

## SELEKSI BAKTERI PELARUT FOSFAT DARI RHIZOSFER TANAMAN CABAI RAWIT (*Capsicum annuum* L.) DI KABUPATEN TIMOR TENGAH UTARA

**Gergonius Fallo<sup>1\*)</sup>, Lukas Pardosi<sup>2)</sup>, Agustina Yovita Boluk<sup>3)</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Timor Kefamenanu, Indonesia

\*email korespondensi: gergofallo@yahoo.com

### Abstrak

*Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU) merupakan salah satu Kabupaten di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) yang memiliki luas wilayah ± 2,669,70 km<sup>2</sup>. Kabupaten TTU memiliki lahan pertanian sebesar 97.948ha untuk budidaya tanaman termasuk cabai rawit (*Capsicum annuum* L.). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengkarakterisasi dan menyeleksi bakteri pelarut fosfat (BPF) yang berada disekitar perakaran tanaman cabai rawit. Isolasi BPF menggunakan metode gores dan metode sebar. Hasil isolasi diperoleh 20 isolat. Hasil seleksi BPF diketahui 5 isolat yaitu RTCR01, CMB02, CMB03, CMB04, dan CN04 berpotensi sebagai pelarut fosfat dan diketahui isolat CMB04 indeks pelarutan fosfat (IP) tertinggi yaitu 2,10 mm. Isolat CMB04 diketahui memiliki karakter koloni bentuk panjang, ukuran kecil, elevasi rata, dan warna putih, sedangkan bentuk sel basil.*

*Kata kunci: Bakteri Pelarut Fosfat; Cabai rawit; Isolasi; Seleksi*

### 1. PENDAHULUAN

Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU) merupakan salah satu Kabupaten di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) yang memiliki luas wilayahnya ± 2,669,70 km<sup>2</sup>. Suhu di Kabupaten TTU pada umumnya sama dengan Wilayah Provinsi NTT yaitu rata-rata 30-36°C. Kabupaten TTU memiliki lahan pertanian yang luas sebesar 97.948 ha sehingga berpotensi untuk budidaya tanaman termasuk cabai rawit (*Capsicum annuum* L.) (BPS, 2021).

Cabai rawit (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultur, sebagai jenis sayuran atau buah untuk dibudidayakan. Cabai rawit sangat dibutuhkan oleh ibu-ibu sebagai bahan pelengkap bumbu dapur dari berbagai masakan khas di Kabupaten TTU termasuk pembuatan sambal khas Timor.

Produksi cabai rawit di Kabupaten TTU setiap tahun mengalami penurunan. Tahun 2019 yaitu 23 ton/ha dan tahun 2020 8,5 ton/ha (BPS, 2021). Penurunan hasil

produksi cabai rawit di Kabupaten TTU disebabkan karena menurunnya kadar bahan organik tanah dan kelebihan penggunaan pupuk kimia. Menurut Elfiati (2005) untuk menjaga kesuburan tanah diperlukan pupuk organik dan bisa memanfaatkan bakteri pelarut fosfat.

Bakteri pelarut fosfat di kenal sebagai salah satu alternatif untuk pemupukan P (fosfor) karena kemampuannya dalam melepaskan P dari sumber P sukar larut menjadi mudah larut melalui kemampuannya mensintesis dan mensekresikan asam organik seperti asam malat, oksalat, dan glukonat. Penelitian Rahman *et al.*, (2015) mengaplikasikan mikroba pelarut fosfat dengan kombinasi kompos pada tanah yang ditanam cabai rawit diketahui meningkatkan tinggi tanaman, kualitas bobot basah dan bobot kering tanaman tersebut. Penelitian Pal (1998) mengaplikasikan *Bacillus* sp. pada tanah yang diberi pupuk fosfat dapat meningkatkan jumlah dan bobot kering pada tanaman cabai rawit.

Besarnya potensi mikroba sebagai pelarut fosfat maka diperlukan eksplorasi untuk mendapatkan bakteri tersebut sehingga dapat diterapkan di lahan pertanian Kabupaten TTU untuk meningkatkan produksi tanaman cabai rawit.

## **2. METODE PENELITIAN**

### *2.1 Waktu dan Tempat Penelitian*

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan November 2021 di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Timor.

### *2.2 Alat dan Bahan Penelitian*

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: inkubator, petridis, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, spatula, bunsen, batang pengaduk, labu erlenmyer, gelas ukur, gelas beker, autoclave, oven, timbangan analitik, hotplate, kaca objek, pipet tetes, kamera, alat tulis, linggis, sampel tanah, NaCl fisiologis 85%, media Nutrien Agar (NA), Media Pikovskaya, aquades, alkohol 70%, bahan pewarnaan gram, spiritus, tisu, kapas, plastik sampel, karet, aluminium foil, cling wrap, dan kertas label.

### 2.3. Pengambilan Sampel Tanah

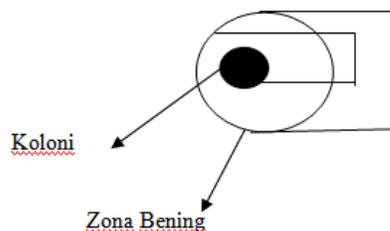
Sampel tanah diambil dari 10 titik di Kecamatan Miomaffo Barat, Insana Barat, dan Noemuti. Tiap Kecamatan di pilih 1 (satu) desa untuk pengambilan sampel tanah. Sampel tanah diambil disekitar perakaran tanaman Cabai Merah dengan kedalaman  $\pm$  5-10 cm (Fallo *et al.*, 2015), kemudian dimasukkan kurang lebih 500 gr sampel tanah ke dalam plastik sampel steril untuk isolasi bakteri di laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Timor.

### 2.4. Isolasi

Isolasi bakteri pelarut fosfat dengan metode pengenceran berseri dan disebar pada media Nutrient Agar (NA), (Widawati, 2011). Isolasi diawali dengan memasukkan sebanyak satu gram tanah ke dalam tabung berisi 10 ml larutan garam fisiologis 0.85% ditambahkan 100 mL aquades steril dan dihomogenkan dengan batang pengaduk. Selanjutnya hasil pengenceran pada konsentrasi  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  diambil 0.1 ml dan disebar pada media NA padat steril dan diinkubasi 1 x 24 jam. Karakter morfologi koloni diidentifikasi mengacu pada Holt *et al.*, (1994). Hasil pemurnian isolat selanjutnya digores pada media agar miring sebagai stok kultur untuk uji seleksi bakteri pelarut fosfat.

### 2.5. Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat

Seleksi BPF dengan cara isolat diinokulasi pada media pikovskaya dengan cara ditotol. Hasil uji isolat berkemampuan dalam melarutkan fosfat setelah di inkubasi selama 3 hari ditandai adanya zona bening.



### 3.3. Identifikasi Isolat Potensial

Identifikasi isolat potensial sebagai pelarut fosfat berupa pewarnaan gram bakteri dan uji biokimia. Pewarnaan bakteri dilakukan dengan cara satu ose biakan bakteri

murni di campur dengan aquades yang sudah diteteskan diatas kaca objek, kemudian ditambah diatas lampu bunsen. Selanjutnya ditetesi pewarnaan Kristal violet selama satu menit. Zat warna dibuang dan ditetesi iodine selama satu menit. Kemudian preparat *decolorisasi* kemudian dicuci dengan aquades dan ditetesi pewarnaan safranin selama satu menit. Pengamatan Gram bakteri menggunakan mikroskop (Putri & Kusdiyantini, 2018).

Uji Biokimia diantaranya Uji *Simons Citrat*, Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA), dan uji katalase. Uji sitrat diawali dengan pengambilan isolat bakteri sebanyak satu ose menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada media *Simons Citrat Agar*. Hasil gores diinkubasi 24-48 jam. Uji TSIA diawali dengan pengambilan isolat bakteri menggunakan jarum ose kemudian ditusuk tegak lurus dan digores dengan cara zig-zag pada media TSIA. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam. Pengamatan hasil uji setelah diinkubasi dan apabila warna media kuning menandakan asam, warna media merah menandakan basa, dan apabila warna media hitam menandakan terbentuknya H<sub>2</sub>S, dan apabila medianya terangkat maka isolat bakteri memproduksi Gas. Uji katalase dengan cara isolate perlahan dicampur menggunakan jarum ose pada gelas objek kemudian ditetesi hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas.

### **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### *3.1 Isolasi Bakteri*

Hasil isolasi BPF diperoleh 20 isolat. Ke 20 isolat tersebut diperoleh dari 3 Kecamatan yaitu Miomafo Barat diperoleh 6 isolat, Noemuti 6 isolat, dan Insana Barat 8 isolat. Hasil karakterisasi morfologi terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Pelarut Fosfat pada perakaran Cabai Rawit (*Capsicum annum L.*)

No	Lokasih Pengambilan Sampel	Kode Isolat	Karakterisasi			
			Bentuk	Ukuran	Elevase	Warna
1.	Kecamatan Miomafo Barat	CMB 01	Bulat	Besar	Rata	Putih
		CMB 02	Bulat	Kecil	Rata	Putih
		CMB 03	Rhizoid	Kecil	Rata	Putih
		CMB 04	Panjang	Kecil	Rata	Putih
		CMB 05	Panjang	Besar	Rata	Putih
		CMB 06	Bulat	Sedang	Rata	Putih
2.	Kecamatan Noemuti	CN 01	Bulat	Kecil	Rata	Putih
		CN 02	Panjang	Kecil	Rata	Putih
		CN 03	Bulat	Besar	Rata	Putih
		CN 04	Bulat	Besar	Rata	Bening
		CN 05	Rhizoid	Sedang	Rata	Bening
		CN 06	Rhizoid	Kecil	Rata	Putih
3.	Kecamatan Insana Barat	RTCR 01	Bulat	Kecil	Rata	Putih
		RTCR 02	Bulat	Kecil	Rata	Putih
		RTCR 03	Bulat	Kecil	Rata	Putih
		RTCR 04	Bulat	Besar	Rata	Putih
		RTCR 05	Panjang	Sedang	Rata	Putih
		RTCR 06	Panjang	Besar	Rata	Putih
		RTCR 07	Bulat	Besar	Rata	Putih
		RTCR 08	Bulat	Kecil	Rata	Putih

Isolasi BPF dari sampel tanah disekitar perakaran tanaman cabai merah diperoleh 20 isolat. Ditemukannya bakteri di sekitar perakaran tanaman menunjukkan bahwa bakteri sering berasosiasi dengan tanaman. Senyawa metabolit berupa eksudat yang di keluarkan oleh tanaman melalui akar dimanfaatkan oleh bakteri sebagai nutrisi, sebaliknya bakteri akan mendukung pertumbuhan tanaman melalui produksi hormon

pertumbuhan dan melarutkan unsur P dan sehingga menjadi unsur yang tersedia bagi tanaman.

Hasil isolasi diketahui jumlah isolat tiap Kecamatan bervariasi. Hal ini dikarenakan kondisi tanah dilokasi penelitian diketahui memiliki pH tanah bervariasi yaitu di Kecamatan Noemuti pH 6,5, Kecamatan Miomaffo Barat pH 6, dan di Kecamatan Insana yaitu pH 7. Zheng *et al.*, (2019) mengungkapkan bahwa semakin rendah pH suatu tanah maka kelimpahan suatu bakteri juga semakin rendah. Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan jumlah isolat bakteri yaitu eksudat dari tanaman, kadar C organik dan kadar P yang tersedia di dalam tanah. Menurut Suparnorampus *et al.*, (2020) kadar C organik dan P tersedia di dalam tanah memiliki pengaruh dengan jumlah populasi bakteri.

Hasil Karakterisasi morfologi Koloni 20 isolat dari perakaran tanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.) di tiga Kecamatan pada umumnya berbentuk (bulat), ukuran (kecil), elevase (rata), warna (putih). Menurut Irfan (2014), karakter bakteri pada perakaran tanaman umumnya memiliki bentuk koloni bulat. Selanjutnya penelitian Sari *et al.*, (2019) juga mendapatkan isolat dari sampel tanaman kedelai dan diketahui morfologi koloni berbentuk sirkular.

### 3.2 Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat

Seleksi ke 20 isolat diketahui 5 isolat memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat. Indeks pelarutan fosfat (IPF) yaitu 0,25 sampai dengan 2,10 mm. IPF tertinggi adalah isolat bakteri CMB04 dengan nilai IPF yaitu 2,10 mm, sedangkan IPF terendah adalah CN04 dengan nilai IPF yaitu 0,25mm (tabel 2).

Tabel 2. Indeks Pelarut Fosfat Isolat Bakteri

No	Kode Isolat	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Pelarut Fosfat (mm)
1.	RTCR 01	4,1	12,6	2,07
2.	CMB 02	4	7	0,75
3.	CMB 03	4,2	5,4	0,28
4.	CMB 04	4,6	14,3	2,10
5.	CN 04	6	7,5	0,25

Hasil seleksi bakteri pelarut fosfat diketahui setiap isolat dalam melarutkan fosfat berbeda-beda. Hal ini diketahui dari hasil perhitungan indeks pelarut fosfat (IP). Menurut Widawati (2011) setiap isolat bakteri dalam melarutkan fosfat tergantung jenis bakteri dimana setiap bakteri akan menghasilkan asam-asam organik yang berbeda selama pertumbuhannya. Hasil seleksi bakteri pelarut fosfat pada perakaran tanaman cabai merah menggunakan media pikovskaya. Media ini mengandung trikalsium fosfat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Adanya asam-asam organik menyebabkan terjadinya ikatan dengan ion Ca dari  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  pada media pikovskaya sehingga membebaskan  $\text{H}_2\text{PO}_4$ . Hasil seleksi ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri (Gambar 2). Adanya zona bening menunjukkan isolat tersebut dapat melarutkan fosfat.

Kemampuan dalam melarutkan fosfat ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening yang terbentuk disekeliling koloni merupakan indikasi bahwa isolat mampu melarutkan fosfat kompleks. Zona bening pada agar dapat terbentuk akibat pelarutan suspensi. Pembentukan zona bening pada medium Pikovskaya mengindikasikan bahwa mikroorganisme tersebut dapat melarutkan fosfat. Senyawa metabolit tersebut dapat berupa senyawa-senyawa gula, asam amino, asam organik, glikosida, senyawa-senyawa nukleotida, vitamin, dan enzim. Aktivitas metabolisme dan senyawa metabolit yang dilepaskan oleh tanaman ke dalam tanah melalui akar merupakan faktor yang sangat menentukan keadaan morfologi tanah pada daerah perakaran tanaman.

### *3.3. Identifikasi Isolat Potensial Sebagai Pelarut Fosfat*

Hasil Identifikasi isolate potensial sebagai pelarut fosfat secara mikroskopis dan uji biokimia terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Uji Mikroskopis dan Uji Biokimia Isolat Potensial Pelarut Fosfat

Kode Isolat	Uji Mikroskopis		Uji Biokimia		
	Reaksi Gram	Bentuk Sel	Sitrat	TSIA	Katalase
CMB 04	Negatif	Basil	+	+	+
RTCR01	Positif	Basil	+	+	+
CMB02	Negatif	Basil	+	+	+
CMB03	Negatif	Basil	+	+	+
CN04	Positif	Basil	+	+	+

Keterangan :+ (Positif)

Hasil uji mikroskopis berupa pewarnaan gram diketahui isolat CMB04, CMB02, CMB03 teridentifikasi gram negative, sedangkan isolat RTCR01 dan CN04 gram positif. Ke 5 isolat memiliki bentuk sel basil. Menurut Waluyo (2008) apabila bakteri yang teridentifikasi gram positif maka hasil pengamatan dibawah mikroskop berwarna ungu, dan bila negatif berwarna merah muda. Pewarnaan gram merupakan teknik pewarnaan untuk mengidentifikasi bakteri dengan tujuan untuk melihat bakteri secara mikroskopis seperti bentuk sel.

Hasil uji biokimia berupa Uji sitrat diketahui isolat CMB04, CMB02, CMB03, RTCR01, dan CN04 positif memfermentasi sitrat (tabel 3) dimana terjadinya perubahan warna media menjadi biru. Hasil uji positif uji sitrat menunjukkan bahwa isolat yang berpotensi sebagai pelarut fosfat berkemampuan dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Hasil uji biokimia berupa Triple Sugar Iron Agar (TSIA) di ketahui isolat CMB04, CMB02, CMB03, RTCR01, dan CN04 positif (tabel 3), dimana ditandai dengan adanya perubahan warna pada media TSIA. Menurut Sardiani *et al.* (2015) mikroorganisme dalam memfermentasikan gula yang terkandung dalam TSIA, yakni glukosa, laktosa, dan sukrosa. Perubahan warna yang diamati setelah diinkubasi adalah warnah medium menjadi kuning yang menandakan asam. Hasil penelitian Sari *et al.*, (2019) juga mendapatkan isolat bakteri dapat memfermentasi karbohidrat yang disertai dengan sintesis asam pada media TSIA sehingg terjadi perubahan warna dari merah

menjadi kuning.

Hasil uji biokimia berupa Uji katalase diketahui isolat CMB04, CMB02, CMB03, RTCR01, dan CN04 positif (tabel 3) yang ditandai adanya gelembung udara disekitar koloni bakteri. Uji atalase bertujuan untuk mengetahui enzim katalase pada isolat. Katalase adalah enzim untuk mengkatalisis hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Terbentuknya gelembung udara disekitar koloni bakteri pada media menunjukkan adanya penguraian  $H_2O_2$  menjadi gas oksigen ( $O_2$ ).

#### **4. KESIMPULAN DAN SARAN**

##### *4.1 Kesimpulan*

Isolasi bakteri pelarut fosfat dari sampel tanah disekitar perakaran tanaman cabai merah di Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU) diperoleh 20 isolat. Hasil karakterisasi morfologi koloni diketahui 6 isolat dari Kecamatan Miomafo Barat memiliki Bentuk bulat: rhizoid, panjang, Ukuran: kecil, sedang, besar, Elevase: rata, Warna: putih, bening. 6 isolat dari Kecamatan Noemuti dengan Bentuk: Bulat, panjang, rhizoid, Ukuran: kecil sedang, besar, Elevase: Rata, Warnah: putih, bening. Dan 8 isolat dari Kecamatan Insana Barat dengan Bentuk: bulat, panjang, Ukuran: kecil, sedang, besar, Elevase: Rata, Warnah putih. Hasil seleksi Bakteri Pelarut Fosfat diketahui 5 (lima) isolat berpotensi sebagai Pelarut Fosfat yaitu isolat bakteri RTCR01, CMB02, CMB03, CMB04, dan CN04. Isolat CMB04 diketahui memiliki nilai Indeks Pelarut Fosfat (IP) tertinggi yaitu 2, 10mm.

##### *4.2 Saran*

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat di sarankan untuk dilakukan penelitian lanjut yaitu mengukur kurva pertumbuhan isolat bakteri CMB04, identifikasih molekuler, dan uji isolat pada tanaman cabai merah.

#### **5. UCAPAN TERIMA KASIH**

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada lembaga Universitas Timor melalui LPPM atas dukungan dana dan fasilitas di Laboratorium Fakultas Pertanian.

**6. REFERENSI**

- BPS. (2021). *Kabupaten Timor Tengah Utara Dalam Angka 2021*.
- Elfiati, D. (2005). Peranan Mikroba Pelarut Fosfat terhadap Pertumbuhan Tanaman. *E-USU Repository*, 2(2), 1–10.
- Fallo, G., Mubarik, N. R., & Triadiati. (2015). Potency of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria from dryland in rice paddy field. *Research Journal of Microbiology*, 10(6), 246–259. <https://doi.org/10.3923/jm.2015.246.259>
- 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.
- Pal, S. S. (1998). Interactions of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant and Soil*, 198(2), 169–177. <https://doi.org/10.1023/A:1004318814385>
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6. <https://doi.org/10.14710/jbt.1.2.6-12>
- Rahman, R., Anshar, M., & Bahrudin. (2015). Aplikasi Bakteri Pelarut Fosfat, Bakteri Penambat Nitrogen dan Mikoriza Terhadap Pertumbuhan Tanaman Cabai (*Capsicum annum L.*). *E-J Agrotekbis*, 3(3), 316–328.
- Sari, E., Flatian, A. N., Sari, Z. I., & Sulaeman, E. (2019). ISOLASI DAN KARAKTERISASI Rhizobium DARI *Glycine max L.* DAN *Mimosa pudica Linn.* *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 3(2), 55–62. <https://doi.org/10.33019/ekotonia.v3i2.760>
- Suparnorampus, Pata'dungan, Y. S., & Rois. (2020). Eksplorasi bakteri pelarut fosfat pada berbagai tanaman industri dan hortikultura di dataran tinggi Napu. *Jurnal Agrotekbis*, 8(1), 25–31.
- Widawati, S. R. I. (2011). *Diversity and phosphate solubilization by bacteria isolated from Laki Island coastal ecosystem*. 12(1), 17–21. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d120104>
- Zheng, B. X., Zhang, D. P., Wang, Y., Hao, X. L., Wadaan, M. A. M., Hozzein, W. N., Peñuelas, J., Zhu, Y. G., & Yang, X. R. (2019). Responses to soil pH gradients of inorganic phosphate solubilizing bacteria community. *Scientific Reports*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37003-w>