



**POTENSI *Bacillus subtilis* DSM 10^T DAN *Pseudomonas putida* S18
SEBAGAI AGEN BIOFERTILIZER DALAM MENINGKATKAN
PERTUMBUHAN TANAMAN KOPI**

SKRIPSI

oleh

Lutfiana Qurrota A'yun

175090101111026



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021



**POTENSI *Bacillus subtilis* DSM 10^T DAN *Pseudomonas putida* S18
SEBAGAI AGEN BIOFERTILIZER DALAM MENINGKATKAN
PERTUMBUHAN TANAMAN KOPI**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam Bidang Biologi**

oleh

Lutfiana Qurrota A'yun

175090101111026



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021

**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI****POTENSI *Bacillus subtilis* DSM 10^T DAN *Pseudomonas putida* S18
SEBAGAI AGEN BIOFERTILIZER DALAM MENINGKATKAN
PERTUMBUHAN TANAMAN KOPI****LUTFIANA QURROTA A'YUN****175090101111026**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 17 Desember 2021
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui

Pembimbing

Dr. Suharjono, MS.**NIP. 19630223198802100**

Mengetahui

Ketua Program Studi S-1 Biologi

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

**Dian Siswanto, S.Si., M.Sc., M.Si., Ph.D.****NIP. 197703202005011002**



HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang menyatakan di bawah ini :

Nama : Lutfiana Qurrota A'yun
NIM : 175090101111026
Jurusan : Biologi
Penulis Skripsi berjudul : Potensi *Bacillus subtilis* DSM
10^T Dan *Pseudomonas putida*
S18 Sebagai Agen Biofertilizer
Dalam Meningkatkan
Pertumbuhan Tanaman Kopi

dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 17 Desember 2021

Yang menyatakan

Lutfiana Qurrota A'yun
175090101111026



PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutip hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



Potensi *Bacillus subtilis* DSM 10^T Dan *Pseudomonas putida* S18 Sebagai Agen Biofertilizer Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kopi

Lutfiana Qurrota A'yun, Suharjono

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya

2021

ABSTRAK

Tanaman kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Peningkatan produksi tanaman kopi pada umumnya dilakukan dengan pemberian pupuk sintetik yang menyebabkan penurunan kualitas dan produktivitas tanah pertanian. Salah satu solusi untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan penggunaan biofertilizer. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri pelarut Fosfat *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 dalam menghasilkan IAA, melarutkan fosfat, dan menambat nitrogen; serta mengetahui potensinya sebagai agen biofertilizer dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi. Penelitian meliputi subkultur isolat bakteri, uji asosiasi antarisolat, uji potensi secara kuantitatif bakteri dalam menghasilkan IAA, melarutkan fosfat, dan menambat nitrogen; serta uji aplikasi pada bibit tanaman kopi. Data dianalisis menggunakan program SPSS for Windows release v.26. Konsentrasi IAA paling tinggi dihasilkan oleh isolat S131 sebesar 28,4 µg/mL, konsentrasi fosfat terlarut paling tinggi dihasilkan oleh isolat polikultur W35+S131 sebesar 7,4 µg/mL dan isolat W35 mampu memfiksasi nitrogen sebesar 17,5 µg/mL. Aplikasi isolat polikultur W35+S131 pada Kopi Robusta dan Arabika menunjukkan nilai rata-rata pertambahan tinggi tanaman tertinggi 0,9 cm. Secara keseluruhan isolat bakteri monokultur dan polikultur berpotensi sebagai biofertilizer dengan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan kontrol.

Kata kunci : biofertilizer, Kopi Arabika, Kopi Robusta.



Potency of *Bacillus subtilis* DSM 10^T and *Pseudomonas putida* S18 as Biofertilizer Agents in Increasing the Growth of Coffee Plants

Lutfiana Qurrota A'yun, Suharjono

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,

Brawijaya University

2021

ABSTRACT

Coffee plants are one of the plantation commodities that have high economic value. Increasing the production of coffee plants is generally done by applying synthetic fertilizers which causes a decrease in the quality and productivity of agricultural land. One solution to overcome these problems is the use of biofertilizers. This study aims to determine the potency of Phosphate solubilizing bacteria *Bacillus subtilis* DSM 10^T and *Pseudomonas putida* S18 in produce IAA, solubilizing phosphate, and nitrogen fixing; as well as to know its potential as a biofertilizer agent in increasing the growth of coffee plants. The research included subculture of bacterial isolates, test of association between isolates, quantitative test of bacteria's potency in produce IAA, phosphate solubilizing, and nitrogen fixing; as well as application testing on coffee plant seeds. Data were analyzed using SPSS for Windows release v.26. The highest concentration of IAA was produced by isolate S131 at 28.4 µg/mL, the highest concentration of dissolved phosphate was produced by polyculture isolate W35+S131 at 7.4 µg/mL and isolate W35 was able to nitrogen fixing at 17.5 µg/mL. The application of W35+S131 polyculture isolate on Robusta and Arabica coffee showed the highest average plant height increase of 0.9 cm. Overall, monoculture and polyculture bacterial isolates have potential as biofertilizers with better growth than controls.

Keywords: biofertilizer, Arabica Coffee, Robusta Coffee.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya yang telah diberikan, sehingga naskah Skripsi dengan judul **“Potensi *Bacillus Subtilis* DSM-10^T Dan *Pseudomonas putida* S18 Sebagai Agen Biofertilizer Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kopi”** dapat diselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini disampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Suharjono, MS. selaku Dosen Pembimbing yang telah mendampingi, memberi pengarahan, memberikan dukungan serta tambahan ilmu yang berguna dan bermanfaat.
2. Bapak Irfan Mustafa, S.Si., M.Si., Ph.D dan Ibu Tri Ardyati, M.Agr., Ph.D selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan Skripsi.
3. Kedua orang tua saya, kakak, serta keluarga atas segala doa, dukungan dan motivasi yang tidak terkira agar Skripsi ini dapat diselesaikan.
4. Rekan-rekan Biologi Angkatan 2017 “Virion” dan seluruh civitas akademik Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

Skripsi ini merupakan pedoman dalam pelaksanaan penelitian Skripsi. Oleh karena itu sangat diharapkan kritik dan saran yang membangun guna perbaikan naskah Skripsi ini.

Malang, 17 Desember 2021

Penulis



DAFTAR ISI

ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kopi.....	4
2.2 Bakteri Rhizosfer.....	4
2.3 Biofertilizer.....	5
2.3.1 Bakteri penambat nitrogen.....	7
2.3.2 Bakteri penghasil IAA.....	9
2.3.2 Bakteri pelarut fosfat.....	11
BAB III	13
METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat.....	13
3.2 Subkultur dan Karakterisasi Morfologi <i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 ^T dan <i>Pseudomonas putida</i> S18.....	13
3.3 Uji Asosiasi Antara Kedua Spesies Bakteri.....	14
3.4 Uji Potensi Bakteri dalam Produksi IAA.....	14
3.5 Uji Potensi Bakteri dalam Melarutkan Fosfat.....	15
3.6 Uji Potensi Bakteri dalam Menambat Nitrogen.....	16
3.7 Uji Aplikasi Biofertilizer Pada Bibit Tanaman Kopi Robusta dan Arabika.....	16
BAB IV	18



HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Karakteristik Morfologi <i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 ^T dan <i>Pseudomonas putida</i> S18.....	18
4.2 Asosiasi Antara Kedua Spesies Bakteri	19
4.3 Potensi Bakteri Penghasil IAA.....	20
4.4 Potensi Bakteri dalam Melarutkan Fosfat	21
4.5 Potensi Bakteri dalam Menambat Nitrogen	22
4.6 Pengaruh Aplikasi Biofertilizer Pada Bibit Tanaman Kopi Robusta dan Arabika	24
BAB V	26
KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	31



DAFTAR TABEL

Nomor Halaman

1. Karakteristik morfologi koloni dan sel bakteri.....18

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Daur Nitrogen.....	9
2.	Cat Gram Isolat Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 ^T (A) dan <i>Pseudomonas putida</i> S18 (B).....	19
3.	Asosiasi antara dua isolat <i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 ^T dan <i>Pseudomonas putida</i> S18.....	20
4.	Konsentrasi hormon IAA yang diproduksi oleh bakteri rhizosfer pada variasi waktu.....	21
5.	Konsentrasi fosfat terlarut yang dihasilkan oleh bakteri rhizosfer pada variasi waktu.....	22
6.	Konsentrasi amonia yang dihasilkan oleh bakteri rhizosfer pada variasi waktu.....	23
7.	Pertambahan tinggi tanaman Kopi Arabika dan Robusta.....	24
8.	Berat basah dan berat kering tanaman Kopi Arabika dan Robusta.....	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kurva standar produksi IAA, pelarut fosfat, dan produksi ammonia.....	31
1.1 Kurva standar produksi IAA.....	31
1.2 Kurva standar fosfat.....	31
1.3 Kurva standar amonia.....	32
2. Hasil analisis uji potensi bakteri Penghasil IAA.....	32
3. Hasil analisis uji potensi bakteri pelarut fosfat.....	34
4. Hasil analisis uji potensi bakteri penambat Nitrogen.....	35
5. Hasil analisis Uji Aplikasi Bipfertilizer pada tanaman Kopi Robusta dan Arabika.....	36
5.1 Hasil analisis penambahan tinggi tanaman Kopi Arabika.....	36
5.2 Hasil analisis penambahan tinggi tanaman Kopi Robusta.....	37
5.3 Hasil analisis berat basah tanaman Kopi Arabika.....	38
5.4 Hasil analisis berat kering tanaman Kopi Arabika.....	39
5.5 Hasil analisis berat basah tanaman Kopi Robusta.....	40
5.6 Hasil analisis berat kering tanaman Kopi Robusta.....	41
6. Kurva pertumbuhan bakteri.....	42
6.1 Kurva pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 ^T (isolate S131).....	42
6.2 Kurva pertumbuhan <i>Pseudomonas putida</i> S18 (isolat W35).....	43
7. Bibit tanaman Kopi Robusta dan Arabika pada uji Aplikasi Biofertilizer.....	43



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
Al	Aluminium
Ca	Calcium
Fe	Besi
G	Gram
IAA	<i>Indole Acetic Acid</i>
K	Kalium
Mg	Magnesium
N	Nitrogen
N ₂	Dinitrogen
Na	Natrium
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NB	<i>Nutrient Broth</i>
Nfb	<i>Nitrogen- Free Bromothymol blue Malate</i>
NH ₃	Amonia
NH ₄	Ammonium
OD	<i>Optical Density</i>
P	Fosfor
PGPR	<i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i>
PKV	<i>Picovskaya agar</i>
rpm	<i>revolutions per minute</i>
S	Sulfur
<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Nama Unit</u>
μL	Mikroliter
mL	Mililiter
nm	Nanometer
°C	Derajat Celcius



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu minuman yang sering dikonsumsi oleh Masyarakat Indonesia. Tanaman kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomi tinggi di dunia. Dua varietas kopi yang sering dibudidayakan dan memiliki nilai konsumsi yang cukup tinggi yaitu Kopi Arabika dan Kopi Robusta. Tingginya tingkat konsumsi kopi tersebut mengakibatkan meningkatnya produksi kopi yang tinggi pula. Peningkatan produksi kopi dapat dilakukan dengan cara mengoptimalkan pemberian nutrisi dengan penggunaan pupuk sintetis pada tanaman kopi. Namun demikian, permasalahan umum yang dihadapi petani kopi di Indonesia adalah adanya keterbatasan daya beli terhadap pupuk kimia sehingga biasanya pupuk yang diberikan pada tanaman relatif sedikit, serta penggunaan pupuk sintetis dapat menyebabkan penurunan kualitas dan produktivitas tanah. Salah satu solusi untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan penggunaan pupuk organik dan atau pupuk hayati. Penggunaan bahan organik dapat memberikan pengaruh positif pada perbaikan sifat fisikokimia tanah sehingga dapat mendukung pertumbuhan dan produktivitas hasil tanaman. Biaya pupuk untuk pemeliharaan tanaman menjadi lebih murah serta berdampak positif bagi pertumbuhan dan hasil tanaman kopi. Selain itu, penggunaan pupuk hayati dapat dengan mudah mengubah senyawa organik kompleks menjadi sederhana, mempercepat serapan mineral oleh tanaman, merangsang pertumbuhan tanaman, serta memberikan ketahanan tanaman terhadap kekeringan dan penyakit (Khan dkk., 2018; Sobari dkk., 2018).

Khan dkk. (2018) menyatakan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) merupakan bakteri pemacu pertumbuhan tanaman. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* banyak digunakan sebagai agen pupuk hayati. Salah satu agen yang dapat dijadikan sebagai pupuk hayati yaitu bakteri rhizosfer yang memiliki kemampuan dalam memacu pertumbuhan tanaman. *Plant Growth Promoting*



Rhizobacteria berfungsi untuk meningkatkan penambatan nitrogen, sintesis fitohormon, melarutkan mineral seperti fosfor dalam akar tanaman (Diyansah dkk., 2013). Potensi mikroorganisme utama PGPR yaitu penambat nitrogen, pelarut fosfat dan produksi IAA yang merupakan sumber utama pupuk hayati. Mikroorganisme yang memiliki potensi sebagai agen biofertilizer adalah bakteri *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, bakteri fotosintetik, bakteri penambat nitrogen, jamur *Trichoderma* dan khamir. Pupuk hayati memiliki potensi besar karena merupakan sumber hara tanaman yang terbarukan dan ramah lingkungan (Jain, 2019).

Penelitian sebelumnya oleh Yuliatin (2020) telah ditemukan dua isolat bakteri *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 asal rhizosfer tanaman Kopi Robusta dan Arabika UB Forest, Malang. Dua spesies bakteri tersebut digunakan dalam penelitian ini karena pada penelitian sebelumnya telah diketahui memiliki potensi dalam melarutkan fosfat. Oleh karena itu, dua isolat bakteri tersebut menjadi dasar dalam penelitian ini untuk diuji potensi lainnya yaitu dalam menghasilkan IAA dan menambat nitrogen serta penerapannya sebagai pupuk hayati dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana potensi *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 dalam menghasilkan IAA, melarutkan fosfat, dan menambat nitrogen?
2. Bagaimana potensi *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 secara monokultur dan polikultur dalam memacu pertumbuhan tanaman Kopi Robusta dan Arabika?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui potensi *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 dalam menghasilkan IAA, melarutkan fosfat, dan menambat nitrogen.
2. Mengetahui potensi *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 secara monokultur dan polikultur



dalam memacu pertumbuhan tanaman Kopi Robusta dan Arabika.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari hasil penelitian ini yaitu dapat meningkatkan wawasan pengetahuan dan pengalaman dalam pengembangan agen biofertilizer untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penelitian ini juga bermanfaat dalam meminimalisir penggunaan pupuk kimia sehingga dapat mendukung sistem pertanian organik berkelanjutan. Pengurangan penggunaan pupuk kimia tersebut bermanfaat dalam menjaga kelestarian lingkungan sehingga tanah tidak tercemar dan meningkatkan kesuburan tanah.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kopi

Konsumsi kopi dunia secara keseluruhan berasal dari Kopi Arabika (70%) dan Kopi Robusta (26%). Kopi Arabika berasal dari Afrika, yaitu dari pegunungan di Etiopia dan baru dikenal oleh masyarakat dunia setelah tanaman tersebut dikembangkan di luar daerah asalnya yaitu Yaman. Dengan adanya tingkat konsumsi kopi yang tinggi, untuk memenuhi permintaan banyak negara telah dilakukan praktik pertanian intensif dengan penggunaan pupuk kimia dan serangkaian perlakuan kimia untuk membasmi hama (insektisida, pestisida, fungisida) yang memiliki dampak negatif terhadap lingkungan. Dampak penggunaan pupuk kimia secara terus menerus yaitu dapat menyebabkan penurunan kualitas dan produktivitas tanah. Selain itu, penggunaan pupuk kimia pada tanaman memerlukan biaya yang banyak dan mahal (Khan dkk., 2018).

Mikrobioma tanah cukup beragam dengan sekitar 6.400-38.000 taksa per gram tanah. Aneka ragam spesies mikrobioma tanah telah dianggap memberikan manfaat yang berkelanjutan, dengan peningkatan beraneka ragam spesies mikrobioma tanah dapat memberikan ketahanan terhadap stres, gangguan, dan perubahan kondisi struktur tanah. Oleh karena itu bakteri yang berada di sekitar akar tanaman kopi banyak dimanfaatkan dan juga memiliki potensi sebagai pupuk hayati untuk memacu pertumbuhan tanaman tanpa memerlukan pupuk kimia yang berlebihan (Caldwell dkk., 2015).

2.2 Bakteri Rhizosfer

Rhizosfer adalah suatu zona lingkungan mikro yang berada di sekitar perakaran tanaman. Rhizosfer juga merupakan habitat dari berbagai mikorganismen dan dianggap sebagai salah satu ekosistem paling kompleks di Bumi. Mikroorganismen yang berada pada zona rhizosfer salah satunya yaitu bakteri rhizosfer. Bakteri rhizosfer terdapat pada daerah perakaran tanaman yang diketahui memiliki keanekaragaman



tinggi dan paling kompleks. Keanekaragaman bakteri rhizosfer yang tinggi, terutama *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) secara langsung dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui produksi fitohormon, pelarutan hara, serta fiksasi dan metabolisme nitrogen. Selain itu, PGPR juga dapat menekan bakteri patogen yang dapat merusak tanaman. Jumlah bakteri di dalam tanah dipengaruhi oleh berbagai faktor yang dapat memengaruhi pertumbuhannya, seperti suhu, kelembaban, aerasi dan sumber energi atau nutrisi berupa bahan organik. Secara umum populasi bakteri yang terbesar terdapat di bagian permukaan atau 15-25 cm dari permukaan tanah. Mikroorganisme tanah lebih banyak ditemukan pada permukaan tanah karena banyak tersedia bahan nutrisi yang mendukung pertumbuhannya (Dong dkk., 2019). Umumnya, mikroorganisme pada rhizosfer adalah bakteri *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, bakteri fotosintetik, bakteri pengikat nitrogen, jamur *Trichoderma* dan khamir.

Bakteri rhizosfer mampu menghasilkan efek positif bagi tanaman dan umumnya sekitar 2-5% dari bakteri rhizosfer merupakan PGPR. Populasi mikroorganisme di area rhizosfer umumnya lebih banyak dan beraneka ragam dibandingkan pada tanah nonrhizosfer. Beberapa mikroorganisme rhizosfer berperan dalam siklus hara, proses pembentukan tanah, memengaruhi aktivitas mikroorganisme, pertumbuhan tanaman, serta sebagai pengendali hayati terhadap penyakit pada akar. Kemampuan tanah untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman didasarkan pada keberadaan dan keseimbangan banyak senyawa seperti Fosfor (P), Kalium (K), Sulfur (S), dan Natrium (Na). Bakteri bermanfaat untuk merombak dan mendaur ulang unsur ini (Beneduzi dkk., 2012).

2.3 Biofertilizer

Biofertilizer atau dikenal sebagai pupuk hayati dapat didefinisikan sebagai zat yang mengandung mikroorganisme hidup yang menempati rhizosfer atau interior tanaman untuk meningkatkan pertumbuhan dengan cara meningkatkan pasokan atau ketersediaan nutrisi primer untuk pertumbuhan tanaman ketika diterapkan pada biji, permukaan



tanaman, atau tanah. Pupuk hayati lebih dikenal dengan sebutan mikroorganisme inokulan, adalah biakan hasil perbanyakan mikroorganisme tanah tertentu yang dapat meningkatkan kesuburan tanah dan produktivitas tanaman (Jain, 2019). Berdasarkan penerapan biofertilizer tersebut pada tanaman akan membentuk koloni pada bagian rhizosfer atau bagian dalam tanaman dan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan menambah ketersediaan nutrisi utama bagi tanaman. Produk yang mengandung komposisi (padat atau cair) berbasis mikroorganisme hidup seperti biofertilizer ini berguna dalam bidang pertanian misalnya sebagai pemfiksasi nitrogen, pelarut fosfor atau zat pengatur tumbuh dan nutrisi untuk meningkatkan produktivitas tanah dan tanaman. Biofertilizer umumnya memiliki manfaat sama seperti pupuk kimia yaitu menyediakan unsur hara N, P, K atau unsur hara dan substansi lainnya (hormon pertumbuhan) untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman (Simiyu dkk., 2013).

Terdapat banyak spesies bakteri tanah yang berkoloni terutama di rizosfer tumbuhan dan bakteri tersebut secara kolektif dikenal sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Beberapa PGPR mendorong pertumbuhan dengan bertindak sebagai agen pupuk hayati. Mikroorganisme terutama penambat nitrogen dan pelarut fosfat merupakan sumber utama pupuk hayati. Pupuk hayati memiliki potensi yang besar sebagai sumber hara tanaman yang terbarukan dan ramah lingkungan. Selain itu, digunakan sebagai formulasi dari mikroorganisme hidup yang bermanfaat ketika diaplikasikan pada benih, akar atau tanah, dapat memobilisasi ketersediaan nutrisi terutama oleh aktivitas biologisnya, membantu membangun mikroflora yang hilang dan meningkatkan kesehatan tanah secara umum. Pupuk hayati adalah sediaan yang mengandung sel mikroorganisme yang dapat berupa penambat nitrogen, pelarut fosfat, pengoksidasi belerang, atau pengurai bahan organik yang dapat bermanfaat dalam meminimalisir penggunaan pupuk sintetik (Jain, 2019).



2.3.1 Bakteri penambat nitrogen

Bakteri penambat nitrogen (NFB) merupakan mikroorganisme simbiotik dan nonsimbiotik. Bakteri simbiotik dapat hidup bebas dan menginfeksi akar legum membentuk nodul akar. Bakteri non-simbiotik (*Azotobacter* dan *Azospirillum*) dapat hidup bebas di berbagai jenis tanah dan rhizosfer. Bakteri ini dapat dikaitkan dengan berbagai jenis tanaman yang tumbuh di berbagai jenis lingkungan. Bakteri penambat nitrogen non simbiotik mampu melakukan penambatan atau fiksasi nitrogen tanpa melakukan simbiosis dengan tanaman. Nitrogen digunakan sebagai penyusun nukleotida dan nukleosida. Nitrogen merupakan nutrisi yang sedikit tersedia dalam tanah sehingga perlu adanya sumber nitrogen eksogen dari atmosfer (Israwan dkk., 2015).

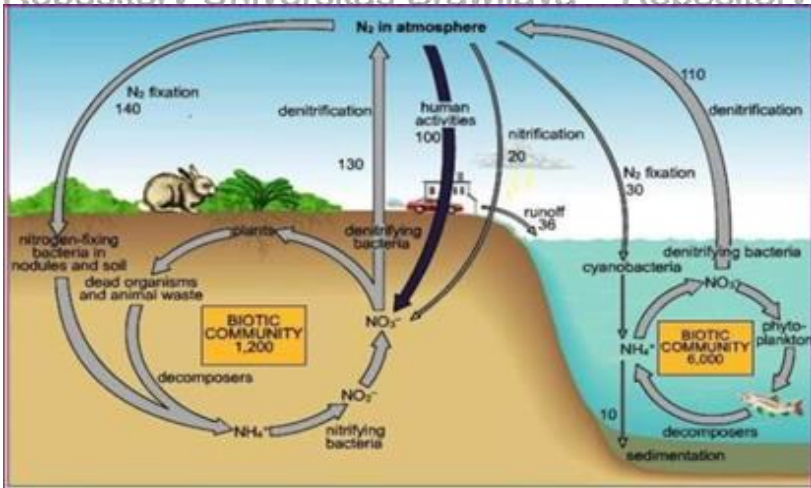
Keberadaan bakteri penambat nitrogen dalam tanah dipengaruhi oleh kesuburan tanah, pH, kandungan Karbon (C), Nitrogen (N), Fosfor (P), Kalium (K), unsur hara mikro, dan aerasi tanah. Beberapa jenis NFB dapat beradaptasi dengan berbagai habitat dengan suhu yang bervariasi, keasaman, dan tekanan oksigen ekstrim. Mikroorganisme memainkan peran penting dalam mineralisasi unsur makro dan mikro untuk pertumbuhan tanaman serta dalam metabolisme dan perkembangan tanaman. Nitrogen adalah senyawa penting dalam tanah untuk meningkatkan siklus biogeokimia dan aktivitas mikroorganisme pada rhizosfer tanaman yang tumbuh di tanah. Oleh karena itu, bakteri penambat nitrogen (*Rhizobium*, *Azotobacter*, dan *Azospirillum*) dianggap sebagai komponen penting untuk bahan dasar pupuk hayati, untuk merangsang pertumbuhan tanaman melalui penanaman kembali lahan terdegradasi (Widawati & Suliasih, 2019).

Sumber nitrogen bagi tanaman yaitu N_2 di atmosfer. Bentuk N_2 nitrogen tidak dapat langsung dimanfaatkan tanaman dan terlebih dahulu diubah menjadi nitrat atau amonium sehingga tersedia bagi tanaman. Nitrifikasi adalah proses oksidasi amonia menjadi nitrit kemudian menjadi nitrat secara biologis oleh bakteri autotrof. Bakteri autotrof yang melakukan proses nitrifikasi membutuhkan senyawa anorganik sebagai sumber energi dan karbondioksida sebagai sumber



karbon. Nitrifikasi melalui dua tahapan reaksi, yaitu tahap pertama oksidasi amonium menjadi nitrit yang dilakukan oleh mikroorganisme pengoksidasi amonium, pada tahap kedua oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh mikroorganisme pengoksidasi nitrit (Hutapea & Joseva, 2018).

Nitrifikasi adalah suatu proses oksidasi senyawa nitrogen tereduksi oleh mikroorganisme menjadi nitrit dan selanjutnya oksidasi nitrit menjadi nitrat. Pengubahan nitrat dan nitrit menjadi gas nitrogen dilakukan melalui proses denitrifikasi. Bakteri penambat N_2 dapat mengonversi N_2 menjadi ammonia (NH_3) (Gambar 1). Ammonia selanjutnya dimetabolisme oleh mikroorganisme dan tanaman menjadi protein sebagai salah satu penyusun tubuhnya. Nitrogen organik yang terikat dalam tubuh mahluk hidup yang sudah mati akan dirombak oleh detritivora. Perombakan serasah organik dilanjutkan dengan pelapukan oleh mikroorganisme sehingga terjadi perubahan N-organik menjadi N-anorganik melalui proses ammonifikasi dan mineralisasi N oleh bakteri nitrifikasi membentuk senyawa nitrat. Nitrat kemudian diabsorpsi oleh mikroorganisme maupun tanaman dan diubah menjadi N-organik, atau nitrat juga dapat mengalami denitrifikasi pada suasana reduktif menjadi gas N_2 . Fiksasi N_2 dari atmosfer merupakan proses biologi terpenting kedua setelah fotosintesis. Dalam proses tersebut terjadi reduksi gas N_2 menjadi dua molekul ammonia yang dilakukan oleh mikroorganisme yang memiliki enzim nitrogenase. Fiksasi N_2 dapat terjadi secara simbiosis antara tanaman legum dengan rhizobia penambat N_2 . Proses tersebut dapat menyumbangkan lebih dari 100 juta m^3 ton N per tahun dan memenuhi 66 % kebutuhan nitrogen untuk lahan pertanian (Hutapea & Joseva, 2018).



(Laimheheriwa, 2017)

Gambar 1. Daur Nitrogen

2.3.2 Bakteri penghasil IAA

Indole acetic acid (IAA) merupakan auksin yang dihasilkan tumbuhan. *Indole acetic acid* (IAA) memiliki peran penting dalam sejumlah aktivitas tumbuhan seperti pembentukan daun, perkembangan embrio, inisiasi dan perkembangan akar, absisi (gugurnya daun), fototropisme, geotropisme, dan perkembangan buah. *Indole acetic acid* (IAA) dapat membantu dalam peningkatan panjang akar dengan peningkatan jumlah cabang akar, rambut akar dan akar lateral yang membantu dalam penyerapan nutrisi dari sekitarnya (Chandra dkk., 2018).

Hormon IAA merupakan produk umum dari metabolisme L-tryptophan yang diproduksi oleh beberapa mikroorganisme termasuk *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Mikroorganisme yang diisolasi dari daerah rhizosfer berbagai tanaman memiliki kemampuan menghasilkan IAA sebagai metabolit sekunder karena persediaan substrat yang kaya. *Indole acetic acid* (IAA) dapat membantu memproduksi akar yang lebih panjang dengan peningkatan jumlah rambut akar dan akar lateral yang terlibat dalam penyerapan nutrisi. *Indole acetic acid* (IAA) menstimulasi pemanjangan sel dengan



memodifikasi kondisi tertentu seperti kondisi dalam meningkatkan kandungan osmotik sel, meningkatkan permeabilitas air ke dalam sel, menurunkan tekanan dinding sel, dan meningkatkan sintesis dinding sel (Mohite, 2013).

Hormon auksin yang dihasilkan oleh tumbuhan disebut IAA endogen, sedangkan IAA eksogen ialah hormon auksin yang dihasilkan oleh organisme selain tumbuhan. Auksin endogen diproduksi di meristem tanaman, diperlukan saat pemanjangan sel, suatu proses sebelum diferensiasi sel. Auksin juga berfungsi meningkatkan elastisitas sel sedangkan IAA eksogen konsentrasi rendah diperlukan dalam memperbaiki mutu tunas dan pembentukan akar. Sejumlah bakteri tanah memegang peranan penting dalam proses penguraian senyawa organik yang berfungsi dalam pertumbuhan suatu tanaman. Bakteri tanah yang mampu menghasilkan hormon tanaman akan merangsang pertumbuhan tanaman menjadi lebih baik, dan tanaman akan menyerap hormon dari bakteri tersebut melalui akar tanaman. Terdapat beberapa bakteri yang dapat menghasilkan IAA diantaranya *Pseudomonas* sp. dan *Azotobacter* sp. Bakteri *Azotobacter* sp. dapat memfiksasi N menjadi amonium dan menghasilkan fitohormon. Selain itu bakteri *Azotobacter* sp. dapat pula memperbaiki tajuk, tinggi tanaman dan panjang akar tanaman. Selain menghasilkan hormon tumbuh seperti IAA, bakteri juga mampu menghasilkan vitamin dan berbagai asam organik yang berfungsi merangsang pertumbuhan bulu-bulu akar. Bakteri penghasil hormon tumbuh dapat diaplikasikan dalam pembuatan pupuk hayati. Penggunaan pupuk hayati pada pertanian modern saat ini sangat dibutuhkan karena pada kenyataannya penggunaan pupuk kimia dapat membawa dampak negatif bagi kondisi tanah dan lingkungan. Penggunaan pupuk hayati mampu memperbaiki tingkat kesuburan tanah karena tidak meninggalkan residu pada tanah. Selain itu pupuk hayati juga mampu memacu pertumbuhan tanaman dan meningkatkan produktivitas tanaman (A'ini, 2013).



2.3.3 Bakteri pelarut fosfat

Bakteri pelarut fosfat merupakan kelompok bakteri tanah yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat yang terfiksasi dalam tanah dan mengubahnya menjadi bentuk yang tersedia sehingga dapat diserap oleh tanaman. Pelarutan fosfat dapat disebabkan oleh adanya sekresi asam organik oleh bakteri tersebut seperti asam formiat, asetat, propionat, laktat, glikolat, fumarat, tartarat, ketobutirat, suksinat dan sitrat. Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri yang bersifat non patogenik dan termasuk dalam kategori bakteri pemacu pertumbuhan tanaman. Bakteri tersebut diketahui mampu menghasilkan vitamin dan fitohormon yang dapat memperbaiki pertumbuhan akar tanaman dan meningkatkan serapan unsur hara. Bakteri pelarut fosfat sering digunakan sebagai agen pupuk hayati untuk meningkatkan serapan fosfat oleh tanaman sehingga meningkatkan hasil tanaman (Widawati dkk., 2010; Muzakhar dkk., 2015).

Pelarutan fosfat oleh aktivitas bakteri pelarut fosfat terjadi pada saat perubahan kelarutan senyawa fosfat organik yang menghasilkan asam-asam organik (asam sitrat, glutamat dan suksinat) dan bereaksi dengan Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} atau Mg^{2+} membentuk kompleks stabil serta membebaskan ion fosfat terikat menjadi tersedia bagi tanaman. Bakteri pelarut fosfat menghasilkan enzim fitase dan enzim fosfatase penghasil asam-asam organik yang dapat memineralisasi fosfat organik dalam tanah. Enzim fosfatase atau fosfomonoesterase (PMEase) dipengaruhi oleh adanya reaksi asam dan basa dalam tanah serta akan memengaruhi transformasi fosfat yang disintesis oleh bakteri pelarut fosfat dalam tanah. Enzim-enzim tersebut juga bertanggung jawab pada proses hidrolisis fosfat organik menjadi fosfat anorganik yang tersedia bagi tanaman. Mikroorganisme tersebut juga memproduksi asam amino, vitamin dan *growth promoting substance* seperti IAA dan asam giberelin yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Enzim-enzim tersebut juga bertanggung jawab pada proses hidrolisis fosfat organik menjadi fosfat anorganik yang tersedia bagi tanaman. Beberapa mikroorganisme telah diketahui memainkan peran penting dalam



melarutkan fosfat adalah bakteri, jamur dan *Actinomycetes*. Kelompok bakteri yang memiliki potensi dalam melarutkan fosfat antara lain adalah *Bacillus firmus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus polymixa*, *Bacillus megatherium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, dan *Mycobacterium* (Kustyaningsih, 2003; Arfarita dkk., 2017).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dengan judul “Potensi *Bacillus Subtilis* DSM 10^T Dan *Pseudomonas Putida* S18 Sebagai Agen Biofertilizer Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kopi” ini dilaksanakan pada bulan Maret-Agustus 2021. Penelitian uji potensi bakteri berlangsung di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. Uji aplikasi biofertilizer pada tanaman kopi dilakukan di dalam ruangan dengan pencahayaan dan sirkulasi udara yang cukup menyerupai *Green House*.

3.2 Subkultur dan Karakterisasi Morfologi *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18

Isolat bakteri *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 asal rhizosfer tanaman Kopi Robusta dan Arabika UB Forest, Malang yang sebelumnya telah diidentifikasi oleh Yuliatin (2020), kemudian dilakukan pemurnian kembali dengan *streak* empat kuadran pada Cawan Petri berisi Media NA. Diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi koloni bakteri yang tumbuh dengan karakteristik meliputi bentuk koloni, bentuk tepi, permukaan elevasi, permukaan tekstur, permukaan konsistensi, dan ciri optik.

Morfologi sel bakteri diamati dengan pewarnaan Gram. Satu sampai dua tetes aquades steril disuspensikan hingga homogen dengan isolat bakteri pada *slide glass*, kemudian dikeringanginkan. Preparat difiksasi di atas api bunsen, kemudian ditetesi dengan larutan kristal violet (Gram A), dan didiamkan selama satu menit, kemudian dicuci menggunakan aquades dan dikeringanginkan. Preparat kemudian ditetesi dengan larutan iodin (Gram B) dan didiamkan selama dua menit, dicuci menggunakan aquades dan dikeringanginkan. Preparat kemudian ditetesi dengan larutan etanol 95% (Gram C) selama 30 detik, dicuci menggunakan aquades dan dikeringanginkan. Setelah itu preparat



ditetesi dengan larutan safranin (Gram D) atau zat penutup dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan akuades dan dikeringanginkan. Morfologi sel bakteri diamati dengan menggunakan mikroskop. Indikasi pewarnaannya yaitu bakteri Gram positif berwarna violet dan bakteri Gram negatif berwarna merah. Bentuk sel bakteri tersebut dicatat dan difoto, misalnya berbentuk bulat (*coccus*), batang (*bacil*), serta bergelombang (*spiral*). Isolat bakteri yang telah murni kemudian diinokulasi pada Media NA *slant* sebagai kultur stok (Nurhidayati dkk., 2015).

3.3 Uji Asosiasi Antara Kedua Spesies Bakteri

Kedua isolat bakteri rhizosfer *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131) dan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35) diuji asosiasi pertumbuhan secara kualitatif untuk mengetahui kompatibilitasnya sehingga memungkinkan untuk dibuat dalam bentuk polikultur ketika diaplikasikan pada tanaman. Isolat bakteri masing-masing diambil sebanyak 1-2 ose dan digoreskan pada Cawan Petri berisi medium NA. Isolat bakteri digoreskan secara bersinggungan satu dengan lainnya hingga isolat bertemu dalam satu titik. Kultur bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Diamati zona bening pada titik temu di antara dua isolat yang bersinggungan. Asosiasi positif ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening atau zona hambat. Isolat dikatakan kompatibel apabila tidak terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat dan dikatakan tidak kompatibel apabila terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat tersebut (Sugianto dkk., 2018).

3.4 Uji Potensi Bakteri dalam Produksi IAA

Uji potensi bakteri penghasil IAA *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131) dan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35) secara kuantitatif dilakukan dengan tiga perlakuan yaitu W35, S131, dan W35+S131 serta kontrol masing-masing sebanyak 3 ulangan. Sebanyak 2,5 mL isolat bakteri berumur 15 jam yang telah disetarakan densitasnya ($OD=0,5$ pada $\lambda=550$ nm) ditumbuhkan dalam 25 mL media *Tryptic Soy Borth* (TSB) yang mengandung 200 $\mu\text{g/mL}$ Triptofan. Kultur diinkubasikan pada suhu 30°C selama 72 jam dalam *rotary shaker*. Suspensi kultur disampling pada waktu inkubasi 0, 24, 48, dan 72 jam untuk mengukur



konsentrasi IAA yang diproduksi. Kultur masing-masing diambil sebanyak 3 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm, suhu 30° C, selama 10 menit. Supernatan diambil 2 mL dan direaksikan dengan *Reagen Salkowski* sebanyak 4 mL. Suspensi diinkubasikan pada tempat gelap selama satu jam dan diamati perubahan warnanya, hasil positif ditandai adanya perubahan warna pada media menjadi merah muda. Intensitas warna yang terbentuk diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 535$ nm. Absorbansi yang diperoleh dihitung berdasarkan persamaan pada kurva standar IAA dan data dianalisis *Two-way ANOVA* univariat kemudian untuk menentukan kemampuan isolat paling tinggi memproduksi IAA diuji *Tukey* menggunakan *SPSS for windows release v.26* (Yuliatin, 2020).

3.5 Uji Potensi Bakteri dalam Melarutkan Fosfat

Uji potensi bakteri pelarut fosfat *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131) dan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35) secara kuantitatif dilakukan dengan tiga perlakuan yaitu W35, S131, dan W35+S131 serta kontrol masing-masing sebanyak 3 ulangan. Kultur sebanyak 10 mL (10%) ditumbuhkan pada 100 mL media *Pikovskaya broth*. Kultur diinkubasikan dalam *rotary shaker* pada suhu 30° C dengan kecepatan 120 rpm selama 72 jam dan disetarakan densitasnya pada $\lambda=540$ nm. Kultur diambil sebanyak 10% dan diinokulasikan pada 100 mL media *Pikovskaya broth* yang mengandung 0,5% trikalsium fosfat (TCP) dan nilai pH media telah dinetralkan sebelum diinokulasi. Kultur diinkubasikan dalam *rotary shaker* pada suhu 30° C dengan kecepatan 120 rpm selama 72 jam. Suspensi kultur disampling pada waktu inkubasi 0, 24, 48, dan 72 jam serta diukur nilai pH akhir media. Kultur diambil sebanyak 3 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm, suhu 30° C selama 20 menit. Supernatan diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan larutan amoniummolibdat 10 mL dan asam klorostan 0,1 mL ditera hingga volume 50 mL. Intensitas warna biru yang terbentuk pada media diukur dengan spektrofotometer pada $\lambda=660$ nm. Absorbansi yang diperoleh dihitung berdasarkan persamaan pada kurva standar fosfat dan data dianalisis *Two-way ANOVA* univariat kemudian



untuk menentukan kemampuan isolat paling tinggi dalam melarutkan fosfat diuji *Tukey* menggunakan *SPSS for windows release v.26* (Yuliatin, 2020).

3.6 Uji Potensi Bakteri dalam Menambat Nitrogen

Uji potensi bakteri penambat nitrogen *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131) dan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35) secara kuantitatif dilakukan dengan tiga perlakuan yaitu W35, S131, dan W35+S131 serta kontrol masing-masing sebanyak 3 ulangan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode Nesslerisasi, yaitu kultur starter masing-masing isolat diambil sebanyak 5 mL (10^7 sel/mL) dan ditumbuhkan dalam media *Nfb broth* sebanyak 50 mL. Kultur diinkubasikan pada suhu 30° C dalam *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama tujuh hari. Suspensi kultur disampling pada waktu inkubasi 0, 1, 3, 5, dan 7 hari untuk pengukuran produksi amonia. Kultur diambil sebanyak 2 mL kemudian ditambah dengan larutan $ZnSO_4$ 0,01 mL dan NaOH 2N 2,5 μ L. Suspensi diinkubasi pada suhu ruang hingga terbentuk endapan dan kultur berubah warna menjadi bening. Sampel disentrifugasi pada suhu 30° C, dengan kecepatan 10.000 rpm, selama 15 menit. Supernatan diambil sebanyak 1 mL dan direaksikan dengan Reagen Nessler 1 mL, ditera hingga 10 mL. Sampel diinkubasi selama 30 menit hingga terjadi perubahan warna pada suspensi menjadi kekuningan dan intensitas warna suspensi diukur menggunakan spektrofotometer dengan $\lambda = 425$ nm. Absorbansi yang diperoleh dihitung berdasarkan kurva standar amonia dan untuk mengetahui interaksi antar perlakuan, data dianalisis *Two-way ANOVA* univariat kemudian untuk menentukan kemampuan isolat paling tinggi sebagai penambat nitrogen diuji *Tukey* menggunakan *SPSS for windows release v.26* (Yuliatin, 2020).

3.7 Uji Aplikasi Biofertilizer Pada Bibit Tanaman Kopi Robusta dan Arabika

Sampel bibit tanaman Kopi Robusta dan Arabika diambil di UB Forest, Malang. Bibit tanaman kopi yang digunakan dalam penelitian yaitu bibit Kopi Robusta dan Arabika yang tumbuh liar dengan usia



kurang lebih satu tahun. Masing-masing jenis tanaman kopi diambil dengan tinggi tanaman 11-17 cm. Bibit kopi ditanam pada media tanah dalam *polybag* ukuran 10x10 cm dan diaklimatisasikan selama 2 minggu agar tanaman beradaptasi dengan lingkungan yang baru sebelum digunakan untuk uji aplikasi biofertilizer.

Uji aplikasi biofertilizer pada benih tanaman Kopi Robusta dan Arabika dengan bakteri *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131) dan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35) dilakukan dengan tiga perlakuan yaitu W35, S131, dan W35+S131 serta kontrol. Masing-masing perlakuan dan kontrol memiliki 3 ulangan sehingga total keseluruhan yaitu 12 *polybag* tanaman Kopi Robusta dan 12 *polybag* tanaman Kopi Arabika. Sampel isolat bakteri uji secara monokultur dan polikultur ditumbuhkan pada 50 mL media *Nutrient Broth* (NB) steril dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam dalam *rotary shaker*. Masing-masing polibag perlakuan yang telah ditanami bibit kopi diinokulasi suspensi sebanyak 20 mL. Pengamatan dilakukan selama 30 hari, dengan dilakukan pengamatan pada 0 dan 30 hari pascatanam. Parameter yang diamati terhadap pertumbuhan tanaman kopi yaitu tinggi tanaman, berat basah, dan berat kering tanaman. Perawatan tanaman yang dilakukan selama pengamatan yaitu dengan penyiraman air setiap hari kurang lebih 50 mL dan pengambilan gulma disekitar bibit (Hutapea & Joseva, 2018). Berat basah tanaman diperoleh dari penimbangan seluruh bagian tanaman (tajuk dan akar) menggunakan timbangan analitik. Berat kering tanaman diukur dengan membungkus atau memasukkan seluruh bagian tanaman ke dalam kantong kertas, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 85 °C. Tanaman kopi dikeringkan dalam oven selama 48 jam. Sampel tanaman dikeluarkan dari oven dan didinginkan dengan menggunakan desikator untuk menghilangkan uap air pada sampel. Sampel tanaman yang sudah dingin kering kemudian ditimbang dengan timbangan analitik. Data yang diperoleh kemudian dianalisis One Way Anova menggunakan SPSS *for windows release* v.26 (Wicaksono, 2019).



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Morfologi *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18

Isolat bakteri rhizhosfer asal tanaman Kopi Robusta dan Arabika UB Forest yaitu *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 memiliki karakteristik morfologi koloni dan sel disajikan pada Tabel 1. Karakteristik morfologi kedua isolat murni tersebut menunjukkan bahwa bentuk koloni tidak teratur, tepi koloni beralun dan menyeluruh, elevasi adalah datar. Tekstur permukaan, konsistensi dan ciri optik koloni kedua isolat relatif sama secara berurutan adalah berkontur, lekit, dan pudar.

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni dan sel bakteri

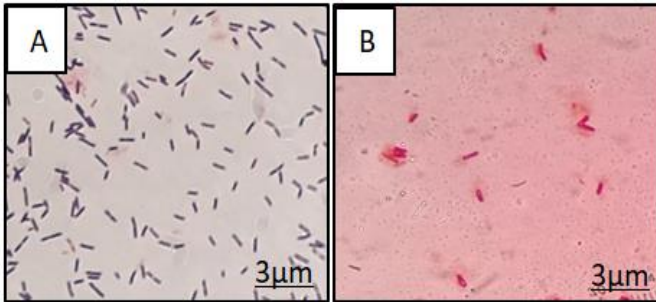
Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel	Isolat	
	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 ^T	<i>Pseudomonas putida</i> S18
Bentuk koloni		
Tidak teratur	+	+
Bentuk tepi		
Menyeluruh		+
Beralun	+	
Permukaan elevasi		
Datar	+	+
Permukaan tekstur		
Berkontur	+	
Permukaan konsistensi		
Lekit	+	+
Ciri optik		
Pudar	+	+
Cat Gram		
Gram (-)		+
Gram (+)	+	-
Bentuk sel		
Basil	+	+

Keterangan: + memiliki, - tidak memiliki karakter yang disebutkan

Berdasarkan pengamatan mikroskopik bakteri *Bacillus subtilis* DSM 10^T merupakan bakteri Gram positif dan *Pseudomonas putida* S18 Gram negatif serta keduanya memiliki bentuk basil (Gambar 2). Hal ini



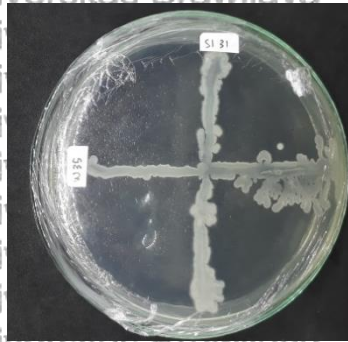
sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yuliatin (2020) yang menyebutkan bahwa *Bacillus subtilis* DSM 10^T tersebut merupakan bakteri Gram positif dan *Pseudomonas putida* S18 bakteri Gram negatif dengan bentuk basil.



Gambar 2. Cat Gram Isolat Bakteri *Bacillus subtilis* DSM 10^T (A) dan *Pseudomonas putida* S18 (B)

4.2 Asosiasi Antara Kedua Spesies Bakteri

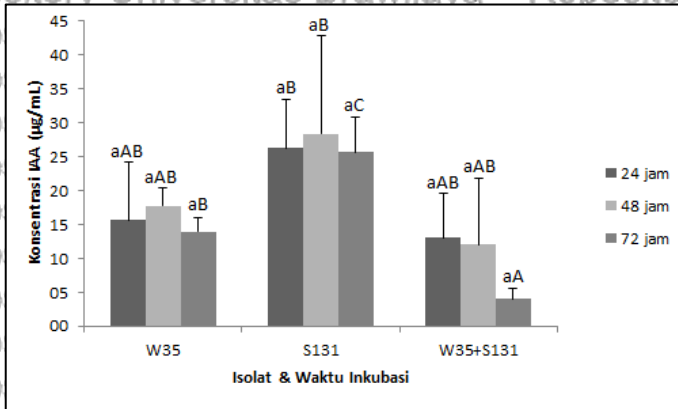
Berdasarkan hasil uji asosiasi antarisolat bakteri yang telah dikultur bersama pada media *Nutrient Agar*, dua isolat yaitu *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131) dan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35) tidak menunjukkan antagonis. Hasil inkubasi selama 24 jam menunjukkan hasil bahwa tidak terbentuk zona bening (Gambar 3). Isolat bakteri dikatakan kompatibel apabila tidak terbentuk zona hambat atau zona bening. Adanya asosiasi positif atau kompatibilitas dari dua bakteri atau lebih menjadi faktor penting agar bakteri dapat berkerjasama dengan baik dan saling mendukung satu dengan yang lain. Hal ini menunjukkan adanya perilaku kooperatif antarisolat bakteri dalam satu habitat yang sama dalam bentuk konsorsium (Rifai dkk., 2020).



Gambar 3. Asosiasi antara dua isolat *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18

4.3 Potensi Bakteri Penghasil IAA

Konsentrasi IAA yang dihasilkan pada masing-masing isolat bakteri dipengaruhi oleh jenis isolat dan waktu inkubasi. Isolat bakteri S131 memiliki potensi tertinggi dalam memproduksi hormon IAA pada inkubasi 24, 48, dan 72 jam secara berurutan yaitu 26,3 µg/mL; 28,4 µg/mL; dan 25,69 µg/mL. Isolat bakteri polikultur W35+S131 memiliki nilai paling rendah dalam memproduksi hormon IAA pada inkubasi 24, 48, dan 72 jam yaitu secara berurutan 13 µg/mL; 12 µg/mL; dan 4 µg/mL. Isolat monokultur W35 dan S131 dapat dikatakan lebih potensial dalam memproduksi hormon IAA dibandingkan isolat polikultur W35+S131 (Gambar 4). Hal tersebut kemungkinan disebabkan adanya kompetisi antarisolat bakteri dalam mendapatkan nutrisi pada medium. Sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa organisme penghasil IAA merupakan Gram negatif, namun beberapa strain Gram positif termasuk *Bacillus* sp. juga diketahui dapat menghasilkan IAA (Mohite, 2013). Tallapragada dkk. (2015) menyatakan bahwa hormon IAA dapat disintesis oleh bakteri pada fase stasioner sebagai metabolit sekunder secara optimal setelah 24 jam dan produksi IAA akan menurun setelah 48 jam.

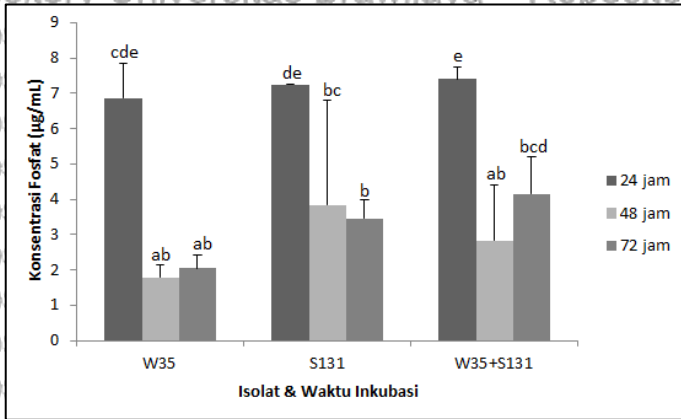


Gambar 4. Konsentrasi hormon IAA yang diproduksi oleh bakteri rhizosfer pada variasi waktu inkubasi

Huruf kecil untuk isolat yang sama pada waktu yang berbeda, huruf besar untuk isolat yang berbeda pada waktu yang sama; huruf yang sama di atas histogram menunjukkan konsentrasi IAA tidak berbeda antarperlakuan ($p > 0,05$)

4.4 Potensi Bakteri dalam Melarutkan Fosfat

Isolat bakteri W35, S131, dan W35+S131 berpotensi sebagai pelarut fosfat. Konsentrasi fosfat terlarut yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan bakteri dipengaruhi oleh jenis isolat dan waktu inkubasi. Isolat polikultur S131+W35 menghasilkan fosfat terlarut paling tinggi 7,4 $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi 24 jam. Isolat bakteri S131 dapat melarutkan fosfat paling tinggi 3,8 $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi 48 jam, sedangkan pada inkubasi 72 jam isolat polikultur W35+S131 menghasilkan nilai konsentrasi fosfat paling tinggi 4,15 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 5). Nilai konsentrasi fosfat terlarut pada perlakuan isolat bakteri polikultur tersebut dapat dikatakan memiliki potensi tinggi disebabkan adanya interaksi antar isolat bakteri W35 dan S131 dalam bentuk polikultur dibandingkan dengan isolat bakteri monokultur. Potensi bakteri dalam melarutkan fosfat pada penelitian ini dikatakan tinggi dibandingkan dengan penelitian Yuliatin (2020) bahwa bakteri rhizosfer Kopi Arabika dan Robusta hanya mampu melarutkan fosfat maksimal sebesar 7 $\mu\text{g/mL}$ dalam inkubasi 24 jam.



Gambar 5. Konsentrasi fosfat terlarut yang dihasilkan oleh bakteri rhizosfer pada variasi waktu inkubasi

Notasi yang berbeda di atas histogram menunjukkan berbeda nyata antarisolat dan wantarwaktu inkubasi ($p < 0,05$)

Bakteri pelarut fosfat memiliki kemampuan besar sebagai biofertilizer atau pupuk hayati dimana bakteri pelarut fosfat mampu menghasilkan asam-asam organik dan berfungsi untuk memfiksasi kation (Al, Fe, Ca) melalui gugus hidroksil dan karboksilnya yang terikat pada fosfat, kemudian diubah menjadi bentuk fosfat terlarut sehingga dapat dimanfaatkan oleh tanaman (Sugianto, dkk., 2018). Fosfat merupakan nutrisi penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, namun jumlah fosfat yang terlarut sangat rendah. Fosfat yang terlarut tidak dapat diserap dengan cepat dalam tanah sehingga menjadi tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Proses fiksasi fosfat bergantung pada pH, dan jenis tanah. Kondisi tanah yang cenderung basa maka fosfor akan diendapkan oleh kalsium. Ketersediaan fosfat bergantung pada kelarutannya, yang dapat dipengaruhi oleh aktivitas akar tanaman dan mikroorganisme di dalam tanah. Oleh karena itu, bakteri rhizosfer mampu menyediakan unsur fosfat terlarut dalam tanah sehingga fosfat dapat dimanfaatkan tanaman (de Souza dkk., 2015; Yuliatin, 2020).

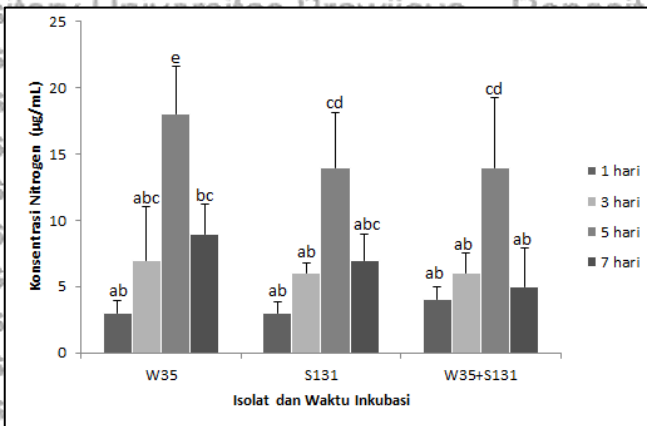
4.5 Potensi Bakteri dalam Menambat Nitrogen

Konsentrasi amonia hasil fiksasi pada masing-masing perlakuan bakteri dipengaruhi oleh jenis isolat dan waktu inkubasi. Secara keseluruhan, isolat bakteri pada perlakuan rata-rata mampu



memproduksi amonia dengan konsentrasi 3 -17,5 $\mu\text{g/mL}$. Isolat W35 mampu memfiksasi nitrogen paling tinggi 17,5 $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi 5 hari. Berdasarkan penelitian, dapat diketahui bahwa semua perlakuan isolat bakteri monokultur maupun polikultur cenderung mengalami kenaikan konsentrasi amonia hingga pada inkubasi 5 hari. Namun, konsentrasi amonia masing-masing isolat bakteri menurun pada inkubasi 7 hari kemungkinan disebabkan semakin lama waktu inkubasi nutrisi yang tersedia hanya digunakan untuk pertumbuhan tidak untuk bermetabolisme (Gambar 6).

Ketersediaan C-organik rhizosfer tanaman kopi dapat memengaruhi jumlah nitrogen dan amonia yang dihasilkan. Kondisi karbon dapat memacu pertumbuhan serta perkembangan populasi bakteri penambat nitrogen. Bakteri penambat nitrogen mampu mengkonversi N_2 di udara menjadi amonia dengan menggunakan enzim nitrogenase. Proses fiksasi nitrogen oleh bakteri dapat menghasilkan amonia (NH_3). Kehadiran ion hidrogen akan membentuk ammonium (NH_4^+) (Hidayati, 2009; Yulatin, 2020).



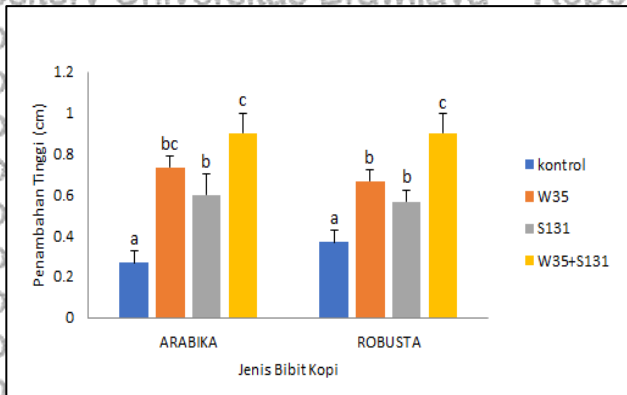
Gambar 6. Konsentrasi amonia yang dihasilkan oleh bakteri rhizosfer pada variasi waktu inkubasi

Notasi yang berbeda di atas histogram menunjukkan konsentrasi ammonia berbeda antarisolat dan antarwaktu inkubasi ($p < 0,05$)

4.6 Pengaruh Aplikasi Biofertilizer Pada Bibit Tanaman Kopi Robusta dan Arabika



Uji aplikasi biofertilizer pada tanaman Kopi Robusta dan Arabika dengan perlakuan isolat bakteri tunggal dan konsorsium. Pengamatan dilakukan selama 30 hari dengan parameter tinggi, berat basah dan berat kering tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertambahan tinggi tanaman paling besar 0,90 cm pada Kopi Arabika dan Robusta oleh perlakuan polikultur isolat bakteri W35+S131 (Gambar 7). Pertambahan tinggi tanaman paling besar pada isolat bakteri polikultur W35+S131 kemungkinan disebabkan adanya interaksi yang cukup baik antarbakteri sehingga dapat bekerjasama dalam memacu pertumbuhan tanaman dibandingkan dengan isolat bakteri tunggal. Persentase kenaikan pertambahan tinggi tanaman Kopi Robusta mencapai 4,62% dan Kopi Arabika 4,73%. Penelitian Yanti dkk. (2021) menyebutkan bahwa konsorsium yang dikembangkan dalam suatu penelitian mampu meningkatkan tinggi tanaman. Peningkatan pertumbuhan tinggi tanaman oleh bakteri konsorsium memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan bakteri tunggal. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh kemampuan sinergis yang baik dari beberapa bakteri dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Efek stimulasi dari bakteri PGPR pada pertumbuhan tanaman dikaitkan dengan kemampuannya dalam menambat nitrogen, memproduksi zat pengatur tumbuh, dan melarutkan fosfat.

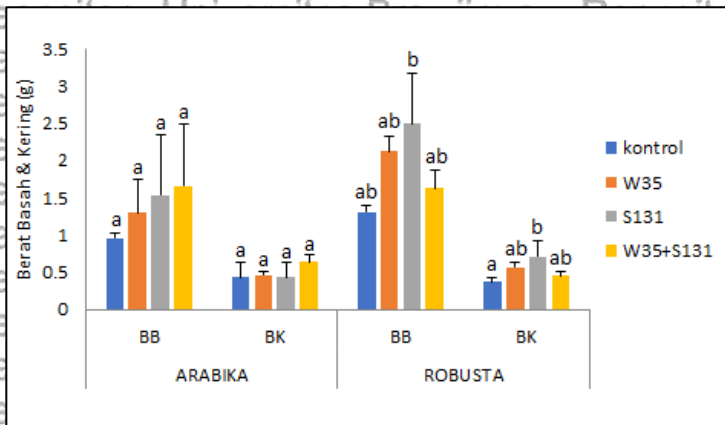


Gambar 7. Pertambahan tinggi tanaman Kopi Arabika dan Robusta

Notasi yang berbeda di atas histogram menunjukkan pertambahan tinggi tanaman berbeda antarperlakuan ($p < 0,05$)



Parameter berat basah dan kering diukur pada tanaman Kopi Arabika dan Robusta. Perlakuan isolat bakteri monokultur dan polikultur yang dilakukan menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan polikultur isolat bakteri W35+S131 menghasilkan berat basah dan berat kering paling tinggi pada tanaman Kopi Arabika secara berurutan yaitu 1,655 g dan 0,63 g. Namun demikian perlakuan isolat bakteri S131 pada tanaman Kopi Robusta memiliki berat basah dan berat kering paling tinggi secara berurutan sebesar 2,5 g dan 0,7 g (Gambar 8).



Gambar 8. Berat basah dan berat kering tanaman Kopi Arabika dan Robusta

Notasi yang berbeda di atas histogram menunjukkan berat basah dan berat kering tanaman berbeda antarperlakuan ($p < 0,05$)



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri *Bacillus subtilis* DSM 10^T dan *Pseudomonas putida* S18 memiliki potensi dalam memproduksi IAA, melarutkan fosfat, dan sebagai penambat nitrogen dengan konsentrasi yang bervariasi.
2. Pertambahan tinggi tanaman paling tinggi pada Kopi Robusta dan Arabika oleh isolat polikultur sebesar 0,9 cm. Secara keseluruhan bakteri monokultur dan polikultur berpotensi sebagai biofertilizer dengan menunjukkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian berikutnya berkaitan dengan aplikasi bakteri rhizosfer tanaman Kopi Robusta dan Arabika sebagai agen biofertilizer yaitu dengan jangka waktu pengamatan yang lebih lama. Perlakuan dilakukan dengan variasi densitas bakteri, rasio volume bakteri dan media tanam, serta variasi media tanam untuk memperoleh hasil yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- A'ini, Z. F. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) Dari Tanah Dan Air Di Situgunung, Sukabumi. *Jurnal Faktor Exacta*. vol 6(3):231-240.
- Arfarita, N., M.W. Lestari, I. Murwani, dan T. Higuchi, 2017. Isolation of indigenous phosphate solubilizing bacteria from green bean rhizospheres. *Journal Of Degraded And Mining Lands Management*. vol. 4 (3): 845-851.
- Beneduzi, A., A. Ambrosi, dan L.M.P Passaglia. 2012. *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR) Their Potential as Antagonist and Biocontrol Agents. *Genetic and Molecular Biology*. vol 35(4) : 1044-1051.
- Caldwell, A.C., L.C.F. Silvia, C.C.D. Silvia, C.C. Ouverney. 2015. Prokaryotic Diversity in the Rhizosphere of Organic, Intensive, and Transitional Coffee Farms in Brazil. *Journal of Plose One*. vol 10 (6) : 1-17.
- Chandra, S., K. Askari, dan M. Kumari. 2018. Optimization of *indole acetic acid* production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. vol (16) : 581-586.
- De Souza, R., A. Ambrosini dan L. M. P. Passaglia. 2015. Plat Growth Promoting Bacteria as Inoculants in Agricultural Soil. *Genetics and Molecular Biology*. 38(4):401-419.
- Diyansah, B., L.Q. Aini, dan T. Hadiastono. 2013. The effect of PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* On Leaf Mustard Plant (*Brassica juncea* L.) Infected by TuMV (*Turnip Mosaic Virus*). *Journal Trop. Plant*. vol 1 (1): 30- 38.
- Dong, C.J., L.L. Wang, Q. Li, dan Q.M. Shang. 2019. Bacterial Communities In The Rhizosphere, Phyllosphere And





- Endosphere Of Tomato Plants. *Journal of Plos One*. vol 14 (11) : 1-17.
- Hidayati, A. T. 2009. **Potensi Pelepasan N-NH₄⁺ dan N-NO₃⁻ Tanah Andisol yang Ditanami Sayuran Di Daerah Dataran Tinggi**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hutapea, dan A. Joseva. 2018. **Potensi Bakteri Pelarut Fosfat, Pengikat Nitrogen dan Penghasil Hormon IAA dari Rhizosfer Tumbuhan Poaceae Pantai dalam Meningkatkan Pertumbuhan Padi (*Oryza sativa* L)**. Skripsi. Universitas Sumatra Utara.
- Israwan, R. F., T. Ardyati, dan Suharjono. 2015. Eksplorasi Bakteri Pemfiksasi Nitrogen Non Simbiotik Penghasil IAA dan Pelarut Fosfat Asal Rhizosfer Tanaman Apel Kota Batu, Jawa Timur. *Jurnal Biotropika*. vol 3 (2) : 55-59.
- Jain, G. 2019. Biofertilizers - A way to organic agriculture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 49-52.
- Khan, N. T., Namrajamael, dan M.J. Khan. 2018. Microbial Biofertilizers. *International Journal of Biopharmaceutical Sciences*. vol 1 (3):1-4.
- Kustiyarningsih. 2003. **Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Aktivitas Bakteri pelarut fosfat dari Isolat Tanah Bukit Bangkirai, Kalimantan Timur**. Insitut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Laimheheriwa, B. M. 2017. **Mekanisme Fiksasi Karbon, Fiksasi Nitrogen Dan Metabolisme Fosfat Di Laut**. Academia.edu.
- Mohite, 2013. Isolation and characterization of *indole acetic acid* (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. vol 13 (3): 638-649.
- Muzakhar, K., Sutoyo, dan A. B. Saragih. 2015. Phosphate Solubilizing Bacteria Adaptive to Vinasse. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*. vol 47 (2) : 219-225.
- Nurhidayati, S., Fatturahman, dan M. Ghazali, 2015. Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus alvarezii*



- (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal sains teknologi & Lingkungan*. vol 1 (2):24-30.
- Rifai, R., H. Widowati, dan A. Sutanto. 2020. Sinergisme Dan Antagonisme Beberapa Jenis Isolat bakteri yang Dikonsorsiumkan. *Journal of Science and Biology Education*. vol 1 (1): 21-26.
- Simiyu, Wafukho, C. Masso, dan N. Nangayo. 2013. Guidelines for Registration of Biofertilizers in Sub Saharan Africa 2013. *The African Agricultural Technology Foundation (AATF)*.
- Sobari, I., D. Pranowo, dan E. Wardiana. 2018. Pengaruh Pupuk Kandang Dengan Penambahan Mikrob Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Kopi Robusta. *Journal of Industrial and Beverage Crops*. vol 5 (2): 59-66.
- Sugianto, S.K., M. Shovitri, dan A. Hidayat. 2018. Potensi Rhizobakteri Sebagai Pelarut Fosfat. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. vol 7 (2): 72-74.
- Tallapragada, T. R. Dikshit, dan S. Seshagiri. 2015. Isolation and Optimization of IAA Produce *Burkholderia seminalis* and Its Effect on Seedlings of Tomato. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 37(5):553-559.
- Wicaksono, R. 2019. Aplikasi Rootone-F Dan Bio P60 Terhadap Pertumbuhan Bibit Cabutan Kopi Arabika Dengan Perbedaan Jarak Potong Akar. Skripsi, Kementerian Riset, Teknologi Dan Pendidikan Tinggi Universitas Jenderal Soedirman Fakultas Pertanian Purwokerto.
- Widawati, S. dan Suliasih. 2019. Role of Indigenous Nitrogen-fixing Bacteria in Promoting Plant Growth on Post Tin Mining Soil. *Makara Journal of Science*. vol 23 (1): 28-38.
- Widawati, Suliasih, Muharam, 2010. Pengaruh Kompos yang Diperkaya Bakteri Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kapri dan Aktivitas Enzim Fosfatase dalam Tanah. *Jurnal Hortikultural*. 20(3): 207-215.



Yanti, Y., H. Hamid, dan Reflin. 2021. Development of the PGPR and Cyanobacteria Consortium for Growth Promotion and Control *Ralstonia syzigii* subsp. indonesiensis of Tomato. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 709 : 1-6 (2021).

Yuliatin, E. 2020. **Eksplorasi Bakteri Rhizosfer Tanaman Kopi (*Coffea Spp.*) Di Agroforestri UB Forest Kabupaten Malang Sebagai Agen *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR).** *Tesis. Universitas Brawijaya, Malang.*

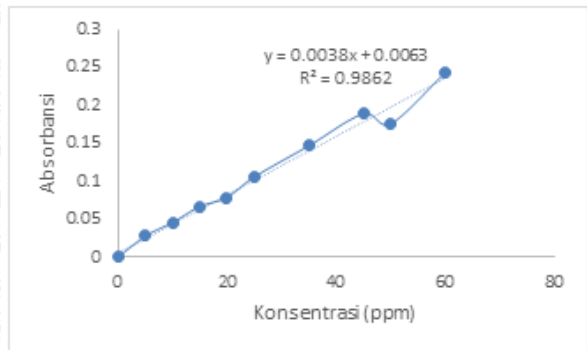


LAMPIRAN

Lampiran 1. Kurva Standar produksi IAA, fosfat, dan amonia.

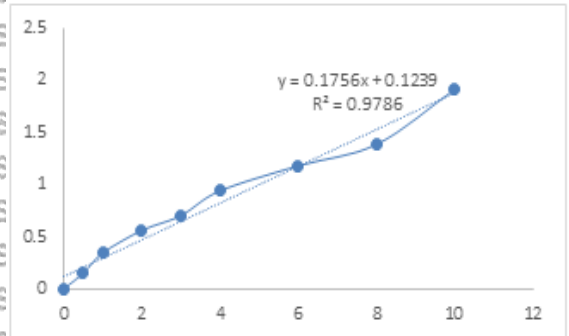
Lampiran 1.1 Kurva standar produksi IAA

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
0	0
5	0,028
10	0,046
15	0,067
20	0,079
25	0,106
35	0,147
45	0,189
50	0,176
60	0,243



Lampiran 1.2 Kurva standar fosfat

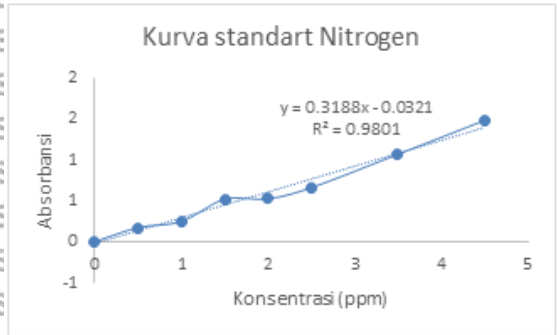
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
0	0
0,5	0,148
1	0,344
2	0,560
3	0,702
4	0,940
6	1,179
8	1,385
10	1,914





Lampiran 1.3 Kurva standar amonia

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
0	0
0,5	0,173
1	0,249
1,5	0,520
2	0,526
2,5	0,663
3,5	1,070
4,5	1,484



Lampiran 2. Hasil analisis uji potensi bakteri Produksi IAA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		IAA
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	13,0703
	Std. Deviation	11,46308
Most Extreme Differences	Absolute	,127
	Positive	,125
	Negative	-,127
Test Statistic		,127
Asymp. Sig. (2-tailed)		,151 ^c

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.
c. Lilliefors Significance Correction.

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: IAA						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	3583,270 ^a	11	325,752	7,696	,000	
Intercept	6149,958	1	6149,958	145,302	,000	
Isolat	3403,308	3	1134,436	26,803	,000	
Waktu	87,205	2	43,603	1,030	,372	
Isolat * Waktu	92,757	6	15,460	,365	,894	
Error	1015,807	24	42,325			
Total	10749,035	36				
Corrected Total	4599,077	35				

a. R Squared = ,779 (Adjusted R Squared = ,678)

**Isolat=W35**Tukey HSD^a

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05
		1
72 jam	3	13,9367
24 jam	3	15,6933
48 jam	3	17,7100
Sig.		,675

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Isolat=S131Tukey HSD^a

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05
		1
72 jam	3	25,6933
24 jam	3	26,3067
48 jam	3	28,4100
Sig.		,938

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Isolat=W35+S131Tukey HSD^a

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05
		1
72 jam	3	4,0267
48 jam	3	12,0067
24 jam	3	13,0600
Sig.		,310

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Homogeneous Subsets**IAA****Waktu=24 jam**Tukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	3	,0000	
W35+S131	3	13,0600	13,0600
W35	3	15,6933	15,6933
S131	3		26,3067
Sig.		,068	,131

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Waktu=48 jamTukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	3	,0000	
W35+S131	3	12,0067	12,0067
W35	3	17,7100	17,7100
S131	3		28,4100
Sig.		,140	,180

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Waktu=72 jamTukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K	3	,0000		
W35+S131	3	4,0267		
W35	3		13,9367	
S131	3			25,6933
Sig.		,384	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 3. Hasil analisis uji potensi bakteri dalam melarutkan fosfat

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		FOSFAT
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,3006
	Std. Deviation	2,81006
Most Extreme Differences	Absolute	,131
	Positive	,130
	Negative	-,131
Test Statistic		,131
Asymp. Sig. (2-tailed)		,121 ^c

- a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.
 c. Lilliefors Significance Correction.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: FOSFAT						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	248,416 ^a	11	22,583	19,385	,000	
Intercept	392,172	1	392,172	336,640	,000	
Isolat	140,180	3	46,727	40,110	,000	
Waktu	77,994	2	38,997	33,475	,000	
Isolat * Waktu	30,243	6	5,040	4,327	,004	
Error	27,959	24	1,165			
Total	668,547	36				
Corrected Total	276,375	35				

a. R Squared = ,899 (Adjusted R Squared = ,852)



Homogeneous Subsets

FOSFAT						
Tukey HSD ^a						
Interaksi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol vs 24 jam	3	,0000				
Kontrol vs 48 jam	3	,0000				
Kontrol vs 72 jam	3	,0000				
W35 vs 48 jam	3	1,7933	1,7933			
W35 vs 72 jam	3	2,0400	2,0400			
W35+S131 vs 48 jam	3	2,8233	2,8233			
S131 vs 72 jam	3	3,4567				
S131 vs 48 jam	3	3,8400	3,8400			
W35+S131 vs 72 jam	3	4,1533	4,1533	4,1533		
W35 vs 24 jam	3		6,8600	6,8600	6,8600	
S131 vs 24 jam	3			7,2433	7,2433	
W35+S131 vs 24 jam	3					7,3967
Sig.		,115	,294	,073	,062	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 4. Hasil analisis uji potensi bakteri dalam menambat nitrogen

Tests of Normality

Isolat	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
NITROGEN						
K		12			12	
W35	,160	12	,200 [*]	,926	12	,344
S131	,257	12	,028	,870	12	,065
W35+S131	,202	12	,192	,837	12	,025

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: NITROGEN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1322,215 ^a	15	88,148	14,586	,000
Intercept	1731,001	1	1731,001	286,432	,000
Isolat	605,318	3	201,773	33,388	,000
Waktu	519,664	3	173,221	28,663	,000
Isolat * Waktu	197,233	9	21,915	3,626	,003
Error	193,386	32	6,043		
Total	3246,602	48			
Corrected Total	1515,601	47			

a. R Squared = ,872 (Adjusted R Squared = ,813)



Homogeneous Subsets

NITROGEN					
Tukey HSD ^a					
Interaksi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol vs hari ke-1	3	,0000			
Kontrol vs hari ke-3	3	,0000			
Kontrol vs hari ke-5	3	,0000			
Kontrol vs hari ke-7	3	,0000			
W35 vs hari ke-1	3	3,0900	3,0900		
S131 vs hari ke-1	3	3,1367	3,1367		
W35+S131 vs hari ke-1	3	3,9567	3,9567		
W35+S131 vs hari ke-7	3	5,4400	5,4400		
W35+S131 vs hari ke-3	3	5,5833	5,5833		
S131 vs hari ke-3	3	5,9233	5,9233		
S131 vs hari ke-7	3	6,9300	6,9300	6,9300	
W35 vs hari ke-3	3	7,0900	7,0900	7,0900	
W35 vs hari ke-7	3		9,3133	9,3133	
S131 vs hari ke-5	3			13,9733	13,9733
W35+S131 vs hari ke-5	3			14,1200	14,1200
W35 vs hari ke-5	3				17,5267
Sig.		,075	,186	,067	,910

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 5. Hasil analisis Uji Aplikasi Bipfertilizer pada tanaman Kopi Robusta dan Arabika

Lampiran 5.1 Hasil analisis pertambahan tinggi tanaman Kopi Arabika

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Arabika
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,6250
	Std. Deviation	,25271
Most Extreme Differences	Absolute	,200
	Positive	,151
	Negative	-,200
Test Statistic		,200
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.



ANOVA					
Arabika					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,649	3	,216	32,458	,000
Within Groups	,053	8	,007		
Total	,703	11			

Homogeneous Subsets

Arabika

Tukey HSD^a

Subset for alpha = 0.05

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K	3	,2667		
S131	3		,6000	
W35	3		,7333	,7333
W35+S131	3			,9000
Sig.		1,000	,264	,134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5.2 Hasil analisis pertambahan tinggi tanaman Kopi Robusta

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Robusta
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,6250
	Std. Deviation	,20944
Most Extreme Differences	Absolute	,131
	Positive	,131
	Negative	-,119
Test Statistic		,131
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.
- Lilliefors Significance Correction.
- This is a lower bound of the true significance.



ANOVA

Robusta

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,442	3	,148	29,500	,000
Within Groups	,040	8	,005		
Total	,482	11			

Homogeneous Subsets

Robusta

Tukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K	3	,3667		
S131	3		,5667	
W35	3		,6667	
W35+S131	3			,9000
Sig.		1,000	,369	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5.3 Hasil analisis berat basah tanaman Kopi Arabika

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Arabika
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,3598
	Std. Deviation	,60010
Most Extreme Differences	Absolute	,241
	Positive	,241
	Negative	-,175
Test Statistic		,241
Asymp. Sig. (2-tailed)		,053 ^c

- a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.
 c. Lilliefors Significance Correction.



ANOVA					
Arabika	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,858	3	,286	,738	,559
Within Groups	3,103	8	,388		
Total	3,961	11			

Homogeneous Subsets

Arabika

Tukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05
		1
K	3	,9533
W35	3	1,2983
S131	3	1,5323
W35+S131	3	1,6553
Sig.		,543

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5.4 Hasil analisis berat kering tanaman Kopi Arabika

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
Arabika		
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,4918
	Std. Deviation	,15612
Most Extreme Differences	Absolute	,182
	Positive	,116
	Negative	-,182
Test Statistic		,182
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}



ANOVA					
Arabika	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,083	3	,028	1,204	,369
Within Groups	,185	8	,023		
Total	,268	11			

Homogeneous Subsets

Arabika		
Tukey HSD ^a		
Isolat	N	Subset for alpha = 0.05
K	3	,4320
S131	3	,4350
W35	3	,4657
W35+S131	3	,6343
Sig.		,415

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5.5 Hasil analisis berat basah tanaman Kopi Robusta

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Robusta
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,8927
	Std. Deviation	,57332
Most Extreme Differences	Absolute	,153
	Positive	,153
	Negative	-,118
Test Statistic		,153
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}



ANOVA

Robusta					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,502	3	,834	5,988	,019
Within Groups	1,114	8	,139		
Total	3,616	11			

Homogeneous Subsets

Robusta

Tukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	3	1,3127	
W35+S131	3	1,6277	1,6277
W35	3	2,1283	2,1283
S131	3		2,5023
Sig.		,105	,080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5.6 Hasil analisis berat kering tanaman Kopi Robusta

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Robusta
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,5216
	Std. Deviation	,16679
Most Extreme Differences	Absolute	,202
	Positive	,202
	Negative	-,117
Test Statistic		,202
Asymp. Sig. (2-tailed)		,192 ^c



ANOVA

Robusta

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,193	3	,064	4,552	,038
Within Groups	,113	8	,014		
Total	,306	11			

Homogeneous Subsets

Robusta

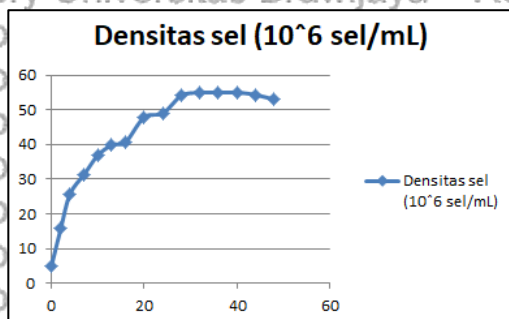
Tukey HSD^a

Isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	3	,3657	
W35+S131	3	,4527	,4527
W35	3	,5633	,5633
S131	3		,7047
Sig.		,252	,117

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

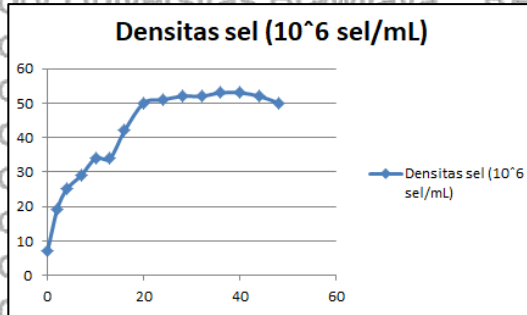
Lampiran 6. Kurva pertumbuhan bakteri

Lampiran 6.1 Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* DSM 10^T (isolat S131)

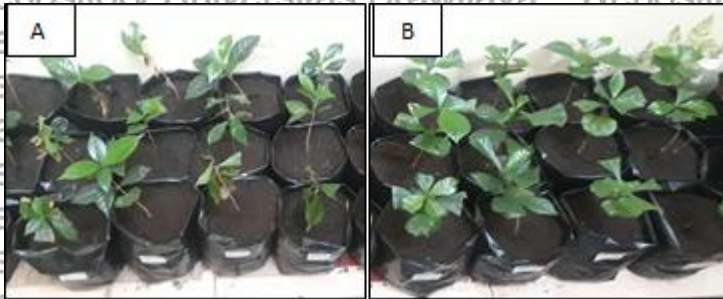




Lampiran 6.2 Kurva pertumbuhan *Pseudomonas putida* S18 (isolat W35)



Lampiran 7 Bibit tanaman Kopi Robusta dan Arabika pada uji Aplikasi Biofertilizer



Keterangan : A. Kopi Robusta dan B. Kopi Arabika