

JURNAL METAMORFOSA**Journal of Biological Sciences**

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>**Isolasi Aktinomiset Pelarut Fosfat Pada Perakaran Tembakau
(*Nicotiana tabacum* L.) Asal Jember****Isolation of Phosphate-Solubilizing Actinomycetes of Tobacco Rhizosphere
(*Nicotiana tabacum* L.) From Jember****Esti Utarti^{1*}, Saniyah Fatkhul Alim², Dwi Setyati, Sutoyo³**^{1,2,3}Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember,
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121*Email: esti.fmipa@unej.ac.id**INTISARI**

Fosfor (P) merupakan makronutrien terpenting kedua yang dibutuhkan tanaman. Fosfat dalam tanah berada dalam bentuk terikat oleh ion Fe^{3+} , Al^{3+} dan Ca^{2+} sehingga tidak tersedia bagi tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mendapatkan aktinomiset sebagai agen pelarut fosfat dari perakaran tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). Jenis penelitian ini termasuk dalam penelitian eksplorasi yang dilanjutkan dengan pengamatan morfologi secara makroskopis dan mikroskopis isolat pelarut fosfat terbaik. Sampel penelitian diambil dari Desa Antirogo, Kecamatan Summersari, Kabupaten Jember. Sampel tanah diambil dari bagian perakaran tanaman tembakau. Isolasi aktinomiset dilakukan dengan metode pengenceran dan disebar pada media SCA. Pemurnian dilakukan pada media ISP-2 atau ISP-4. Uji aktivitas pelarutan fosfat menggunakan media Pikovskaya dan diukur indeks pelarutan fosfatnya. Sebanyak 71 isolat aktinomiset berhasil diisolasi dari tanah perakaran tembakau di daerah Antirogo. Hasil skrining menunjukkan bahwa terdapat 28 isolat (39,4%) dari 71 isolat yang diperoleh, memiliki kemampuan melarutkan fosfat. Lima isolat tertinggi berdasarkan rangking indeks pelarut fosfat terbaik dilakukan karakterisasi morfologi makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan bentuk rantai spora, empat isolat aktinomiset yang memiliki rangking indeks pelarutan fosfat tertinggi termasuk dalam genus *Streptomyces*.

Kata kunci: aktinomiset, pelarut fosfat, perakaran, Antirogo Jember**ABSTRACT**

Phosphor is the second most important macronutrient that a plant needed. Phosphate in soil is in complex with inorganic mineral such as Fe^{3+} , Al^{3+} dan Ca^{2+} ion hence it is not available for plant. This study aims to isolate and explore actinomycetes as a solubilizing phosphate from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) rhizosphere. This type of research is included as an exploratory research followed by macroscopic and microscopic morphological observations. The research sample was taken from Antirogo Jember area. Soil sample were taken from the rhizosphere of tobacco plants. Isolation of actinomycetes was carried out by dilution method and spread on SCA medium. Purification is performed on ISP-2 or ISP-4 medium. The phosphate dissolution activity test used Pikovskaya agar and the phosphate dissolution index was measured. Total of 71 actinomycetes isolates were isolated from the rhizosphere of tobacco in Antirogo. Screening results showed that there were 28 isolates (39,4% of 71 isolate) that able to solubilizing phosphate. The five highest isolated based on the phosphate solvent index rank were carried out by macroscopic and microscopic morphological characterization. Based on

the form of the spore chain, four actinomycetes isolates that had the highest solubilizing phosphate index ranking were included in the genus *Streptomyces*.

Keyword: Actinomycetes, solubilizing phosphate, rhizosphere, Antirogo Jember.

PENDAHULUAN

Kabupaten Jember adalah salah satu daerah di Provinsi Jawa Timur yang merupakan pusat produksi tembakau. Kabupaten Jember tahun 2018 memproduksi tembakau 26.103 ton yang merupakan produksi tertinggi di Jawa Timur (BPS, 2019). Produksi tembakau tidak lepas dari proses pemupukan yang bertujuan untuk menambah ketersediaan hara dalam tanah (Irawan *et al.*, 2015). Pada tembakau ketersediaan hara makronutrien seperti unsur kalium, nitrogen dan fosfor berperan penting dalam produksi dan mutu tembakau. Nitrogen berperan dalam kualitas daun tembakau, sedangkan unsur fosfor diperlukan dalam proses pemasakan daun tanaman tembakau (Djajadi *et al.*, 2016). Kalium berperan dalam meningkatkan daya tahan tanaman terhadap penyakit (Hutapea *et al.*, 2014). Unsur hara N, P, K yang diperlukan tembakau berturut-turut sebesar 70, 12, dan 80 kg/ha (Herawati, 2013).

Fosfor (P) merupakan makronutrien terpenting kedua yang dibutuhkan tanaman setelah nitrogen (N) (Parnell *et al.*, 2016; Namh *et al.*, 2017). Tanaman menyerap fosfor dari tanah dalam bentuk ion fosfat (H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-}) yang diperoleh dari P organik dan P anorganik (Saif *et al.*, 2014). Sumber P organik tanaman berasal dari dekomposisi hewan dan tumbuhan, sedangkan P anorganik dari pemupukan kimia (Nash *et al.*, 2014). Fosfat organik dalam tanah menyumbang 20-80% dari total P dalam tanah (Sharma *et al.*, 2013). Ketersediaan fosfat dalam tanah hanya sekitar 0,1% dari P total tersebut yang dapat diserap tanaman (Yadav dan Verma, 2012). Oleh karena itu, ketersediaan P dalam tanah yang rendah biasanya diatasi dengan penambahan pupuk kimia fosfat misalnya super fosfat (SP-36) dan NPK (Soemarah *et al.*, 2020).

Serapan P oleh tanaman dari pemupukan kimia hanya 10-30%, sisanya sekitar 70-90% akan mengendap di tanah dalam bentuk terikat oleh ion Fe^{3+} , Al^{3+} dan Ca^{2+} sehingga tidak tersedia bagi tanaman (Gizaw *et al.*, 2017).

fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (Satyaprakash *et al.*, 2017). Tingginya P yang dalam bentuk terikat sekitar 70-90% dapat diubah menjadi bentuk tersedia sehingga dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan. Alternatif yang dapat dilakukan adalah melalui pemanfaatan mikroorganisme pelarut fosfat (Ingle dan Padole, 2017).

Penggunaan PSM (*Phosphate Solubilizing Microorganisms*) dapat diaplikasikan sebagai biofertilizer untuk mengubah fosfat terikat menjadi fosfat tersedia bagi tanaman (Zaidi *et al.*, 2014a). Aktinomiset merupakan bakteri Gram-positif berfilamen (Barka *et al.*, 2016) yang tersebar melimpah di perakaran dan sebagai mikroorganisme endofit akar tanaman (Jog *et al.*, 2014). Penelitian Hamdali *et al.* (2012) melaporkan bahwa sebanyak 150 aktinomiset yang berhasil diisolasi dari tanah sebanyak 29 isolat (19%) memiliki kemampuan melarutkan fosfat. Penelitian Poomthongdee *et al.*, (2015) juga melaporkan bahwa isolasi aktinomiset dari perakaran didapatkan hasil isolasi 351 isolat dengan 266 isolat (75,8%) mempunyai kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media *Pikovskaya* yang memiliki diameter 0,7-1,6 cm.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian tentang isolasi aktinomiset pelarut fosfat asal perakaran tembakau.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah perakaran tembakau diambil di daerah Antirogo pada titik koordinat $8^{\circ}08'49.9''\text{S}$ $113^{\circ}44'02.9''\text{E}$. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Sampel tanah diambil pada perakaran tembakau pada kedalaman 15-20 cm pada 5 titik secara acak. Sampel tanah tersebut dianalisis kandungan P yang meliputi P_2O_5 tersedia, P_2O_5 total, dan pH

tanah dengan metode Olsen berdasarkan SNI 2803:2010.

Isolasi dan Pemurnian Aktinomiset

Tanah 10 g dikeringkan pada suhu 60°C selama 2 jam. Suspensi sampel diperoleh dengan menambahkan 90 ml garam fisiologis (NaCl 0.9%) pada 10 g sampel tanah dan dihomogenkan menggunakan *shaker* selama 30 menit. Suspensi sampel tanah diencerkan berseri sampai 10⁻⁶. Tiap seri pengenceran diambil sebanyak 100 µl kemudian disebar pada permukaan media *starch casein agar* (SCA) (*soluble starch* 10 g/L, K₂HPO₄ 2 g/L, KNO₃ 2 g/L, kasein 0.3 g/L, MgSO₄.7H₂O 0.05 g/L, CaCO₃ 0.02 g/L, FeSO₄.7H₂O 0.01 g/L, agar 22 g/L) dengan penambahan *nystatin* (100 µg/ml) sebagai antifungi dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu 25°C±2 °C (Sameera *et al.*, 2018). Isolat aktinomiset dimurnikan pada medium ISP-2 (*yeast malt extract agar*) dan diinkubasi pada suhu 25°C±2 °C selama 7–12 hari. Hasil pemurnian diamati bentuk dan warna koloni (Anwar *et al.*, 2016).

Skrining Aktinomiset Pelarutan Fosfat

Skrining aktinomiset pelarutan fosfat dilakukan dengan menginokulasikan 1 plug isolat aktinomiset dengan diameter 0,8 cm pada medium Pikovskaya yang tersusun atas glukosa 10 g/L, Ca₃(PO₄)₂ 5 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L, NaCl 0.2 g/L, MgSO₄.7H₂O 0.1 g/L, KCl 0.2 g/L, ekstrak yeast 0.5 g/L, MnSO₄.H₂O 0.002 g/L, FeSO₄.7H₂O 0.002 g/L, dan agar 22 g/L (Saif *et al.*, 2014). Masing-masing isolat diinokulasikan pada media agar Pikovskaya dengan 3 kali pengulangan. Kultur diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25°C±2 °C (Ramirez *et al.*, 2015). Pembentukan zona bening di sekitar koloni aktinomiset mengindikasikan adanya aktivitas pelarutan fosfat. Indeks pelarutan fosfat (SI) diukur dengan jangka sorong dan dihitung menggunakan rumus:
Indeks pelarutan fosfat =

$$\frac{(\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni})}{\text{diameter koloni}}$$

Karakterisasi Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis Lima Isolat Aktinomiset Terbaik

Lima isolat pelarut fosfat dengan indeks pelarutan fosfat terbaik berdasarkan rangking aktivitas pelarutan fosfat dilakukan karakterisasi morfologi. Karakterisasi morfologi secara makroskopis meliputi bentuk koloni, warna miselium substrat, warna miselium aerial, dan permukaan koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi bentuk rantai spora. Data pengamatan kemudian dibandingkan dengan gambar dan ciri-ciri morfologi aktinomiset pada buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 9th Edition* untuk menentukan genus aktinomiset (Balakrishna *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Aktinomiset Pelarut Fosfat dari Perakaran Tembakau

Tanah perakaran tembakau yang telah diambil dianalisis untuk mengetahui kandungan P-total, P-tersedia, dan pH tanah (Tabel 1). Hasil analisis kandungan P-total dan P-tersedia menunjukkan hasil analisa dengan kadar tinggi, sedangkan pH tanah tergolong asam. Berdasarkan Balai Penelitian Tanah (2009) P tanah dengan rentang >20 ppm termasuk dalam kategori sangat tinggi. pH tanah dengan kategori pH masam mempunyai nilai dengan rentang 4,5–5,5.

Tabel 1. Hasil analisis tanah perakaran tembakau

Parameter	Hasil analisa	Kategori
P ₂ O ₅ tersedia	0,349%	Sangat tinggi
P ₂ O ₅ total	0,795%	Sangat tinggi
pH	5,27	Asam

Keterangan: 1%=10000 ppm
(Sumber: Kadar P tanah analisis UPT Laboratorium Biosains dengan spesifikasi metode SNI 2803:2010)

Aktinomiset diisolasi menggunakan media SCA. Hasil isolasi menggunakan media SCA berhasil didapatkan sebanyak 71 isolat aktinomiset yang memiliki perbedaan karakter morfologi. Hasil isolasi aktinomiset yang

didapat tersebut menunjukkan bahwa terdapat 28 isolat memiliki kemampuan melarutkan fosfat (Tabel 2). Hasil analisis sampel tanah didapatkan P tersedia tanah tergolong kategori sangat tinggi, namun tidak semua isolat mempunyai kemampuan melarutkan fosfat pada skrining awal. Hal tersebut diduga kondisi pH

habitat asal (pH 5.27) berbeda dengan pH media skrining awal (pH 5,6) sehingga mempengaruhi aktivitas fisiologis isolat aktinomiset. Perubahan kondisi seperti pH dapat mempengaruhi pertumbuhan dan keanekaragaman mikroorganisme (Zhalnina *et al.*, 2015).

Tabel 2. Indeks aktivitas aktinomiset yang memiliki kemampuan pelarut fosfat pada media *Pikovskaya* agar

No	Kode isolat	Rata-rata diameter koloni (cm)	Rata-rata diameter zona bening (cm)	Indeks aktivitas pelarut fosfat
1	ATG 1	0,8	1,08	0,35
2	ATG 8	0,8	1,05	0,31
3	ATG 9	0,8	1,3	0,63*
4	ATG 10	0,8	1	0,25
5	ATG 13	0,8	1,55	0,94*
6	ATG 26	1	1,26	0,26
7	ATG 28	1,24	1,6	0,29
8	ATG 34	0,8	1,2	0,5
9	ATG 35	0,8	1,29	0,61
10	ATG 36	0,8	1	0,25
11	ATG 37	0,8	1	0,25
12	ATG 38	0,8	1,47	0,84*
13	ATG 39	0,8	1	0,25
14	ATG 40	0,8	1,16	0,45
15	ATG 41	0,8	1	0,25
16	ATG 49	0,8	1,06	0,33
17	ATG 50	0,8	1	0,25
18	ATG 52	0,8	1	0,25
19	ATG 53	0,8	1	0,25
20	ATG 56	0,8	0,97	0,21
21	ATG 57	0,8	1	0,25
22	ATG 58	1	1,38	0,38
23	ATG 60	0,8	1,1	0,38
24	ATG 62	0,8	1,39	0,74*
25	ATG 66	0,8	1,1	0,38
26	ATG 69	0,8	1,3	0,63*
27	ATG 71	0,8	1,29	0,61
28	ATG 74	0,8	1,22	0,53

Keterangan: *= isolat terpilih dengan indeks zona bening tinggi

Skrining Aktinomiset Pelarutan Fosfat



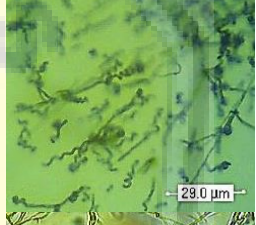
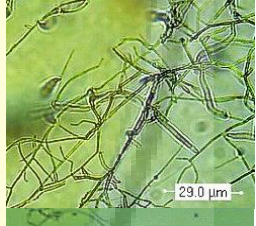
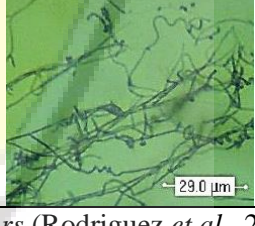
Pelarutan fosfat pada isolat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media *Pikovskaya* agar. Faried *et al.* (2018) menyatakan bahwa isolat yang membentuk zona bening memiliki kemampuan melepaskan fosfat anorganik dari media *Pikovskaya*. Media *Pikovskaya* merupakan media selektif yang mengandung trikalsium fosfat sebagai sumber

fosfat anorganik (Islam *et al.*, 2019). Kemampuan isolat dalam melarutkan fosfat diduga memiliki mekanisme pelarutan yang beragam. Surapat *et al.* (2013) melaporkan bahwa pelarutan fosfat oleh bakteri diakibatkan oleh ekskresi asam organik. Penelitian yang dilakukan oleh Hamdali *et al.* (2008) melaporkan bahwa pelarutan fosfat tidak menghasilkan asam organik akan tetapi

disebabkan adanya ekskresi zat pengkelat (siderofor) yang membentuk kompleks stabil

dengan aluminium, besi dan kalsium.

Tabel 3. Karakteristik morfologi lima isolat aktinomiset pelarut fosfat terpilih pada media ISP-2

Isolat	Morfologi koloni	Bentuk rantai spora (400x)
ATG13	Bentuk: bulat Tepian: <i>Filiform</i> Elevasi: Cembung Warna miselium substrat: <i>Golden yellow</i> Warna miselium udara: <i>Reed green</i>	
ATG38	Bentuk: bulat Tepian: <i>Filiform</i> Elevasi: <i>Umbrate</i> Warna miselium substrat: <i>Zinc yellow</i> Warna miselium udara: <i>Signal white</i>	
ATG62	Bentuk: <i>Irregular</i> Tepian: <i>Entire</i> Elevasi: Rata Warna miselium substrat: <i>Golden yellow</i> Warna miselium udara: <i>Light ivory</i>	
ATG9	Bentuk: <i>Irregular</i> Tepian: <i>Undulate</i> Elevasi: Rata Warna miselium substrat: <i>Traffic yellow</i> Warna miselium udara: <i>Traffic white</i>	
ATG69	Bentuk: <i>Irregular</i> Tepian: <i>Undulate</i> Elevasi: Rata Warna miselium substrat: <i>Maize yellow</i> Warna miselium udara: <i>Ivory</i>	

Keterangan: Penentuan warna berdasarkan *British Standard Specification for Colours* (Rodriguez *et al.*, 2018)

Penelitian Jog *et al.* (2014) juga melaporkan bahwa pelarutan fosfat akibat produksi asam organik yang berupa *gluconic acid* dan *malic acid*. Asam organik organik yang dihasilkan dapat berupa *citric acid*, *fumaric acid*, *gluconic acid*, *glutaric acid*, *glyoxalic acid*, *ketobutyric acid*, *ketoglutaric acid*, *malic acid*, *malonic acid*, *succinic acid* and *tartaric acid* (Selvi *et al.*, 2017).

Tiap isolat menghasilkan nilai pelarutan fosfat yang beragam. Hal tersebut diduga karena jenis dan jumlah asam organik yang diekskresikan berbeda. Penelitian oleh Mardad *et al.* (2013) melaporkan bahwa organisme yang berbeda menghasilkan tingkat kelarutan fosfat yang berbeda dan pelarutan P tinggi disebabkan oleh perbedaan asam organik dan konsentrasi asam organik yang dihasilkan.

Karakterisasi Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis 5 Isolat Aktinomiset Terbaik

Lima isolat aktinomiset yaitu ATG13, ATG38, ATG62, ATG9, dan ATG69 mempunyai indeks pelarutan fosfat yang lebih baik dari total 28 isolat pelarut fosfat yang lain. Lima isolat tersebut dilakukan pengamatan morfologi meliputi bentuk isolat, tepian, elevasi (permukaan), warna miselium substrat, warna miselium udara dan bentuk rantai spora. Hasil pengamatan morfologi tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat aktinomiset pelarut fosfat lima terbaik menunjukkan bahwa kelima isolat memiliki karakter yang berbeda. Isolat ATG13 dan ATG38 memiliki bentuk bulat dengan tepian *filiform*. Elevasi keduanya berbeda ATG13 memiliki elevasi cembung dan ATG38 *umbonate*. Warna miselium substrat yang dihasilkan ATG13 *Golden yellow* dan ATG38 *Zinc yellow*. Warna miselium udara ATG13 *Reed green* dan *Signal white*. Isolat ATG62, ATG9 dan ATG69 memiliki bentuk koloni *irregular* dan elevasi rata yang membedakan ketiganya, salah satunya pada type tepian. ATG62 tepiannya *entire* yaitu memiliki tepian yang rata, sementara ATG9 dan ATG69 adalah *undulate* yang tepiannya bergelombang. Ketiganya menghasilkan warna miselium substrat dan udara yang berbeda. ATG62 memiliki warna miselium substrat *golden yellow* dan miselium udara *light ivory*. ATG9 memiliki warna miselium substrat *traffic yellow* dan miselium udara *traffic white*. ATG69 memiliki warna miselium substrat *maize yellow* dan miselium udara *ivory*. Berdasarkan bentuk rantai spora aktinomiset dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 9th empat isolat aktinomiset berdasarkan rangking indeks pelarutan tertinggi termasuk dalam genus *Streptomyces* yang memiliki bentuk rantai spora spiral.

KESIMPULAN

Aktinomiset yang berhasil diisolasi dari perakaran tembakau berjumlah 71 isolat. Aktinomiset yang memiliki potensi sebagai

pelarut fosfat berjumlah 28 isolat (39,4%). Isolat aktinomiset yaitu ATG13, ATG38, ATG62, ATG9, dan ATG69 mempunyai indeks pelarutan fosfat yang lebih baik dari total 28 isolat pelarut fosfat yang lain. Berdasarkan bentuk rantai spora, empat isolat isolat aktinomiset yang memiliki rangking indeks pelarutan tertinggi termasuk dalam genus *Streptomyces*.

SARAN

Penelitian lanjutan yang dapat dilanjutkan adalah menganalisis asam organik yang terkandung dalam isolat. Identifikasi secara molekuler dapat dilakukan untuk mengetahui spesies aktinomiset pelarut fosfat terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar. S., B. Ali dan I. Sajid. 2016. Screening Of Rhizospheric Actinomycetes For Various In-Vitro and In-Vivo Plant Growth Promoting (PGP) Traits and For Agroactive Compounds. *Frontiers In Microbiology*. Vol 7:1 – 11.
- Barka E. A., P. Vatsa, L. Sanchez, N. Gaveau-Vaillant, C. Jacquard, H. Klenk, C. Clément, Y. O. G. P. van Wezeld. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80:1–43.
- BPS, 2019. Produksi Tanaman Perkebunan Menurut Kabupaten/Kota dan Jenis Tanaman di Provinsi Jawa Timur (ton), 2018. <https://jatim.bps.go.id/statictable/2019/10/08/1604/produksi-tanaman-perkebunan-menurut-kabupaten-kota-dan-jenis-tanaman-di-provinsi-jawa-timur-ton-2018.html> (diakses 17 Oktober 2020).
- Balai Penelitian Tanah. 2009. Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air, dan Pupuk. Bogor. Balai Penelitian Tanah.
- Balakrishna. G., A. Shiva Shanker and Pavan Kumar Pindi. 2012. Isolation of Phosphate Solubilizing Aktinomiset from Forest Soils of Mahabubnagar District. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2(2): 271-275.
- Djajadi, S. N. Hidayati dan R. Syaputra. 2016. Pengaruh Pupuk Majemuk terhadap

- Produksi dan Mutu Tembakau Virginia. *Jurnal Littri*. 22(2): 91 – 98.
- Faried, A. Shaimaa, H.M. Mohamed., M.M. El-Dsouky dan H. M. El-Rewainy. 2018. Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Actinomycetes from Rhizosphere Soil. *Assiut J. Agric. Sci.*, 49(4): 125-137.
- Gizaw B, Z. Tsegay, G. Tefera, E. Aynalem, M. Wassie dan E. Abatneh. 2017. Phosphate Solubilizing Fungi Isolated and Characterized from Teff Rhizosphere Soil Collected from North Showa zone, Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*. 11(17): 687-696.
- Hamdali H., K. Moursalou, G. Tchangbedji, Y. Ouhdouch dan M. Hafidi. 2012. Isolation and Characterization of Rock Phosphate Solubilizing Actinobacteria from a Togolese Phosphate Mine. *African Journal of Biotechnology*. 11(2): 312-320.
- Hamdali, H., Bouizgarne, B., Hafidi, M., Lebrihi, A., Virolle, M.J, Ouhdouch, Y. 2008. Screening For Rock Phosphate Solubilizing Actinomycetes from Moroccan Phosphate Mines. *Applied Soil and Ecology*. 38: 12-19.
- Herawati W.D. 2013. *Teknik Budidaya Tembakau Varietas Virginia*. Jogjakarta: Trans Idea Publishing.
- Hutapea A. S., T. Hadiastono, dan M. Martosudiro. 2014. Pengaruh Pemberian Pupuk Kalium (KNO₃) Terhadap Infeksi *Tobacco Mosaik Virus* (TMV) pada Beberapa Varietas Tembakau Virginia (*Nicotiana tabacum* L.). *Jurnal HPT*. (2)1: 102-109.
- Ingle. K. P., dan D. A. Padole. 2017. Phosphate Solubilizing Microbes: An Overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 6(1): 844-852.
- Irawan D., Irsal, dan Haryati. 2015. Respons Pertumbuhan Tembakau Deli (*Nicotiana tabacum* L.) Terhadap Pemberian Pupuk Nitrogen dan Zeolit. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 3(3): 904 – 914.
- Islam, M, Sano, Majumder, M. S. Hossain, dan M. Sakagami. 2019. Isolation and molecular characterization of phosphate solubilizing filamentous fungi from subtropical soils in Okinawa. *Applied Ecology and Environmental Research*. 17(4):9145-9157.
- Jog R., M. Pandya, G. Nareshkumar dan S. Rajkumar. 2014. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology*. 160: 778–788.
- Namh A., A. Mahmood, B. Sevilir, dan E. Özkır. 2017. Effect of Phosphorus Solubilizing Bacteria on Some Soil Properties, Wheat Yield and Nutrient Contents. *Eurasian J Soil Sci*. 6(3): 249 – 258.
- Nash D. M., P. M. Haygarth, B. L. Turner, L. M. Condron, R. W. McDowell, A. E. Richardson, M. Watkins, dan M. W. Heaven. 2014. Using organic phosphorus to sustain pasture productivity: A perspective. *Geoderma*. 221: 11–19.
- Parnell J. J., R. Berka, H. A. Young, J. M. Sturino, Y. Kang, D. M. Barnhart dan M. V. DiLeo. 2016. From the Lab to the Farm: An Industrial Perspective of Plant Beneficial Microorganisms. *Frontiers in Plant Science*. 7:1110.
- Poomthongdee, N., K. Duangmal, dan W. Pathom-aree. 2015. Acidophilic actinomycetes from rhizosphere soil: diversity and properties beneficial to plants. *The Journal of Antibiotics*. 68: 106–114.
- Ramirez L. M., D. González-Mendoza, C. Cecena-Duran dan O. 2015. Grimaldo-Juarez. Molecular identification of phosphatesolubilizing native bacteria isolated from the rhizosphere of *Prosopis glandulosa* in Mexicali valley. *Genetics and Molecular Research*. 14 (1): 2793-2798.
- Rodriguez C. A., T C Gavilánez, J P Chamorro, A G Vinueza, D M Salazar dan M Y Arancibia. 2018. Selective Isolation and Phenotypic Characterization of Bacteria and Actinomycetes from Oil-contaminated Soils. *9th International*

- Conference on Environmental Science and Development. IOP Publishing: 151.*
- Saif. S., M. S. Khan, A. Zaidi, dan E. Ahmad. 2014. Role Of Phosphate-Solubilizing Actinomycetes In Plant Growth Promotion: Current Perspective in *Phosphate-Solubilizing Microorganisms*. Editor Khan M.S., A. Zaidi dan J. Mussarat. Switzerland: Springer International Publishing
- Sameera B., H. S. Prakash dan M. S. Nalini. 2018. Actinomycetes from the Coffee Plantation Soils of Western Ghats: Diversity and Enzymatic Potentials. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 7(8): 3599-3611.
- Satyaprakash. M., T. Nikitha., E. U. B. Reddi, B. Sadhana, dan S. S. Vani. 2017. A Review On Phosphorous And Phosphate Solubilising Bacteria And Their Role In Plant Nutrition. *International Journal Of Current Microbiology And Applied Scences*. Vol. 6: 2133–2144.
- Surapat W., C. Pukahuta, P. Rattanachaikunsopon, T. Aimi, dan S. Boonlue. 2013. Characteristics of Phosphate Solubilization by Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from Agricultural Chili Soil and Their Efficiency on the Growth of Chili (*Capsicum frutescens* L. cv. Hua Rua). *Chiang Mai Journal Science*. 40(1) : 11-25.
- Selvi K, Paul J, Vijaya V dan Saraswathi K. 2017. Analyzing the Efficacy of Phosphate Solubilizing Microorganisms by Enrichment Culture Techniques. *Biochemistry & Molecular Biology Journal*. 3(1): 1-7.
- Sharma S. B., R. Z Sayyed, M. H Trivedi, and T. A Gobi. 2013. Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency In Agricultural Soils. *Springerplus*. 2:587.
- Soemarah K.D. T, T. Supriyadi, E. Suprpti, dan Haryuni. 2020. Pengaruh jenis pupuk terhadap produksi daun tembakau (*Nicotiana tabacum*). *AGRINECA*. 20(1): 68-75.
- Yadav B.K, dan Verma A. 2012. Phosphate Solubilization and Mobilization In Soil Through Soil Microorganisms Under Arid Ecosystems in *The Functioning Of Ecosystems*. Editor Ali M. Croatia: In Tech.
- Zaidi. A., S. Khan, dan E. Ahmad. 2014a. Chapter 1 Microphos: Principles, Production and Application Strategies in *Solubilizing Microorganisms*. Editor Khan M.S., A. Zaidi dan J. Mussarat. Switzerland: Springer International Publishing.
- Zhalnina K., R. Dias, P. D. Quadros, A. Davis-Richardson, F. A. O. Camargo, I. M. Clark, S. P. McGrath, P. R. Hirsch dan E. W. Triplett. 2015. Soil pH Determines Microbial Diversity and Composition in the Park Grass Experiment. *Microbial Ecology*. 69 (2015) :395–406