



EKSPLORASI BAKTERI TERMOFIL DARI MATA AIR PANAS YANG MAMPU MELARUTKAN PHOSPHOR (P)

Desak Ketut Tristiana Sukmadewi^{1*}, I Nengah Muliarta¹, Ida Bagus Komang Mahardika¹

¹Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa
Jl. Terompong NO. 24, Sumerta Klod, Kec. Denpasar Tim, Kota Denpasar, Bali 80239

Corresponding Author: tristianasukmadewi@gmail.com

ABSTRAK

Perubahan iklim secara signifikan mengubah komunitas mikrob tanah. Mikrob memiliki banyak peranan penting dalam tanah, khususnya dalam meningkatkan ketersediaan dan penyerapan hara. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis populasi bakteri termofil dari mata air panas dan menganalisis kemampuan bakteri termofil tersebut dalam melarutkan P. Tahapan penelitian terdiri dari pengambilan sampel air dan tanah dari Desa Toya Bungkah, Kintamani, Bangli dengan teknik *purposive sampling*. Isolasi bakteri termofil dari sampel tanah dan air dengan *dilution method*. Bakteri hasil isolasi kemudian diuji patogenitas (hemolisis dan hipersensitif). Isolat bakteri yang lolos uji patogenitas diuji lebih lanjut kemampuannya dalam melarutkan P pada medium Pikovskaya cair. Berdasarkan 5 lokasi sampling tanah dan air di sekitar pemandian air panas menunjukkan populasi tertinggi didapatkan dari lokasi 2 (Tanah di sekitar pancoran air panas). Jumlah populasi bakteri pada lokasi 2 adalah $1,7 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah isolat pada lokasi tersebut adalah sebanyak 3 isolat. Hasil uji hemolisis menunjukkan bahwa dari 13 isolat yang didapatkan empat isolat terdeteksi tidak menyebabkan hemolisis gamma, satu isolat menyebabkan hemolisis alpha dan delapan isolat menyebabkan hemolisis beta. Uji hipersensitif pada tanaman tembakau menunjukkan semua isolat memberikan reaksi negatif atau tidak adanya reaksi hipersensitif. Berdasarkan lima isolat yang diuji lebih dalam melarutkan P, hanya satu isolat yang dapat melarutkan P yaitu isolate AP1 (27,93 ppm). Kemampuan melarutkan P yang tergolong tinggi.

Kata kunci: perubahan iklim, kesuburan tanah, mikrob, phosphor, termofil

ABSTRACT

EXPLORATION OF THERMOPHILIC BACTERIA FROM HOT SPRINGS THAT ARE CAPABLE OF DISSOLVING PHOSPHOR (P). Climate change has an impact on the agricultural sector. The disruption of climate change significantly alters soil microbial communities. Microbes have many important roles in soil, especially in increasing nutrient availability and absorption. This research aimed to analyze the population of thermophilic bacteria from hot springs and analyze the ability of these thermophilic bacteria to dissolve P. The research stages consisted of taking water and soil samples from Toya Bungkah Village, Kintamani, Bangli using a purposive sampling technique. Isolation of thermophilic bacteria from soil and water samples that have been taken. The isolated bacteria were then tested for pathogenicity (hemolysis and hypersensitivity). Bacterial isolates that passed the pathogenicity test were further tested for their ability to solubilize P in a liquid Pikovskaya medium. Based on 5 soil and water sampling locations around the hot springs, it shows that the highest population was obtained from location 2 (land around the hot springs). The total

bacterial population at location 2 was 1.7×10^5 CFU/g. The number of isolates at this location was 3 isolates. The results of the hemolysis test showed that of the 13 isolates obtained, four isolates were detected that did not cause gamma hemolysis, one isolate caused alpha hemolysis and eight isolates caused beta hemolysis. Hypersensitivity tests on tobacco plants showed that all isolates gave negative reactions or no hypersensitive reactions. Based on the five isolates that were tested to dissolve P, only one isolate could dissolve P, namely isolate AP1 (27.93 ppm). The ability to dissolve P is relatively high.

Keywords: climate change, microbes, phosphorus, soil fertility, thermophiles

PENDAHULUAN

Sektor pertanian dipengaruhi oleh perubahan iklim. Suhu dan kelembaban tanah biasanya berpengaruh pada pertumbuhan tanaman. Komunitas mikrob tanah diubah secara signifikan oleh perubahan iklim. Perubahan iklim berdampak pada stabilitas dan fungsi microbiome tanah. Pemanasan global mengubah hampir semua jenis ekosistem secara bertahap. Hal ini menyebabkan perubahan iklim menjadi masalah yang serius. Dampak perubahan iklim dapat digambarkan dengan kenaikan suhu permukaan bumi, melelehnya salju di kutub utara, kenaikan permukaan air laut, dan gangguan keragaman hayati (Karyati et al., 2018).

Mikrob akan merespons dengan cara yang berbeda ketika iklim mikro di dalam tanah berubah. Sebaliknya, mikrob yang mampu beradaptasi akan mampu bertahan hidup. Aktivitas mikrob dalam respons terhadap perubahan iklim memengaruhi keseimbangan penyimpanan karbon tanah. Aktivitas mikrob ini sebagian akan mengontrol dan mengontrol kehilangan suhu dan curah hujan di masa depan. Mikrob memainkan banyak peran penting dalam tanah, terutama dalam meningkatkan ketersediaan dan penyerapan unsur hara. Mikrob tanah dapat meningkatkan ketersediaan dan penyerapan unsur hara, meningkatkan ketahanan tanaman, melindunginya dari penyakit dan hama, dan menghasilkan senyawa yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman. Mikrob pelarut phosphor adalah salah satu dari banyak pupuk hayati yang berperan penting dalam meningkatkan ketersediaan unsur hara.

Penggunaan pupuk fosfor terus-menerus di lahan pertanian intensif menyebabkan kadar fosfor tanah yang tinggi. Meskipun demikian, sebagian besar bentuknya tidak dapat diserap tanaman (Khan et al., 2007). Menurut penelitian Muliana et al. (2018), praktik pertanian intensif yang secara teratur menggunakan pupuk anorganik dengan dosis dan intensitas yang tinggi pada tanaman bawang merah Brebes menyebabkan akumulasi fosfor. Unsur fosfor yang terakumulasi sebagian besar tidak dapat diakses, sehingga tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Fiksasi fosfor pada tanah masam dapat menyebabkan fosfor tidak tersedia untuk tanaman. Jika kemampuan fiksasi tanah yang tinggi menyebabkan ketersediaan P tanah rendah, pemberian pupuk saja tidak efektif (Sanyai dan de Datta, 1991; Achal et al., 2007).

Mikrob pelarut P memiliki peranan penting di *microbiome* tanah dalam meningkatkan ketersediaan hara. Hal ini menjadi penting untuk mengeksplorasi mikrob pelarut P dan K yang dapat bertahan hidup atau mampu beradaptasi

dengan adanya perubahan iklim. Oleh karena itu perlu eksplorasi untuk mendapatkan agen hayati yang memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi yang memiliki kemampuan beradaptasi pada daerah-daerah yang ekstrim. Salah satunya adalah bakteri yang tergolong termofil yang mampu beradaptasi pada suhu tinggi. Bakteri ini dapat diisolasi pada tempat-tempat yang memiliki suhu tinggi, diantaranya adalah sumber mata air panas (Lele, 2016; Mohammad et al., 2017).

Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa bakteri termofil yang diisolasi di mata air panas seperti *Bacillus licheniformis* yang diisolasi dan dikarakterisasi secara molekuler oleh Saharan dan Verma (2014) menunjukkan kemampuan beberapa karakteristik pemacu pertumbuhan tanaman seperti produksi amonia, produksi asam indol asetat, pelarutan fosfat, produksi katalase, toleransi logam berat dan aktivitas deaminase ACC. Isolat ini merupakan kandidat *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang potensial untuk meningkatkan pertanian berkelanjutan. Gutiérrez-Manero et al. (2001) melaporkan bahwa *Bacillus pumilus* dan *Bacillus licheniformis* telah dilaporkan menghasilkan giberelin. Penelitian lain menunjukkan bahwa *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus thuringiensis* ditemukan sebagai agen biokontrol potensial yang memiliki aktivitas kitinolitik (Sadfi et al., 2001). Strain *Bacillus licheniformis* SB3086 mensekresi Novozim melalui sporanya yang berperan penting sebagai strain pelarut fosfat dan juga efektif terhadap penyakit berak tanaman (Sahara dan Verma, 2014). Kayasth et al. (2013) melaporkan bahwa *Bacillus licheniformis* diidentifikasi dan dieksplorasi sebagai strain PGPR yang potensial untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati multifungsi yang dapat meningkatkan produksi tanaman. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis populasi bakteri termofil dari mata air panas dan menganalisis kemampuan bakteri termofil tersebut dalam melarutkan P. Pentingnya menganalisis kemampuan bakteri termofil adalah untuk mendapatkan isolat bakteri sebagai agen pupuk hayati yang mampu beradaptasi dengan kenaikan suhu lingkungan akibat perubahan iklim.

METODE PENELITIAN

Sampel air dan tanah diambil di Desa Toya Bungkah, Kintamani, Bangli, Bali dengan teknik *purposive sampling*. Isolasi, karakterisasi dan pengujian mikrob dalam melarutkan P dilakukan di Laboratorium Analisis Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa. Pengujian pelarutan P dan K terlarut dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.

Isolasi Bakteri Termofil dari Mata Air Panas

Isolasi bakteri termofil dilakukan dengan metode pengenceran. Sampel air diambil 1 ml dan untuk sampel tanah diambil 1 g. Tahapan isolasi dimulai dengan memasukkan masing-masing sampel ke dalam 9 ml larutan fisiologis (10^{-1}). Sampel yang sudah dimasukan ke dalam larutan fisiologis kemudian dihomogenkan selama 30 menit. Sampel diencerkan dengan mensuspensikan 1 ml media dari larutan fisiologis yang telah dihomogenkan ke dalam 9 ml

larutan fisiologis untuk pengenceran 10^{-2} . Langkah tersebut diulang sampai pengenceran 10^{-4} . Isolasi bakteri menggunakan metode *pour plate*. Sebanyak 0,1 ml hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan. Media yang telah tercampur dengan suspensi pengenceran diinkubasi selama tiga sampai lima hari pada suhu 50°C.

Seleksi Patogenitas bakteri Termofil Hasil Isolasi

Pengujian respon hipersensitif dilakukan untuk mengetahui potensi bakteri pelarut P sebagai patogen bagi tanaman. Pengujian respon hipersensitif dilakukan dengan membiakkan isolat bakteri pada media *Nutrient broth* (NB) dan diinkubasi selama 12 jam pada suhu ruang (Schaad et al., 2001). Isolat pada media NB kemudian diambil menggunakan alat suntik (*syringe*) lalu disuntikkan sebanyak 0,1 ml (10^8 CFU/ml) ke daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). Penyuntikan isolat ke daun tembakau dilakukan tanpa menggunakan jarum suntik. Kontrol negatif dilakukan dengan menyuntikkan daun tembakau menggunakan *aquadest* steril. Pengamatan dilakukan dengan mengamati perubahan pada daun tembakau selama 72 jam, jika terjadi gejala nekrosis pada titik penyuntikan, maka bakteri pelarut P dan K tersebut berpotensi sebagai patogen tanaman. Pengujian hemolisis dilakukan untuk mengetahui potensi bakteri pelarut P dan K sebagai patogen bagi manusia dan hewan. Uji hemolisis dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pelarut P yang lulus dari uji hipersensitif pada media *Blood agar* yang telah dicampur darah domba 5% (Difco, 2009). Media *blood agar* tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni menunjukkan bahwa koloni mikrob tersebut bersifat patogen bagi manusia dan hewan.

Uji Kemampuan Bakteri Termofil dalam Melarutkan P

Pengujian kemampuan melarutkan P pada media cair, dilakukan dengan menginokulasikan mikrob ke dalam media Pikovskaya (sumber P sukar larut yang digunakan $\text{Al}_3(\text{PO}_4)$). Media Pikovskaya cair yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi selama 168 jam dalam kondisi dikocok menggunakan *shaker*. Sampel yang telah diinkubasi selama 168 jam kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 25 menit. Supernatan yang didapatkan kemudian dipipet sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan larutan pereaksi PB (asam borat 0,5%; ammonium molibdat 0,38%; HCl 7,5%) kemudian ditambahkan 5 tetes larutan pereduksi. Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS 1280 Shimadzu dengan panjang gelombang 660 nm. Sebelum pengukuran dibuat larutan standar menggunakan KH_2PO_4 (Grover, 2003; Ahmad et al., 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi Bakteri Termofilik yang Diisolasi dari Mata Air Panas dan Sekitarnya

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari lima lokasi sampling tanah dan air di sekitar pemandian air panas menunjukkan populasi terbesar didapatkan dari lokasi 2. Jumlah populasi bakteri pada lokasi dua adalah $1,7 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah isolat pada lokasi tersebut adalah sebanyak tiga isolat. Sampel yang diambil dari lokasi dua merupakan sampel tanah yang berada di dekat pancoran air panas. Jumlah isolat terbesar didapatkan pada lokasi 1, dengan jumlah isolat sebanyak lima isolat. Sampel yang diambil dari lokasi juga merupakan sampel tanah yang diambil sekitar pemandian air panas. Penentuan jumlah jenis isolat berdasarkan karakteristik morfologi dari isolat tersebut.

Tabel 1. Populasi Bakteri dan Jumlah Isolat dari Masing-Masing Lokasi Sampling

| No | Jenis Sampel | Populasi Bakteri/ <i>Total Plate Count (TPC)</i> | Jumlah Jenis Isolat |
|----|--|--|---------------------|
| 1 | Tanah Lokasi 1 (Tanah Kebun sekitar pemandian air panas) | 1×10^5 CFU/g | 5 |
| 2 | Tanah Lokasi 2 (Tanah Dekat Pancoran) | $1,7 \times 10^5$ CFU/g | 3 |
| 3 | Air Lokasi 1 (Air Pancoran) | 2×10^4 CFU/ml | 2 |
| 4 | Air Lokasi 2 (Air Pancoran) | 1×10^4 CFU/ml | 1 |
| 5 | Air Lokasi 3 (Air Pancoran) | 2×10^4 CFU/ml | 2 |

Isolat yang didapatkan dari hasil sampling kemudian lebih lanjut diuji hemolisis. Dari hasil uji hemolisis menunjukkan bahwa dari 13 isolat yang didapatkan empat isolat terdeteksi tidak menyebabkan hemolisis atau disebut dengan hemolisis gamma. Delapan isolat menyebabkan hemolisis Beta. Hemolisis beta merupakan hemolisis paling ekstensif. Bakteri yang mengalami beta hemolisis menghasilkan enzim yang disebut hemolisis yang mampu mampu menghancurkan eritrosit secara lengkap. Hasilnya terbentuk zona bening atau pucat di sekitar koloni bakteri pada media agar tanah. Satu isolat menunjukkan Alpha hemolisis. Dalam Alpha hemolisis atau hemolisis parsial, bakteri menghasilkan enzim yang mengoksidasi haemoglobin dalam eritrosit dan mengubahnya menjadi methaemoglobin. Hal ini menyebabkan terbentuknya zona hijau atau kehijauan di sekitar koloni bakteri pada media agar darah. Hemolisis alpha ini tidak lengkap, sehingga media agar darah terlihat hijau kecoklatan (Hall dan Lyman, 2006).

Bakteri yang telah lolos uji hemolisis kemudian diuji hipersensitif lebih lanjut. Dari hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau menunjukkan bahwa semua isolat tidak menunjukkan adanya reaksi hipersensitif. Daun yang disuntikkan bakteri tersebut tetap berwarna hijau, tidak menunjukkan perubahan warna menjadi kecoklatan.

Tabel 2. Hasil Pengujian Hemolisis

| No | Kode Isolat | Hasil Uji Hemolisis |
|----|-------------|---------------------|
| 1 | TB1 | Gama |
| 2 | TB2 | Gama |
| 3 | TB3 | Beta |
| 4 | TB4 | Beta |
| 5 | TB5 | Beta |
| 6 | TP1 | Beta |
| 7 | TP2 | Beta |
| 8 | TP3 | Beta |
| 9 | AK1 | Gama |
| 10 | AP1 | Alpha |
| 11 | AP2 | Beta |
| 12 | AG1 | Beta |
| 13 | AG2 | Gama |

Ket: TB1-TB5 : Tanah lokasi 1 (Tanah kebun)
 TP1-TP2 : Tanah lokasi 2 (Tanah dekat pancoran)
 AK1 : Air lokasi 1 (Air Pancoran)
 AP1-AP2 : Air lokasi 2 (Air Pancoran)
 AG1-AG2 : Air lokasi 3 (Air Pancoran)

| No | Kode Isolat | Hasil Uji Hipersensitif |
|----|-------------|-------------------------|
| 1 | TB1 | - |
| 2 | TB2 | - |
| 3 | AP1 | - |
| 4 | AK1 | - |
| 5 | AG1 | - |

Tabel 3. Hasil Uji Hipersensitif

Ket: (-) menunjukkan reaksi negatif
 (+) menunjukkan reaksi positif

Kemampuan Bakteri Termofilik dalam Melarutkan P

Dari hasil uji hemolisis terdapat lima isolat yang diuji lebih lanjut dalam melarutkan P. Berdasarkan hasil uji dalam melarutkan P hanya satu isolat yang memiliki kemampuan dalam melarutkan P yaitu isolat AP1 (Tabel 3). Isolat AP1 merupakan isolat yang diisolasi dari air pancoran. Kemampuan isolat dalam

melarutkan P diduga karena bakteri tersebut menghasilkan asam organik. Asam organik yang berperan dominan dalam proses melarutkan P bergantung sumber P yang digunakan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pengukuran menggunakan HPLC terhadap produksi asam organik telah mengkonfirmasi bahwa isolat-isolat mikrob pelarut P menghasilkan asam asetat, oksalat dan asam sitrat pada media cair Pikovskaya yang menggunakan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Penelitian Prijambada *et al.* (2009) pada saat digunakan sumber P $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, asam organik yang dihasilkan adalah asam malat dan sitrat. Penelitian Bolan *et al.* (1994), Sagoe *et al.* (1997) dan Kumari *et al.* (2008) juga melaporkan bahwa asam malat, oksalat dan asam sitrat memiliki kemampuan untuk melepaskan P dari P sukar larut seperti $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Hasil sekresi asam organik yang dihasilkan oleh mikrob pelarut P berfungsi sebagai katalisator, pengkhelat dan memungkinkan asam-asam organik tersebut membentuk senyawa kompleks dengan kation-kation Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Al^{3+} , sehingga terjadi pelarutan P menjadi bentuk tersedia. Penggunaan mikrob pelarut P juga dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan P alam. Sebagian besar P alam di dunia memiliki kelarutan yang rendah (Srivastava *et al.*, 2007).

Tabel 4 . Kemampuan Isolat dalam melarutkan P

| No | Kode Isolat | P terlarut (ppm) |
|----|-------------|------------------|
| 1 | TB1 | 0 |
| 2 | TB2 | 0 |
| 3 | AP1 | 27,93 |
| 4 | AK1 | 0 |
| 5 | AG1 | 0 |

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari 5 lokasi sampling tanah dan air di sekitar pemandian air panas menunjukkan populasi tertinggi didapatkan dari lokasi 2 (Tanah di sekitar pancoran air panas). Jumlah populasi bakteri pada lokasi dua adalah $1,7 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah isolat pada lokasi tersebut adalah sebanyak 3 isolat. Hasil uji hemolisis menunjukkan bahwa dari 13 isolat yang didapatkan empat isolat terdeteksi tidak menyebabkan hemolisis gamma, satu isolat menyebabkan hemolisis alpha dan delapan isolat menyebabkan hemolisis beta. Uji hipersensitif pada tanaman tembakau menunjukkan semua isolat memberikan reaksi negatif atau tidak adanya reaksi hipersensitif. Berdasarkan lima isolat yang diuji lebih dalam melarutkan P, hanya satu isolat yang dapat melarutkan P yaitu isolate AP1 (27,93 ppm).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Warmadewa yang telah memberikan pendanaan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Achal, V., Savant, V. V., & Reddy, M. S. 2007. Phosphate Solubilization by a Wild Type Strain and Uv Induced Mutants of *Aspergillus tubugensis*. *Soil Biol Biochem*, 39: 695-699.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Aqil, F., Wani, A. A., & Sousche, Y., Y. 2006. Plant Growth Promoting Potential of Free-Living Diazotroph and other Rhizobacterial Isolated from Northern Indian soil. *Biothecnol J*, 1112-1123.
- Archana, D.S. 2007. Studies on Potassium Solubilizing Bacteria. *Tesis*. Dharwad (IN): University of Agricultural Sciences.
- Bolan NS, Naidu R, Mahimairaja S, & Baskaran S. 1994. Influence of Low-Molecular-Weight Organic Acids on the Solubilization of Phosphates. *Biol. Fertil. Soils*, 18: 311-319.
- Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arunshen, A. B., Lai, W. A., & Young, C. C. 2006. Phosphate Solubilizing Bacteria from Subtropical Soil and their Tricalcium Phosphate Solubilizing Abilities. *Appl Soil Ecol*, 34 : 33–41.
- Cihan, A. C., Tekin, N., Ozcan, B., & Cokmus, C. 2012. The Genetic Diversity of Genus *Bacillus* and the Related Genera Revealed by 16S rRNA Gene Sequences and Ardra Analyses Isolated from Geothermal Regions of Turkey. *Braz. J. Microbiol*, 43 : 309–324.
- Difco. 2009. *Manual Microbiological Culture Media 2nd*. Mj. Zimbro, D.A. Powder, S.M. Miller, G.E. Wilson and J.A. Jonhson (Eds.). Becton, Dickinson and Company, Maryland.
- Grover R. 2003. Rock Phosphate Solubilizing Microbes as a Source of Nutrients for Crops. *Dissertation*. Thapar (IN), Thapar Institute of Engineering and Technology.
- Gutiérrez-Manero, F. J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouachi, J., R Tadeo, F., & Talon, M. 2001. The Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* Produce High Amounts of physiologically Active Gibberellins. *Physiol. Plant*, 111 : 206–211.
- Hall, K.K. & J.A. Lyman. 2006. Update Review of Blood Culture Contamination. *Clin.Microbiol.Rev*, 19 : 788–802
- Karyati, Putri, R. O., & Syafrudin, M. 2018. Suhu dan Kelembaban Tanah pada Lahan Revegetasi Pasca Tambang di PT Admitra Baratama

- Nusantara, Porivinsi Kalimantan Timur. *Jurnal Agrifor*, 27 (1) : 103-114.
- Kayasth, M., Kumar, V., & Gera, R. 2013. Exploring the Potential of PGPR strain *Bacillus licheniformis* to be Developed as Multifunctional Biofertilizer. *Cent. Eur. J. Biol.*, 2 : 12–17.
- Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. 2007. Role of Phosphate-Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agriculture – A review. *Agron Sustain Dev*, 27 : 29–43.
- Kumari A, Kapoor KK, Kundu BS, & Mehta RK. 2008. Identification of Organic Acids Produced During Rice Straw Decomposition and their Role in Rock Phosphate Solubilization. *Plant Soil Environ*, 54: 72-77.
- Lele, O. H., & Deshmukh, P. V. 2016. Isolation and Characterization of Thermophilic *Bacillus* sp. with Extracellular Enzymatic Activities from Hot Spring of Ganeshpuri, Maharashtra, India. *Int. J. Appl. Res.* 2 : 427–430.
- Mardad, I., Serrano, A., & Soukri, A. 2013. Solubilization of Inorganic Phosphate and Production of Organic Acids by Bacteria Isolated from a Moroccan Mineral Phosphate Deposit. *Afr J Microbiol Res*, 7(8): 626-635.
- Mohammad, B. T., Al Daghistani, H. I., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., & Kennes, C. 2017. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as Potential Producers of Thermostable Enzymes. *Int. J. Microbiol.* 2017: 6943952.
- Muliana, Hartono, A., Anwar, S., Dinorahman, S., & Sabiham, S. 2018. Harvesting of Residual Soil Phosphorus on Intensive Shallot Farming in Brebes, Indonesia, *AJAS*, 40(3) : 515-526.
- Panda, A. K., Bisht, S. S., Kumar, N. S., & Mandal, S. D. 2015. Investigations on the Microbial Diversity of Jakrem Hot Spring, Meghalaya, India using Cultivation-Independent Approach. *Genomics* 4 : 156–157.
- Prijambada ID, Widada J, Kabirun S, & Widianto D. 2009. Secretion of Organic Acids by Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated From oxisols. *J. Tanah Trop*, 14(3) : 245-251.
- Sadfi, N., Cherif, M., Fliss, I., Boudabbous, A., & Antoun, H. 2001. Evaluation of Bacterial Isolates from Salty Soils and *bacillus thuringiensis* Strains for the Biocontrol of Fusarium Dry Rot of Potato Tubers. *J. Plant Pathol*, 101–117.

- Saharan, B. S., & Verma, S. 2014. Potential Plant Growth Promoting Activity of *Bacillus licheniformis* UHI(II)7. *Int. J. Microbial Res. Technol.*, 2 : 22–27.
- Sanyai, S. K, & De Data, S. K. 1991. Chemistry of Phosphorus Transformation in Soil. *JASS*, 16 : 11-19.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., & Chun, W. 2001. *Plant Pathogenic Bacteria*. 3rd ed. Minnesota (US):American Phytopatological Society.
- Srivastava S, Kausalya MT, Archana G, Rupela OP, & Naresh-Kumar G. 2007. Efficacy of Organic Acid Secreting Bacteria in Solubilization of Rock Phosphate in Acidic Alfisols. First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. *Springer*. p 117-124.