etanol 96%, tisu, kain kasa, kapas, plastik wrap, kain lap serbet, sabun cuci, spirtus, sampel tanah rizosfer tanaman kopi robusta.

Metode pelaksanaan yang digunakan adalah metode observasi yang disajikan dalam bentuk deskriptif. Penulisan deskriptif mencakup deskripsi tentang lokasi pengambilan sampel (suhu, kelembaban, intensitas cahaya matahari, ketinggian), prosedur isolasi bakteri pelarut fosfat, pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis, pengujian potensi pelarutan fosfat, uji katalase, uji oksidase. Implementasi penelitian ini melibatkan beberapa langkah :

1. Survei Lokasi Sampel

Sebelum lokasi penelitian ditentukan, dilakukan survei lokasi penelitian untuk memperoleh keterangan secara faktual di lapangan dan pengajuan izin penelitian. Data dikumpulkan melalui wawancara langsung untuk mengetahui umur, jarak tanam, pemeliharaan tanaman kopi robusta dengan praktisi perkebunan kopi robusta di wilayah Kecamatan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta.

2. Persiapan Alat dan Bahan

Semua alat yang akan digunakan dalam kondisi aseptis disterilkan pada autoklaf, alat dibungkus menggunakan kertas payung sedangkan bahan menggunakan aluminium foil lalu di masukan ke autoklaf. temperatur diatur 121°C pada tekanan 15 psi selama 20 menit.

3. Pembuatan Media

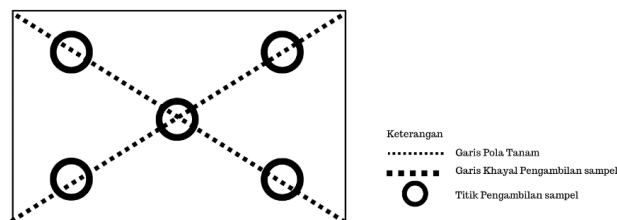
Pembuatan media NA meliputi penimbangan 28 gram bubuk NA dan larutkan dalam 1 liter air sampai larutan homogen. Lalu disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C serta tekanan 2 atm selama 20 menit. Setelah disterilisasi, saat media masih dalam kondisi masih cair dapat langsung dituang ke pada cawan petri sesuai kebutuhan.

Pembuatan media Pikovskaya's agar, bubuk Pikovskaya's agar 31,3 gram dilarutkan pada 1 liter aquades. Rebus untuk melarutkan media sepenuhnya dan sterilkan dengan autoklaf

selama 15 menit pada tekanan 2 atm dan suhu 121°C. Setelah disterilisasi, saat media dalam kondisi masih cair dapat langsung dituang ke cawan petri sesuai kebutuhan.

4. Pengambilan Sampel Tanah

Sebelum pengambilan sampel tanah dilakukan pengambilan data lingkungan (suhu, pH tanah, intensitas cahaya matahari, kelembaban tanah) dengan menggunakan alat lux meter, hygrometer, pH meter. Lalu pengambilan sampel tanaman kopi masing-masing lokasi dipilih 5 tanaman yang berbeda dan dari titik yang berbeda. Lima sampel tanah diambil secara diagonal sebanyak 5 titik (A, B, C, D, E) dan pada setiap lokasi. Berat sampel tanah ± 100 gram pada kedalaman 0-20 cm rizosfer tanaman. Sampel tanah per titik lokasi kemudian dikompositkan per titik bagian sampel sehingga didapatkan 45 sampel tanah. Tanah dari masing-masing tanaman dibungkus plastik steril lalu dimasukkan ke dalam chiller box, selanjutnya dibawa ke laboratorium.



Gambar 1. Lokasi sampling tanah pada lahan

5. Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat

Mikroorganisme dalam tanah memiliki peranan masing-masing, bakteri yang berkemampuan dalam melarutkan unsur P sehingga tersedia bagi tanaman adalah golongan bakteri pelarut fosfat (BPF). Isolasi bakteri dilakukan dengan tanah sampel ditimbang 1 gram lalu larutkan kedalam air 9 ml aquades dimasukkan kedalam gelas beker dan dicampur diaduk hingga homogen. Diambil 1 ml dari campuran tanah dengan aquades 1 liter dengan mikro pipet lalu dimasukkan ke tabung reaksi berisi 9 ml aquades dihomogenkan menghasilkan pengenceran 10^{-1} , lalu pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml di masukan ke tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades dihomogenkan dengan vortex menghasilkan pengenceran 10^{-2} , hal tersebut dilakukan pengulangan hingga 10^{-6} dan hasil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dituang pada media Nutrient Agar (NA) sebanyak 1 ml dari setiap suspensi. Beri label di tiap cawan petri dengan kode singkatan. Inkubasi pada posisi terbalik selama 72 jam pada suhu ruang.

6. Analisis P Tersedia

Analisis P tersedia dilakukan di Laboratorium Pusat Instiper Yogyakarta. Pengujian menggunakan metode Olsen & Bray dengan pengestrak Olsen pada tanah pH tanah lebih dari 5,5 dan menggunakan pengestrak Bray pada tanah dengan pH < 5,5 atau tanah masam. Ketika maka yang digunakan metode Olsen.

Tabel 1. Kriteria penilaian hasil analisis tanah P Tersedia P₂O₅

Parameter Tanah	Nilai				
	Sangat Rendah	Rendah	Sedang	Tinggi	Sangat Tinggi
P ₂ O ₅ Bray (ppm)	<4	5-7	8-10	11-15	>15
P ₂ O ₅ Olsen (ppm)	<5	5-10	11-15	16-20	>20

Sumber : (Sulaeman et al., 2005)

7. Pemurnian Bakteri

Pemurnian bakteri yang tumbuh dari sampel tanaman pada media NA dimurnikan dengan cara digores menggunakan ose ke media NA didalam Laminar Air Flow (LAF) kemudian di inkubasi untuk mendapatkan koloni tunggal kemudian di simpan di suhu ruang.

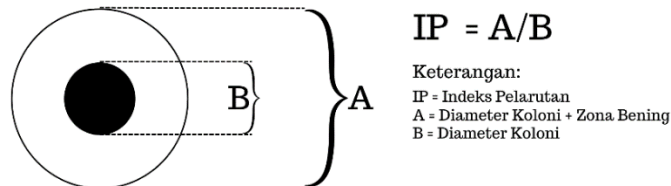
8. Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat Secara Makroskopis

Karakterisasi bakteri secara makroskopis dengan mengamati morfologi koloni bakteri yang terbentuk pada media nutrient agar dan Pikovskaya agar serta identifikasi identifikasi bakteri pelarut fosfat. Morfologi koloni bakteri yang diamati adalah bentuk koloni, tepi koloni, warna koloni dan elevasi yang terbentuk.

9. Uji Potensi Pelarut Fosfat

Uji potensi bakteri pelarut fosfat biakan murni bakteri diuji kemampuannya dalam melarutkan fosfat pada media Pikovskaya sampai hari ke 9. Keberadaan zona bening menunjukkan kemampuan bakteri dalam melarutkan Fosfat. Tahapan berikutnya dilakukan pengukuran indeks pelarutan P dengan rumus berikut:

$$\text{Indeks Pelarutan} = (\text{Diameter Zona Bening} + \text{Diameter Koloni}) / (\text{Diameter Koloni})$$



Gambar 2. Indeks Pelarutan

Tabel 2. Kriteria indeks pelarutan fosfat

Indeks Pelarutan	Keterangan
≥1,59	Rendah
1,6-2,12	Sedang
2,15-2,59	Tinggi
2,6-3	Sangat Tinggi

10. Karakterisasi Mikroskopis Bakteri Pelarut Fosfat

Pewarnaan gram bakteri pelarut fosfat pada isolat bertujuan untuk mengetahui sifat gram bakteri. Metode ini dilakukan dengan cara mengambil biakan sebanyak satu ose lalu diratakan diatas preparat lalu ditetesi dengan crystal violet sebanyak 2-3 tetes kemudian didiamkan selama 1 menit dan dicuci dengan air destilata dan dikering anginkan, selanjutnya pada langkah yang sama ditetesi dengan iodine lugol. Langkah berikutnya

ditetesi Alkohol dan didiamkan selama 30 detik lalu dibilas dengan air destilata, berikutnya ditetesi safranin lalu didiamkan selama 2 menit dan dibilas dengan air destilata. Lalu ditetaskan 1 tetes air destilata pada bakteri yang akan di amati lalu tutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan diamati dengan mikroskop, bakteri gram positif berwarna violet sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah. Selain bisa menentukan gram bakteri dapat juga untuk menentukan bentuk sel bakteri.

11. Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat

Identifikasi bakteri pelarut fosfat dengan menyamakan dari ciri-ciri morfologi bakteri dengan literatur yang ada secara makroskopis dan mikroskopis.

12. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meletakan 2 tetes H_2O_2 3% kepada kaca benda bersih, mengambil isolat dengan jarum ose lalu dicampurkan ke larutan H_2O_2 3% diatas kaca benda. Uji Katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen yang menunjukan bahwa bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi O_2 dan H_2O (A. K. Dewi, 2013).

13. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan dengan satu ose isolat bakteri yang akan di ujikan digoreskan ke kertas filter yang sudah di tetesi larutan kovac. Pengamatan dilakukan dengan melihat reaksi perubahan warna yang ditampilkan. Hasil goresan berwarna biru keunguan berarti hasil uji oksidase positif dan apabila tidak ada perubahan warna pada goresan berarti hasil uji negatif.

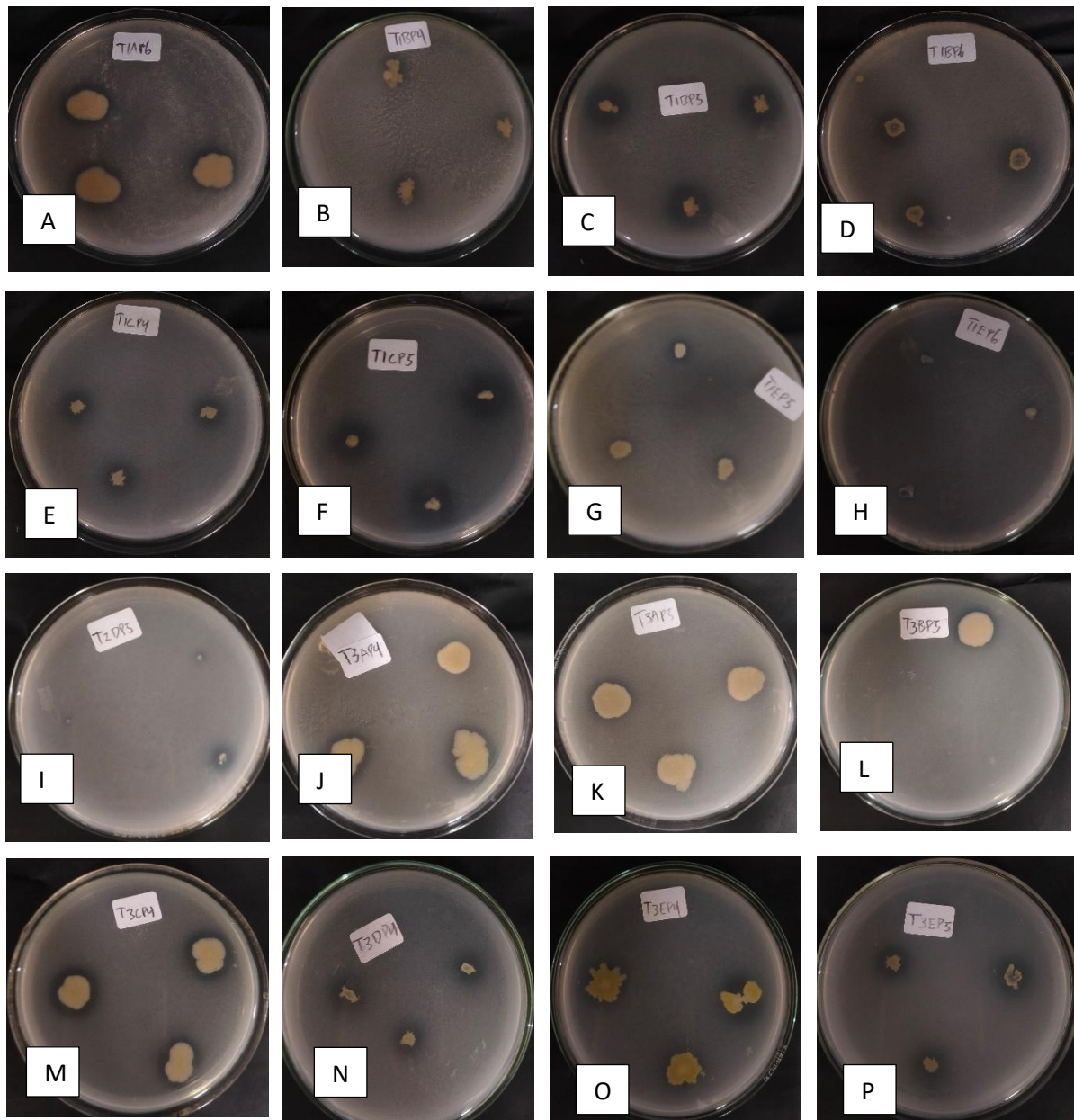
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri dari rizosfer tanaman kopi di 3 lokasi pengambilan sampel diperoleh 16 isolat bakteri pelarut fosfat dari 45 isolat. Isolat bakteri pelarut fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni ketika dikulturkan pada media Pikovskaya agar.



Gambar 3. Pemurnian bakteri hasil isolasi dari lokasi sampel

Pengujian indeks pelarutan fosfat dan identifikasi bakteri pelarut fosfat. Uji indeks pelarutan fosfat dilakukan dengan menghitung diameter koloni dikurangi ukuran zona bening untuk menghitung kelarutan fosfat dalam media (Panjaitan et al., 2020)



Gambar 4. Pengujian pelarutan fosfat

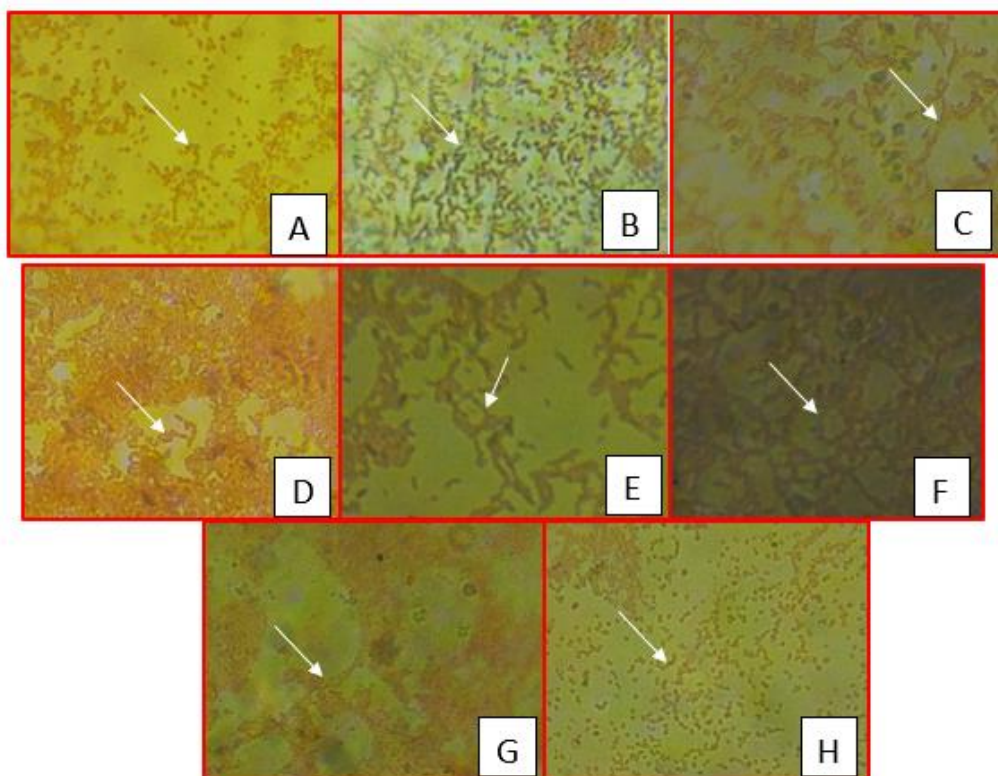
Keterangan : (A) T1AP6 , (B) Isolat T1BP4, (C) Isolat T1BP5, (D) Isolat T1BP6, (E) Isolat T1CP4, (F) Isolat T1CP5, (G) Isolat T1EP5, (H) Isolat T1EP6, (I) Isolat T2DP5, (J) Isolat T3AP4, (K) Isolat T3AP5, (L) Isolat T3BP5, (M) Isolat T3CP4, (N) Isolat T3DP4, (O) Isolat T3EP4, (P) Isolat T3EP5

Pengujian isolat pada media Pikovskaya agar menunjukkan 8 isolat bakteri pelarut fosfat berasal dari desa Glagaharjo, 1 isolat bakteri pelarut fosfat dari desa Kepuharjo, 7 isolat dari desa Umbulharjo. Isolat bakteri pelarut fosfat tersebut diuji kemampuan dalam melarutkan fosfat dengan uji indeks pelarutan fosfat (IP) pada media Pikovskaya agar selama 9 hari.

Tabel 3. Pengukuran indeks pelarutan fosfat

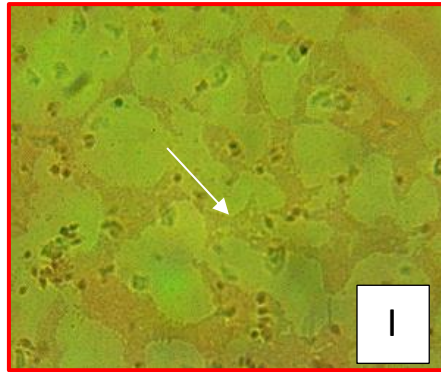
Koloni Isolat	Koloni	Zona Bening Terbentuk	IP	Keterangan
T1AP6	10,10	16,13	1,60	Sedang
T1BP4	5,83	9,73	1,67	Sedang
T1BP5	5,33	17,63	3,31	Sangat Tinggi
T1BP6	6,87	13,70	2,00	Sedang
T1CP4	5,27	10,83	2,06	Sedang
T1CP5	4,40	15,53	3,53	Sangat Tinggi
T1EP5	5,07	8,37	1,65	Sedang
T1EP6	3,83	6,63	1,73	Sedang
T2DP5	2,23	5,40	2,42	Tinggi
T3AP4	10,33	16,87	1,63	Sedang
T3AP5	10,53	16,90	1,60	Sedang
T3BP5	11,20	17,80	1,59	Rendah
T3CP4	10,40	16,70	1,61	Sedang
T3DP4	3,87	11,40	2,95	Sangat Tinggi
T3EP4	10,30	16,67	1,62	Sedang
T3EP5	5,67	11,67	2,06	Sedang

Keterangan : T1 (Tempat 1 : Glagaharjo), T2 (Tempat 2 : Kepuharjo), T3 (Tempat 3 : Umbulharjo), P4 (Pengenceran 10^{-4}), P5 (Pengenceran 10^{-5}), P6 (Pengenceran 10^{-6})

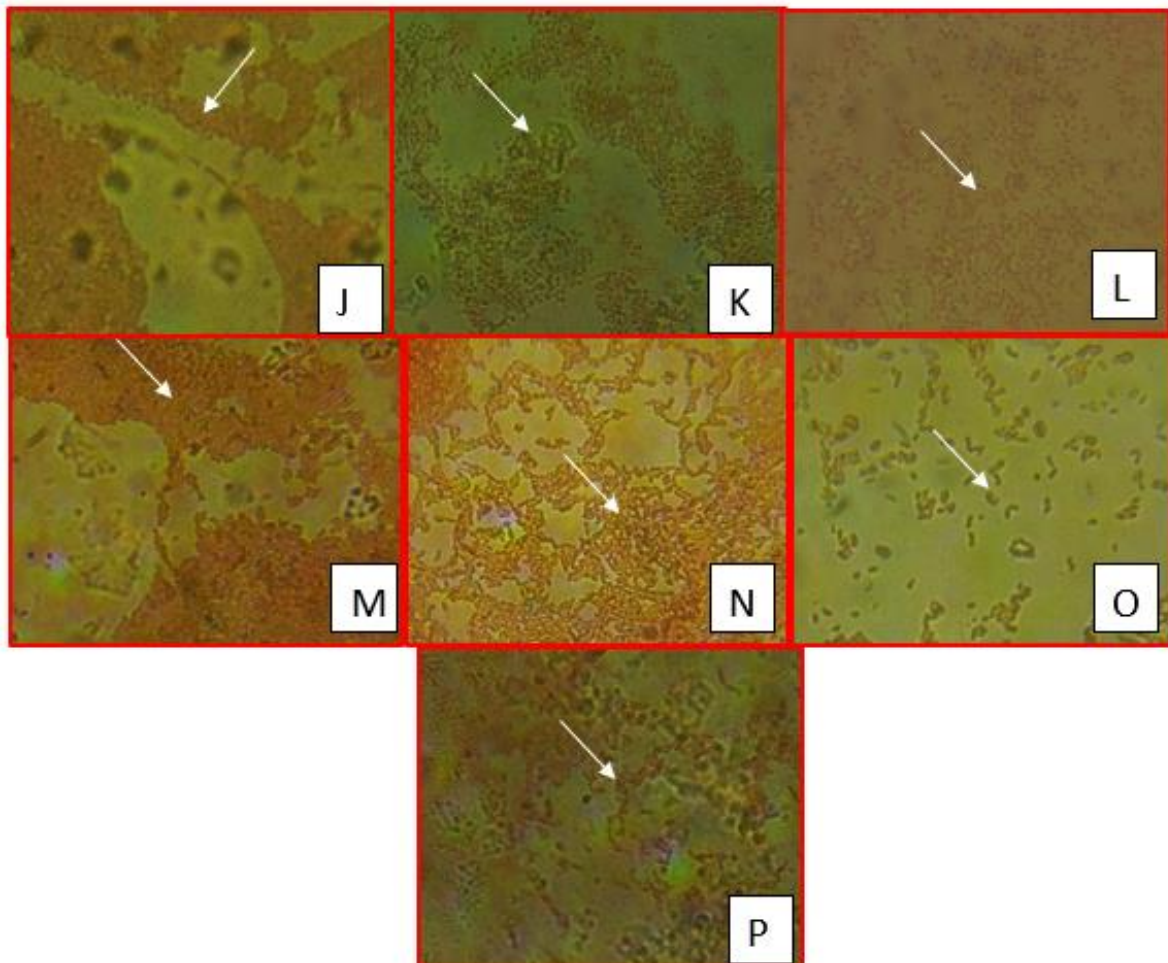


Gambar 5. Penampakan mikroskopis isolat bakteri (1.000X) dari lokasi 1 (Glagaharjo).

Keterangan: A. T1AP6, B. T1BP4, C. T1BP5, D. T1BP6, E. T1CP4, F. T1CP5, G. T1EP5, H. T1EP6



Gambar 6. Penampakan mikroskopis isolat bakteri (1.000X) dari lokasi 2 (Kepuharjo).
Keterangan: I. T2DP5



Gambar 7. Penampakan mikroskopis isolat bakteri (1.000X) dari lokasi 3 (Umbulharjo).
Keterangan: J. T3AP4, K. T3AP5, L. T3BP5, M. T3CP4, N. T3DP4, O. T3EP4,
P. T3EP5

Karakteristik bakteri pelarut fosfat yang berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman kopi robusta diamati dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

Tabel 4. Identifikasi morfologi isolat bakteri pelarut fosfat

Kode Isolat	Makroskopis				Mikroskopis		Genus
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Bentuk Sel	Warna Gram	
T1AP6	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Coccus</i>	-	<i>Azotobacter</i>
T1BP4	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Coccus</i>	-	<i>Azotobacter</i>
T1BP5	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T1BP6	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T1CP4	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T1CP5	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T1EP5	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T1EP6	<i>Circular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Coccus</i>	-	<i>Azotobacter</i>
T2DP5	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T3AP4	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T3AP5	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T3BP5	<i>Circular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Coccus</i>	-	<i>Azotobacter</i>
T3CP4	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T3DP4	<i>Circular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T3EP4	<i>Circular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>	Putih Kuningan	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>
T3EP5	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Krem	<i>Basil</i>	-	<i>Pseudomonas</i>

Keterangan : T1 (Tempat 1 : Glagaharjo), T2 (Tempat 2 : Kepuharjo), T3 (Tempat 3 : Umbulharjo), P4 (Pengenceran 10^{-4}), P5 (Pengenceran 10^{-5}), P6 (Pengenceran 10^{-6} , Circulair (Bulat, Bertepi), Irregular (Tidak Beraturan, Bertepi), Entire (Tepian Rata), Undulate (Tepian Bergelombang), Lobate (Tepian Berlekuk), Convex (Cembung), Flat (Rata).

Isolat yang teridentifikasi sebagai bakteri pelarut fosfat diidentifikasi morfologinya dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis koloni meliputi pengamatan bentuk, elevasi, tepi, dan warna koloni. Berdasarkan pengamatan didapatkan karakteristik isolat berbeda beda dengan bentuk Circular (Bulat, Bertepi), Irregular (Tidak Beraturan, Bertepi), tepi koloni bakteri yaitu Entire (Tepian Rata), Undulate (Tepian Bergelombang), Lobate (Tepian Berlekuk), serta elevasi koloni Convex (Cembung) dan Flat (Rata), dengan warna krem dan putih kekuningan. Perbedaan ini disebabkan oleh ekspresi gen bakteri dan kondisi lingkungan yang menyebabkan perubahan sifat morfologi bakteri yang berbeda beda (Lestari et al., 2011).

Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengidentifikasi bentuk sel bakteri dan gram bakteri. Pewarnaan bakteri berfungsi memberi warna pada bagian-bagian atau sel, sehingga, meningkatkan kontras dan membuatnya lebih jelas (Amin et al., 2023). Hasil dari pewarnaan gram menunjukan semua isolat bakteri pelarut fosfat termasuk kepada gram negatif

dengan ciri menampakan warna merah pada selnya dengan bentuk yang teridentifikasi berbentuk bacilli (batang) sebanyak 13 isolat yaitu T1BP4, T1BP5, T1CP4, T1CP5, T1EP5, T2DP5, T3AP4, T3AP5, T3CP4, T3DP4, T3EP4, T3EP5 dan berbentuk coccus (bulat) sebanyak 4 isolat yaitu T1AP6, T1BP4, T1EP6, T3BP5.

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat T1BP4, T1BP5, T1CP4, T1CP5, T1EP5, T2DP5, T3AP4, T3AP5, T3CP4, T3DP4, T3EP4, T3EP5 sesuai dengan karakteristik bakteri pelarut fosfat genus *Pseudomonas* sedangkan Isolat T1AP6, T1BP4, T1EP6, T3BP5 memiliki karakteristik bakteri pelarut fosfat genus *Azotobacter*

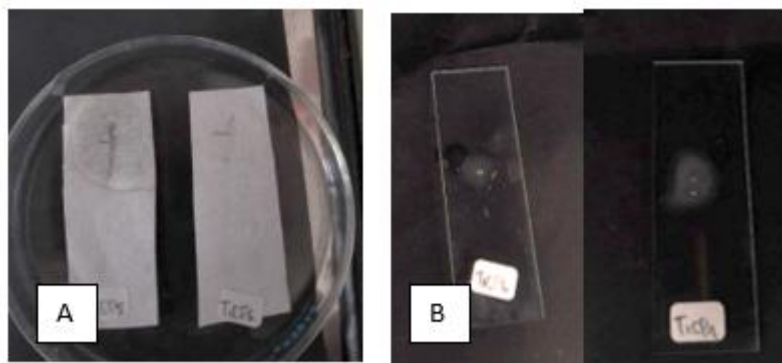
Uji biokimia bakteri adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi karakteristik biokimia dari bakteri. Dalam penelitian ini dilakukan uji oksidase dan uji katalase.

Tabel 5. Uji katalase dan uji oksidase isolat bakteri pelarut fosfat

Kode Isolat	Genus Bakteri	Uji Katalase	Uji Oksidase
T1AP6	<i>Azotobacter</i>	+	+
T1BP4	<i>Azotobacter</i>	+	+
T1BP5	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T1BP6	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T1CP4	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T1CP5	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T1EP5	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T1EP6	<i>Azotobacter</i>	+	+
T2DP5	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T3AP4	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T3AP5	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T3BP5	<i>Azotobacter</i>	+	+
T3CP4	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T3DP4	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T3EP4	<i>Pseudomonas</i>	+	+
T3EP5	<i>Pseudomonas</i>	+	+

Keterangan : T1 (Tempat 1 : Glagaharjo), T2 (Tempat 2 : Kepuharjo), T3 (Tempat 3 :

Umbulharjo), P4 (Pengenceran 10^{-4}), P5 (Pengenceran 10^{-5}), P6 (Pengenceran 10^{-6}), Positif = (+), Negatif = (-)



Gambar 8. Uji Biokimia. Keterangan: A. Uji Oksidase, B. Uji Katalase

Pengujian oksidase 16 isolat bakteri pelarut fosfat menunjukkan positif dengan ciri goresan bakteri pada kertas saring yang telah di teteskan larutan kovac berubah warna

menjadi deep blue/ violet (Panjaitan et al., 2020). Uji katalase menunjukkan hasil positif pada 16 isolat bakteri pelarut fosfat dengan ciri terbentuknya gelembung oksigen ketika ditetesi H₂O₂ (hydrogen peroksida) 3% berarti bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim katalase yang dapat digunakan untuk menguraikan hydrogen peroksida (H₂O₂) menjadi oksigen (O₂) (Pelealu et al., 2017).

Selain isolasi dan identifikasi bakteri pelarut fosfat juga diperoleh data lingkungan pengambilan sampel sebagai dilakukan di tiga desa di Kecamatan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta yaitu Desa Glagaharjo, Desa Kepuharjo, Desa Umbulharjo sebagai berikut:

Tabel 6. Data lingkungan lokasi sampel tanah dan kandungan P tersedia

Lokasi	Ketinggian Lokasi (mdpl)	Suhu (°C)	Intensitas Cahaya Matahari (lux)	Kelembaban Udara (%)	pH Tanah	P ₂ O ₅ Tersedia
Desa Glagaharjo	668	24 °C	640	90%	6,5	42,28 ppm
Desa Kepuharjo	615	26 °C	462	77%	6,5	278,8 ppm
Desa Umbulharjo	688	24 °C	539	85%	6,4	208,34 ppm

Lingkungan pertumbuhan tanaman yang optimal dapat menghasilkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang optimal (Fiqa et al., 2021). Berdasarkan data lingkungan yang diperoleh terdapat perbedaan dalam kandungan P tersedia pada tanah meskipun pH tanahnya sama. Beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan ini antara lain karakteristik fisik dan kimia tanah, interaksi dengan mineral lain, aerasi tanah, pengelolaan tanah, aktivitas mikroorganisme (Okalia et al., 2020).

Tanaman kopi robusta di Desa Glagaharjo, Desa Kepuharjo, Desa Umbulharjo lokasi memiliki kondisi lingkungan sesuai dengan syarat tumbuh tanaman kopi dengan kaya akan tanah vulkanik, namun isolat bakteri pelarut fosfat yang berasal dari Desa Kepuharjo hanya ditemukan 1 isolat. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu komposisi tanah, kandungan organik tanah, kandungan mineral, aerasi tanah, kedalaman zona rizosfer, curah hujan yang berbeda dapat mempengaruhi jenis dan banyaknya bakteri yang dapat hidup didalamnya (Ducousso-Détréz et al., 2022; Janati et al., 2023).

Bakteri pada pH netral bakteri genus *Azotobacter* tidak hanya dapat melarutkan fosfat tetapi juga dapat memperbaiki tingkat nitrogen tanah, mendukung pertumbuhan tanaman dengan menyediakan nitrogen yang sangat penting untuk pertumbuhan tanaman. Bakteri genus *Pseudomonas* memiliki mekanisme pengendalian melalui mekanisme antibiosis, mampu meningkatkan ketahanan tanaman dengan menghasilkan siderofor, menghasilkan zat pengatur pertumbuhan tanaman, yang dapat meningkatkan kesehatan dan ketahanan tanaman terhadap patogen (R. S. Dewi et al., 2020). Bakteri pelarut fosfat yang ditemukan dari rizosfer tanaman kopi berpotensi menjadi pupuk hayati karena kemampuan bakteri

pelarut fosfat untuk meningkatkan jumlah fosfor terlarut (Hidayat et al., 2020). Bakteri pelarut fosfat dengan didukung lingkungan yang baik dapat memaksimalkan penerapan unsur hara P tersedia oleh tanaman kopi. Derajat keasaman (pH) sangat berpengaruh dalam ketersediaan unsur hara fosfat dalam zona rizosfer tanaman karena bakteri pelarut fosfat menghasilkan asam organik untuk melarutkan fosfat namun bersifat asam sehingga pH menjadi turun. Aktivitas metabolisme bakteri pelarut fosfat dapat menyebabkan P tersedia terikat kembali oleh unsur logam sehingga untuk memaksimalkan fungsi bakteri pelarut fosfat dibutuhkan perlakuan menaikkan pH tanah seperti pemberian kapur pertanian untuk tanah masam dan pemberian bahan/pupuk organik pada tanah alkali. Hal ini untuk menjamin unsur hara P dapat diserap secara efektif oleh tanaman (Ulfiyati & Zulaika, 2015).

KESIMPULAN

1. Terdapat bakteri pelarut fosfat sebanyak 16 isolat dari rizosfer tanaman kopi robusta di Kecamatan Cangkringan, dicirikan dengan menghasilkan zona bening ketika diinokulasi ke media Pikovskaya agar.
2. Dari hasil identifikasi isolat yang berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman kopi robusta bakteri pelarut fosfat yang ditemukan yaitu genus *Azotobacter* dan genus *Pseudomonas* dari Desa Glagaharjo, Desa Kepuharjo, dan Desa Umbulharjo

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, S. S., Ghozali, T. Z., & Efendi, M. R. S. (2023). Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan Gram. *CHEMVIRO: Jurnal Kimia Dan Ilmu Lingkungan*, 1(1), 30–35.
- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *SAIN VETERINER*, 31(2), 138–150. <https://doi.org/10.2105/ajph.45.9.1138>
- Dewi, R. S., Giyanto, G., Sinaga, M. S., Dadang, D., & Nuryanto, B. (2020). Bakteri Agens Hayati Potensial terhadap Patogen Penting pada Padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 16(1), 37–48. <https://doi.org/10.14692/jfi.16.1.37-48>
- Ducousso-Détréz, A., Fontaine, J., Sahraoui, A. L. H., & Hijri, M. (2022). Diversity of Phosphate Chemical Forms in Soils and Their Contributions on Soil Microbial Community Structure Changes. *Microorganisms*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030609>
- Fiqa, A. P., Nursafitri, T. H., Fauziah, F., & Masudah, S. (2021). Pengaruh Faktor Lingkungan Terhadap Pertumbuhan Beberapa Aksesi *Dioscorea alata* L Terpilih Koleksi Kebun Raya Purwodadi. *Jurnal AGRO*, 8(1), 25–39. <https://doi.org/10.15575/10594>
- Hidayat, F., Sembiring, Z., Afrida, E., & Balatif, F. (2020). Aplikasi Konsorsium Bakteri Penambat Nitrogen Dan Pelarut Fosfat Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Jagung (*Zea mays*). *Jurnal Tanah Dan Sumberdaya Lahan*, 7(2), 249–254. <https://doi.org/10.21776/ub.jtsl.2020.007.2.8>
- Janati, W., Bouabid, R., Mikou, K., Ghadraoui, L. El, & Errachidi, F. (2023). Phosphate Solubilizing Bacteria from Soils with Varying Environmental Conditions: Occurrence

- and function. *PLOS ONE*, 18(12), e0289127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289127>
- Lestari, W., Linda, T. M., & Martina, A. (2011). Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat Isolat Asal Sei Garo dalam Penyediaan Fosfat Terlarut dan Serapannya pada Tanaman Kedelai. *Biospecies*, 4(2), 1–5. <https://doi.org/10.22437/biospecies.v4i2.708>
- Malhotra, H., Sharma, S., & Pandey, R. (2018). *Phosphorus Nutrition: Plant Growth in Response to Deficiency and Excess Chapter 7 Phosphorus Nutrition: Plant Growth in Response to Deficiency and Excess*. July. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8>
- Okalia, D., Nopsagiarti, T., & Marlina, G. (2020). Karakteristik Sifat Kimia Tanah (pH, P-Tersedia, P-Potensial dan AL-DD) Pada Lahan Agrowisata Beken Jaya Kecamatan Benai Kabupaten Kuantan Sengingi. *Seminar Nasional Virtual Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh*, 41, 33–41.
- Panjaitan, F. J., Bachtar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian Dan Lingkungan*, 1(1), 9–17.
- Sulaeman, Suparto, & Eviati. (2005). Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air, dan Pupuk. In *Balai Penelitian Tanah*. Balai Penelitian Tanah. https://doi.org/10.30965/9783657766277_011
- Supriadi, H., Ferry, Y., & Ibrahim, M. S. D. (2018). *Teknologi Budidaya Kopi*. IAARD Press.
- Triana, Q., Wibowo, R. H., Sipriyadi, Welly, D., & Nusantara, A. D. (2019). Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat Asal Tanah Perkebunan Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) Di Kabupaten Rejang Lebong. *SEMIRATA BKS PTN WILAYAH BARAT BIDANG MIPA*, 0.
- Ulfiyati, N., & Zulaika, E. (2015). Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dari Kalimas Surabaya. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4(2), 81–83.