

**DINAMIKA KELIMPAHAN *Azotobacter* DAN BAKTERI
PELARUT FOSFAT PADA TANAH ULTISOL PERTANAMAN NANAS
PT GREAT GIANT PINEAPPLE, LAMPUNG TENGAH DENGAN
VARIASI KEDALAMAN BAJAK DAN JENIS KOMPOS**

(Skripsi)

Oleh

AHMAD BINTANG PAMELA

NPM 2017021005



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2025**

ABSTRAK

DINAMIKA KELIMPAHAN *Azotobacter* DAN BAKTERI PELARUT FOSFAT PADA TANAH ULTISOL PERTANAMAN NANAS PT GREAT GIANT PINEAPPLE, LAMPUNG TENGAH DENGAN VARIASI KEDALAMAN BAJAK DAN JENIS KOMPOS

Oleh

AHMAD BINTANG PAMELA

Penurunan angka produksi nanas Kabupaten Lampung Tengah terjadi pada tahun 2023, dimana penurunan mencapai 16,4% dari angka produksi nanas tahun 2022 (8,6 juta kuintal). Penurunan angka produksi nanas tersebut berasal dari PT Great Giant Pineapple (PT GGP), dengan masalah akumulasi polimer serasah tanaman nanas (bahan penyusun kompos) pada lahan ultisol. Salah satu solusi yang muncul yaitu rekayasa kompos dengan penambahan *biochar*, *vermicompost*, dan *Liquid Organic Biofertilizer* (LOB), disertai dengan variasi pembajakan lahan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) pada tanah ultisol pertanaman nanas PT GGP yang dipengaruhi kedalaman bajak, jenis kompos, dan interaksi keduanya. Rancangan penelitian ini adalah *Split Plot Design*. *Main plot* berupa kedalaman bajak (2 taraf) dan *sub plot* berupa jenis kompos (4 taraf). Setiap perlakuan dibuat 3 ulangan. Variabel utama penelitian yaitu kelimpahan *Azotobacter* dan BPF ($\log \text{CFU g}^{-1}$), yang diketahui melalui metode *Total Plate Count* (TPC). Variabel pendukung penelitian yaitu suhu ($^{\circ}\text{C}$), kadar air (%), pH, dan C-organik tanah (%). Analisis data menggunakan ANOVA (α 5%), uji Tukey's HSD (α 5%), uji Pearson R (α 1%), dan *Principal Component Analysis* (PCA). Hasil penelitian menunjukkan kelimpahan *Azotobacter* sampel pra-tanam (PT) serta BPF sampel 3 bulan setelah tanam (BST) berbeda signifikan antar kedalaman bajak, dengan perlakuan bajak dalam ($\pm 40 \text{ cm}$) + cacahan halus serasah nanas (L1) sebagai perlakuan terbaik. Kelimpahan *Azotobacter* sampel PT serta BPF sampel 3 BST berbeda signifikan antar jenis kompos, dengan perlakuan kompos premium GGP + LOB (P3) sebagai perlakuan terbaik. Kelimpahan *Azotobacter* sampel PT berbeda signifikan antar interaksi kedalaman bajak – jenis kompos, dengan interaksi L1P3 sebagai interaksi terbaik. Hasil penelitian tidak bertentangan dengan hipotesis penelitian yang diajukan.

Kata kunci: *Azotobacter*, bakteri pelarut fosfat (BPF), jenis kompos, kedalaman bajak, ultisol

ABSTRACT

THE DYNAMICS OF *Azotobacter* AND PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA ABUNDANCE IN PINEAPPLE PLANTATION ULTISOL OF PT GREAT GIANT PINEAPPLE, LAMPUNG TENGAH WITH VARYING PLOWING DEPTH AND COMPOST MIXTURE

By

AHMAD BINTANG PAMELA

The decline in pineapple production in Lampung Tengah regency occurred in 2023, where the decline reached 16.4% of the pineapple production in 2022 (8.6 million quintals). The decline in pineapple production came from PT Great Giant Pineapple (PT GGP), with the problem of accumulation of pineapple plant litter polymers (compost ingredients) on ultisol land. The solution that emerged was compost-mixture changing by adding biochar, vermicompost and Liquid Organic Biofertilizer (LOB), accompanied by variations in land plowing. This research aimed to determine the dynamics of *Azotobacter* and phosphate solubilizing bacteria (PSB) abundance in the ultisol soil of PT GGP's pineapple plantations which were influenced by plowing depth, compost mixture and interaction between them. The design of this research was Split Plot. The main plot was the plowing depth (2 levels) and the sub plot was the compost mixture (4 levels). Three replications were made for each treatment. The main variables were the abundance of *Azotobacter* and PSB ($\log \text{CFU g}^{-1}$), which were determined using the Total Plate Count (TPC) method. The supporting variables were the temperature ($^{\circ}\text{C}$), water content (%), pH and soil organic carbon (%). Data analysis included ANOVA (α 5%), Tukey's HSD Test (α 5%), Pearson R Test (α 5%) and Principal Component Analysis (PCA). The results showed that the abundance of *Azotobacter* in pre-planting (PT) sample along with PSB in 3 months after planting (BST) sample differed significantly between plowing depths, with the deep plowing ($\pm 40 \text{ cm}$) + finely chopped pineapple litter (L1) as the best. The abundance of *Azotobacter* in PT sample along with BPF in 3 BST sample differed significantly between compost mixtures, with the GGP's premium compost + LOB (P3) as the best. The abundance of *Azotobacter* in PT sample differed significantly between factor interactions (plowing depth-compost mixture), with the L1P3 interaction as the best. There is no conflict between all results and the research hypothesis.

Keywords: *Azotobacter*, compost mixture, phosphate solubilizing bacteria (PSB), plowing depth, ultisol

**DINAMIKA KELIMPAHAN *Azotobacter* DAN BAKTERI
PELARUT FOSFAT PADA TANAH ULTISOL PERTANAMAN NANAS
PT GREAT GIANT PINEAPPLE, LAMPUNG TENGAH DENGAN
VARIASI KEDALAMAN BAJAK DAN JENIS KOMPOS**

Oleh

AHMAD BINTANG PAMELA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **DINAMIKA KELIMPAHAN *Azotobacter*
DAN BAKTERI PELARUT FOSFAT
PADA TANAH ULTISOL PERTANAMAN
NANAS PT GREAT GIANT PINEAPPLE,
LAMPUNG TENGAH DENGAN VARIASI
KEDALAMAN BAJAK DAN JENIS KOMPOS**

Nama Mahasiswa

: *Ahmad Bintang Pamela*

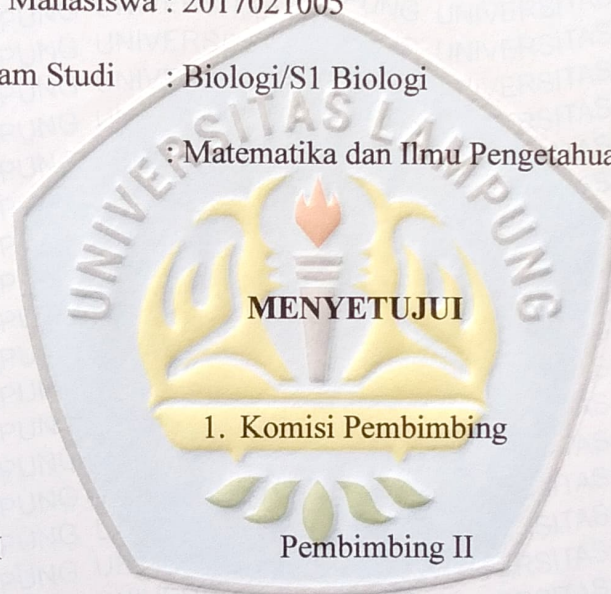
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017021005

Jurusan/Program Studi

: Biologi/S1 Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Sumardi, M.Si.

NIP. 196503251991031003

Winih Sekaringtyas Ramadhani, S.P., M.P.

NIP. 199403052023212046

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

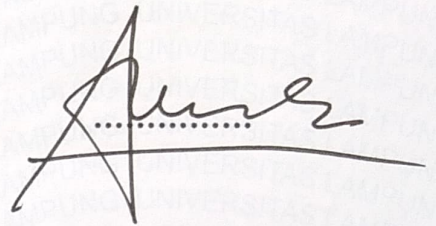
Dr. Jani Master, M.Si.

NIP. 198301312008121001

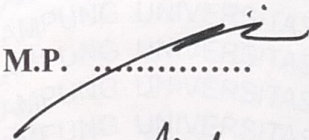
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

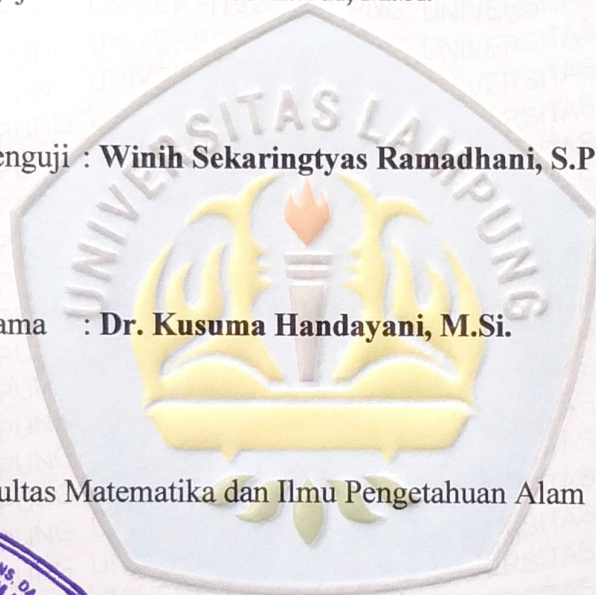
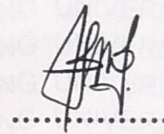
Ketua Penguji : **Prof. Dr. Sumardi, M.Si.**



Anggota Penguji : **Winih Sekaringtyas Ramadhani, S.P., M.P.**



Penguji Utama : **Dr. Kusuma Handayani, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **23 Juli 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Dinamika Kelimpahan *Azotobacter* dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol Pertanaman Nanas PT Great Giant Pineapple, Lampung Tengah dengan Variasi Kedalaman Bajak dan Jenis Kompos”** adalah hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain.

Penelitian ini adalah bagian dari proyek penelitian Program *Matching Fund* Tahun Anggaran 2023, dengan judul “Rekayasa Pupuk Organik Premium Berbasis Limbah Organik *In Situ* dan Teknologi Aplikasinya untuk Meningkatkan Produktivitas Lahan Pertanaman Nanas secara Berkelanjutan di PT Great Giant Pineapple” dan nomor PKS PT: 2649/UN26/HK.01.03/2023, bersama dosen Jurusan Ilmu Tanah (FP, UNILA): Prof. Dr. Ir. Dermiyati, M.Agr.Sc.; Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.; dan Winih Sekaringtyas Ramadhani, S.P., M.P., dosen Jurusan Teknik Pertanian (FP, UNILA): Prof. Dr. Ir. Sugeng Triyono, M.Sc., dan dosen Jurusan Biologi (FMIPA, UNILA): Prof. Dr. Sumardi, M.Si..

Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandarlampung, 10 September 2025



Ahmad Bintang Pamela
NPM. 2017021005

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di kelurahan Bandar Jaya Barat, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah pada tanggal 4 Juni 2003. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan suami-istri bapak Muchtar Yunus dan ibu Nur Verianti. Penulis telah mengenyam pendidikan tingkat dasar di SD Negeri 5 Bandar Jaya pada tahun 2009 – 2015, pendidikan tingkat menengah pertama di SMP Negeri 3 Terbanggi Besar pada tahun 2015 – 2018, dan pendidikan tingkat menengah atas di MA Negeri 1 Lampung Tengah pada tahun 2018 – 2020. Pada tahun 2020, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis telah terlibat sebagai asisten praktikum dalam beberapa mata kuliah, diantaranya Praktik Keterampilan Dasar Laboratorium (Ganjil 2022/2023), Praktikum Mikrobiologi (Ganjil 2022/2023), Praktikum Zoologi Invertebrata (Genap 2022/2023), Praktikum Botani Tumbuhan Rendah (Genap 2022/2023), Praktikum Fisiologi Hewan (Genap 2022/2023), dan Praktikum Fisiologi Mikroba (Genap 2022/2023 dan Genap 2023/2024). Penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan Karantina (HPIK), Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan (BUSKIPM), Jakarta Timur pada Januari – Februari 2023 dan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Bilateral di Desa Tapak Gedung, Kecamatan Tebat Karai, Kabupaten Kepahiang, Provinsi Bengkulu pada Juli – Agustus 2023. Untuk penyelesaian tugas akhir (skripsi), penulis memilih bidang keilmuan Mikrobiologi, dengan fokus penelitian terkait Mikrobiologi Tanah.

PERSEMBAHAN

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan ridanya, penulis persembahkan karya ini kepada:

Ayah dan Ibu, yang telah mencurahkan kasih sayang dan memanjatkan doa untuk setiap langkah penulis dalam menjalani kehidupan.

Bapak dan Ibu Dosen, yang telah mendidik dan memberikan pengajaran kepada penulis dengan penuh ketulusan dan keikhlasan.

Orang Tua dan Rekan selama Perkuliahan, yang telah memberikan pengajaran dan warna dalam perjalanan pendidikan penulis.

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

MOTTO

Betapa baiknya aku mati sebelum ini, dan aku menjadi seorang yang tidak diperhatikan lagi dilupakan.

(Q.S. *Maryam* (19):23)

Keras kepala dalam berilmu, lembut hati dalam mendidik.

(*Tundjung Tripeni Handayani*)

Kepribadian baik akan memenangkan pada ruang dan waktu yang tak terbatas.

(*Oni Mastuti*)

Kekuatan seorang pemimpin berada pada kendali atas sekutu maupun musuh.

(*Indra Satriya Jaya*)

Apapun itu tetap jauh lebih baik daripada menjadi tamu di rumah sendiri.

(*Ahmad Bintang Pamela*)

SANWACANA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Dinamika Kelimpahan *Azotobacter* dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol Pertanaman Nanas PT Great Giant Pineapple, Lampung Tengah dengan Variasi Kedalaman Bajak dan Jenis Kompos”**.

Mengingat keterbatasan kemampuan penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada pihak-pihak yang tertera sebagai berikut.

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing I dan Kepala Laboratorium Mikrobiologi, yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dan kritik selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Winih Sekaringtyas Ramadhani, S.P., M.P., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dan kritik selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
6. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembahas dan Ketua Program Studi S1 Biologi, yang telah bersedia memberikan keluangan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, dan kritik selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

7. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menempuh perkuliahan di Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung.
8. Ibu Dra. Tundjung Tripeni Handayani, M.S., selaku Dosen Program Studi S1 Biologi, yang telah memberikan teladan seorang pendidik yang cerdas, kritis, memiliki rasa ingin tahu tinggi, kaya akan pengalaman belajar, menjunjung tinggi etika dan moral akademik, dan tetap bersahaja. Karakter seorang pendidik yang beliau tunjukkan akan selalu menginspirasi diri penulis dalam kesempatan memberikan pendidikan kepada orang lain di masa depan.
9. Ibu Oni Mastuti, S.Si., selaku Laboran Mikrobiologi dan Orang Tua penulis selama perkuliahan, yang telah memberikan teladan seorang pekerja yang disiplin, teliti, taat aturan, penuh ketegasan, menjunjung tinggi kesantunan perkataan dan perbuatan, dan tentunya penyuka kebersihan dan kerapian. Karakter seorang pekerja laboratorium yang beliau tunjukkan akan selalu menginspirasi diri penulis dalam menjalankan suatu pekerjaan di dunia kerja maupun kehidupan yang akan dilalui di masa mendatang.
10. Saudari Novri Dwi Damayanti, S.P., M.Ling., selaku Rekan Tim Magang Penelitian Kedaireka Tahun 2023, yang telah memberikan dukungan besar dalam pelaksanaan penelitian yang penulis lakukan, utamanya terkait dengan pengukuran variabel pendukung penelitian. Kemurahan hati beliau memungkinkan penelitian ini dilengkapi dengan data pendukung, yang semakin melengkapi dan menambah mutu penelitian yang dilakukan penulis.
11. Staf Bagian Administrasi Jurusan Biologi dan Fakultas MIPA, selaku pihak yang mendukung segala urusan pemberkasan penulis selama perkuliahan.
12. Staf dan Tenaga Kerja Lapangan PT Great Giant Pineapple, selaku pihak yang terlibat dalam pengaturan petak percobaan dan pengambilan sampel.
13. Bapak Muchtar Yunus, selaku Ayah dari penulis, yang telah bekerja keras untuk membiayai segala keperluan penulis selama perkuliahan.
14. Ibu Nur Verianti, selaku Ibu dari penulis, yang senantiasa mengirimkan doa untuk kemudahan dan kelancaran segala urusan penulis selama perkuliahan.
15. Saudari Aulia Vira, A.Md. dan saudara Fandi Putra Adhitama, selaku Kakak dari penulis, yang telah memberikan rumah bagi penulis di masa sulit.

16. Saudara Indra Satriya Jaya, selaku Mentor Pribadi, yang telah memberikan teladan seorang pemimpin yang pintar, cerdas, berwibawa tinggi, karismatik, profesional, cepat membaca situasi dan menganalisis karakter seseorang, memiliki kesadaran moral tinggi, berpendirian teguh, penuh pertimbangan dan perencanaan, serta mendendam secara elegan. Karakter seorang pemimpin yang beliau tunjukkan akan selalu menginspirasi diri penulis dalam setiap kesempatan menjadi seorang pemimpin di masa mendatang.
17. Saudara Arif Septian Dwi Fadillah, selaku Praktikan Paling Berkesan, yang telah membuktikan ungkapan “*don't judge a book by its cover*” melalui performa yang ditampilkan selama menjadi praktikan dari penulis.
18. Mahasiswa Biologi (Fakultas MIPA, Universitas Lampung) Angkatan 2020, selaku rekan seperjuangan penulis selama perkuliahan, yang telah memberikan warna dalam perjalanan pendidikan penulis.
19. Peneliti Laboratorium Mikrobiologi Tahun 2023 – 2024, selaku rekan seperjuangan penulis selama penelitian, yang telah memberikan wawasan dan pengalaman terkait mikrobiologi kepada penulis.
20. Semua pihak yang telah memberikan wawasan, pengalaman, serta kritik dan saran dalam penulisan dan penyelesaian skripsi ini, yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, memberikan rahmat dan pahala yang berlimpah kepada mereka, dan menjadikan jasanya sebagai *amal jariyah*. Terkait skripsi ini, penulis sadar sepenuhnya bahwa masih terdapat banyak kekurangan di dalamnya, sehingga masih jauh dari kata sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi orang-orang yang memerlukannya di masa mendatang.

Bandarlampung, 10 September 2025

Penulis,

Ahmad Bintang Pamela

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat Penelitian	5
1.4 Kerangka Pikir	5
1.5 Hipotesis Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple	9
2.1.1 Karakteristik Fisik Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple	9
2.1.2 Karakteristik Kimia Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple	11
2.1.3 Karakteristik Biologi Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple	13
2.2 Kebutuhan dan Alokasi Nutrien Tanaman Nanas.....	15
2.3 <i>Azotobacter</i>	17
2.4 Bakteri Pelarut Fosfat	20
2.5 Kedalaman Bajak Tanah dan Dekomposisi Serasah.....	23
2.6 Kompos PT Great Giant Pineapple.....	25
2.7 <i>Biochar</i>	26
2.8 <i>Vermicompost</i>	28
2.9 <i>Liquid Organic Biofertilizer (LOB)</i>	29
III. METODE PENELITIAN	32
3.1 Waktu dan Tempat	32
3.2 Alat dan Bahan.....	32
3.3 Rancangan Penelitian.....	34
3.4 Prosedur Kerja	35
3.4.1 Pengujian Mutu Mikrobiologi Kompos.....	35
3.4.1.1 Pembuatan Media Tumbuh Mikroba Kompos	36
3.4.1.2 Uji Kandungan Total Bakteri dan Jamur	43
3.4.1.3 Uji Kualitatif Pelarutan Hara Mikroba Kompos.....	45
3.4.1.4 Uji Kualitatif Produksi Enzim Mikroba Kompos.....	46

3.4.1.5 Uji Cemarkan <i>E. coli</i>	47
a. Uji Penduga (<i>Presumptive Test</i>)	48
b. Uji Penguat (<i>Confirmative Test</i>)	48
c. Uji Pelengkap (<i>Complete Test</i>)	49
3.4.1.6 Uji Cemarkan <i>Salmonella</i> sp.	50
a. Tahap Pra-Pengayaan (<i>Pre-Enrichment</i>)	50
b. Tahap Pengayaan Selektif (<i>Selective Enrichment</i>)	51
c. Tahap Penanaman Selektif-Diferensial (<i>Selective-Differential Plating</i>).....	52
3.4.2 Pengambilan Sampel Tanah Ultisol Pertanian Nanas	53
3.4.3 Pengukuran Variabel Penelitian	54
3.4.3.1 Kelimpahan <i>Azotobacter</i> dan Bakteri Pelarut Fosfat	55
a. Pembuatan Media Tumbuh Selektif-Diferensial <i>Azotobacter</i> dan Bakteri Pelarut Fosfat.....	55
b. Isolasi dan Perhitungan Jumlah <i>Azotobacter</i> dan Bakteri Pelarut Fosfat	57
3.4.3.2 Suhu Tanah	59
3.4.3.3 Kadar Air Tanah	59
3.4.3.4 pH Tanah	60
3.4.3.5 C-Organik Tanah	60
a. Pembuatan Larutan Reagen	60
b. Pereaksian dan Titrasi <i>Diphenylamine</i>	61
c. Perhitungan Nilai C-Organik	62
3.5 Analisis Data	63
3.6 Diagram Alir Penelitian	64
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	65
4.1 Mutu Mikrobiologi Kompos	65
4.2 Dinamika Kelimpahan <i>Azotobacter</i> dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol selama Masa Pengambilan Sampel	69
4.2.1 Hubungan antara Dinamika Kelimpahan <i>Azotobacter</i> -Bakteri Pelarut Fosfat dan Suhu-Kadar Air Tanah Ultisol	72
4.2.2 Hubungan antara Dinamika Kelimpahan <i>Azotobacter</i> -Bakteri Pelarut Fosfat dan pH-C-Organik Tanah Ultisol	75
4.3 Pengaruh Kedalaman Bajak dan Jenis Kompos terhadap Kelimpahan <i>Azotobacter</i> dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol	78
4.4 Kedalaman Bajak dan Jenis Kompos Terbaik dalam Meningkatkan Kelimpahan <i>Azotobacter</i> dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol	81
4.4.1 Pengaruh Kompos Premium GGP + <i>Liquid Organic Biofertilizer</i> terhadap Karakteristik Fisik Tanah Ultisol.....	84
4.4.2 Pengaruh Kompos Premium GGP + <i>Liquid Organic Biofertilizer</i> terhadap Karakteristik Kimia Tanah Ultisol.....	86
4.4.3 Pengaruh Kompos Premium GGP + <i>Liquid Organic Biofertilizer</i> terhadap Karakteristik Biologi Tanah Ultisol.....	88
4.5 Korelasi antar Variabel Penelitian pada Sampel Tanah Ultisol.....	90

V. SIMPULAN DAN SARAN	93
5.1 Simpulan Penelitian	93
5.2 Saran Penelitian	93
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN.....	107

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelimpahan <i>Azotobacter</i> dan bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol PT Great Giant Pineapple (Utami dkk., 2020)	14
2. Variasi perlakuan dalam penelitian.....	35
3. Nama, komposisi, dan pH akhir media tumbuh selektif-diferensial untuk uji pelarutan hara dan produksi enzim mikroba kompos	38
4. Nama media, waktu inkubasi kultur, dan indikator hasil positif uji dalam uji pelarutan hara mikroba kompos	45
5. Nama media, suhu dan waktu inkubasi kultur, serta indikator hasil positif uji dalam uji produksi enzim mikroba kompos	46
6. Variabel dalam penelitian disertai metode yang digunakan untuk pengukuran atau pengujiannya	54
7. Nama, komposisi, dan pH akhir media tumbuh selektif-diferensial untuk isolasi dan perhitungan <i>Azotobacter</i> dan BPF	56
8. Nama media, waktu inkubasi kultur, dan indikator hasil positif uji dalam isolasi dan perhitungan <i>Azotobacter</i> dan BPF	58
9. Hasil uji mutu mikrobiologi sampel kompos P0, P1, P2, dan P3, yang dibandingkan dengan Persyaratan Teknis Minimal Pupuk Hayati Tunggul Padat.....	66
10. Curah hujan menurut bulan di Kabupaten Lampung Tengah periode Desember 2023-Maret 2024.....	75

11. Hasil ANOVA (α 5%) terkait pengaruh kedalaman bajak dan jenis kompos terhadap rerata kelimpahan <i>Azotobacter</i> sampel PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST	79
12. Hasil ANOVA (α 5%) terkait pengaruh kedalaman bajak dan jenis kompos terhadap rerata kelimpahan bakteri pelarut fosfat (BPF) sampel PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST	80
13. Hasil uji Tukey's HSD (α 5%) terkait kedalaman bajak dan jenis kompos dengan rerata tertinggi dari data kelimpahan <i>Azotobacter</i> sampel PT serta BPF sampel 3 BST.....	81
14. Hasil uji Pearson R (α 1%) terkait koefisien korelasi antar variabel penelitian pada setiap sampel tanah ultisol.....	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Karakteristik fisik tanah ultisol yang teramati secara langsung di lahan PT Great Giant Pineapple	10
2. Morfologi koloni <i>Azotobacter chroococcum</i> pada media <i>Ashby's Mannitol Agar</i> (Rysbek <i>et al.</i> , 2022)	17
3. Mekanisme fiksasi nitrogen atmosfer non-simbiotik oleh <i>Azotobacter</i> sp. (Aasfar <i>et al.</i> , 2021)	19
4. Morfologi koloni BPF pada NBRIP dan <i>Pikovskaya's Agar</i> dengan diameter zona jernih bervariasi (Qingwei <i>et al.</i> , 2023).....	21
5. Skema sederhana dari mekanisme pelarutan fosfat tanah oleh bakteri pelarut fosfat (Rawat <i>et al.</i> , 2021).....	22
6. Hasil pengamatan melalui <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) yang menunjukkan kolonisasi bakteri sebagian besar terjadi pada permukaan <i>biochar</i> yang kasar dan berpori (Bolan <i>et al.</i> , 2023)	27
7. Produk <i>Liquid Organic Biofertilizer</i> (LOB) yang diproduksi PT Great Giant Pineapple (Great Giant Foods, 2022).....	30
8. Peta lahan percobaan dalam penelitian, terkait dengan penempatan petak percobaan dan letak titik pengambilan sampel.	53
9. Diagram alir penelitian.....	64
10. Dinamika kelimpahan <i>Azotobacter</i> ($\log$ CFU g ⁻¹) pada tanah ultisol pertanaman nanas sampel PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST	69

11. Dinamika kelimpahan bakteri pelarut fosfat ($\log$ CFU g ⁻¹) pada tanah ultisol pertanaman nanas sampel PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST	70
12. Dinamika suhu dan kadar air tanah ultisol pertanaman nanas sampel PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST	73
13. Dinamika pH dan C-organik tanah ultisol pertanaman nanas sampel PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST	76
14. <i>Score plot</i> PCA terkait dengan sebaran data kelimpahan <i>Azotobacter</i> dan BPF dari setiap perlakuan	82
15. <i>Biplot</i> PCA terkait dengan korelasi antar variabel penelitian pada setiap sampel tanah ultisol.....	90

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) menjadi komoditas buah tropis utama yang didukung produksinya oleh Provinsi Lampung, terkhusus Kabupaten Lampung Tengah sebagai kabupaten penyumbang produksi nanas terbesar. Pada rentang tahun 2020 hingga 2022, produksi nanas Kabupaten Lampung Tengah tercatat mengalami kenaikan secara berkelanjutan, hingga mencapai angka 8,6 juta kuintal pada tahun 2022. Meskipun begitu, produksi nanas justru mengalami penurunan menjelang tahun 2023, dimana penurunan mencapai 16,4% dari angka produksi nanas pada tahun sebelumnya. Penurunan angka produksi nanas Kabupaten Lampung Tengah secara langsung merujuk pada penurunan angka produksi nanas PT Great Giant Pineapple, yang terletak di kecamatan Terbanggi Besar, sebagai perusahaan besar yang bergerak di bidang pertanian dengan nanas sebagai komoditas utamanya (Badan Pusat Statistik Kabupaten Lampung Tengah, 2023).

Penurunan angka produksi nanas PT Great Giant Pineapple (PT GGP) bersumber dari tanah yang menjadi media tumbuh kembang tanaman nanas, dimana tanah yang dimaksud merupakan tanah jenis ultisol, yang utamanya dikenal sebagai tanah mineral masam dengan jumlah bahan organik yang relatif minim (Andika dan Suntari, 2021). Namun, masalah tanah yang menyebabkan penurunan angka produksi nanas PT GGP bukan lagi berasal dari karakteristik asal tanah ultisol, melainkan berasal dari sistem pengolahan lahan dan aplikasi kompos yang telah diterapkan dalam beberapa tahun terakhir, yang selama dalam rentang tahun tersebut dianggap sebagai solusi dari permasalahan klasik karakteristik asal tanah ultisol.

Meskipun dikenal sebagai tanah yang miskin unsur hara, tanah ultisol tetap dimanfaatkan PT GGP sebagai media tanam bagi tanaman nanas dan beberapa komoditas buah tropis lainnya, mengingat tanah ultisol masih memiliki unsur-unsur hara mikro (mikronutrien) yang dibutuhkan oleh tanaman dalam menunjang tumbuh kembangnya. PT GGP menerapkan pemupukan tanah ultisol dengan kompos yang diproduksi sendiri, dalam rangka melengkapi ketersediaan unsur hara, terutama hara makro (makronutrien) pada tanah ultisol. Kompos yang terbuat dari kotoran sapi, serasah nanas, cacahan bambu, hingga ampas dan kulit singkong, akan diaplikasikan pada lahan *ex chopper* (pencacahan sisa tanaman pasca panen) sebelum dilakukan penanaman kembali (Sutanto dan Lubis, 2017).

Aplikasi kompos secara berkelanjutan pada tanah ultisol pertanaman nanas pada akhirnya memunculkan fenomena penumpukan bahan penyusun kompos berupa serasah tanaman nanas, yang tidak dapat diserap tanaman nanas karena masih berada dalam bentuk polimer (bentuk tak-tersedia). Salah satu solusi yang ditemukan dalam mengatasi masalah tersebut adalah pemanfaatan potensi kapang pengurai polimer tumbuhan sebagai tambahan inokulum pada kompos. Harlifia dkk. (2021) menyatakan bahwa penambahan 22,5 g inokulum kapang lignolitik *Geotrichum* sp. (pada media perantara sorgum) pada kompos yang terbuat dari campuran 1 kg serasah daun bambu dan 500 g kotoran sapi terbukti meningkatkan kualitas kompos serasah daun bambu, dimana kualitas kompos tersebut ditinjau dari kadar C, N, P, dan rasio C/N kompos. Selain inokulum *Geotrichum* sp. pada media perantara sorgum, dikemukakan pula bahwa penambahan inokulum kapang xilanolitik *Aspergillus tubingensis* pada kompos serasah daun bambu meningkatkan kadar C, N, P, dan rasio C/N kompos. Semakin tinggi konsentrasi inokulum kapang yang ditambahkan, maka semakin baik kualitas kompos yang dihasilkan. Irawan *et al.* (2021) menyatakan bahwa di antara variasi jumlah inokulum kapang yang ditambahkan, yaitu 1%, 1,5%, dan 2%, penambahan 30 g (2%) inokulum kapang *A. tubingensis* pada 1 kg serasah daun bambu dan 500 g kotoran sapi menjadi variasi perlakuan terbaik.

Setelah permasalahan akumulasi mineral kompos diatasi melalui penambahan inokulum mikroba (terutama kapang) pendegradasi, selanjutnya diperlukan pemantauan efektivitas aplikasi kompos pada lahan pertanian, dimana efektivitas secara langsung ditentukan melalui variabel kesuburan tanah. Kesuburan tanah dari aspek mikrobiologi erat kaitannya dengan kelimpahan mikroba penyubur tanah, diantaranya bakteri penambat-N (seperti *Azotobacter*) dan bakteri pelarut fosfat. Antralina dkk. (2015) menyatakan bahwa melalui aplikasi pupuk hayati pada 5 konsentrasi berbeda (0, 2, 4, 6, dan 8 cc L⁻¹ air) pada tanah miskin hara menunjukkan variasi kelimpahan *Azotobacter*, yang perbedaan satu dengan lainnya semakin jelas seiring berjalannya waktu (2, 4, dan 6 minggu). Pada minggu ke-6, kelimpahan *Azotobacter* pada perlakuan pupuk hayati konsentrasi 8 cc L⁻¹ air relatif lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu $9,7 \times 10^7$ CFU g⁻¹ tanah, sementara perlakuan lainnya (0 - 6 cc L⁻¹ air) berada di kisaran $1,3 \times 10^7$ – $9,2 \times 10^7$ CFU g⁻¹ tanah. Hasil tersebut membuktikan bahwa efektivitas aplikasi pupuk hayati (kompos) dalam meningkatkan kesuburan tanah, ditinjau dari kelimpahan *Azotobacter*, berbanding lurus dengan konsentrasi atau jumlah pupuk hayati yang diaplikasikan pada tanah.

Sementara itu, penelitian mengenai pengaruh aplikasi kompos dengan komposisi berbeda (rekayasa kompos) terhadap tingkat kesuburan sampel tanah ultisol, ditinjau dari kelimpahan bakteri pelarut fosfat, salah satunya dikemukakan oleh Ramadhani dkk. (2020). Penelitian tersebut membuktikan bahwa pemberian 20 ton ha⁻¹ kompos kotoran sapi dan 20.000 L ha⁻¹ limbah cair nanas (taraf maksimum), menunjukkan kelimpahan bakteri pelarut fosfat tertinggi, pada hari ke-0 ($18,3 \times 10$ CFU g⁻¹), 30 ($366,7 \times 10$ CFU g⁻¹), dan 60 ($320,0 \times 10$ CFU g⁻¹), dibandingkan perlakuan lainnya. Kelimpahan bakteri pelarut fosfat antar perlakuan menunjukkan korelasi positif terhadap jenis kompos yang diaplikasikan, dimana jenis kompos melibatkan faktor jumlah dan komposisi. Semakin banyak dan kompleks kompos yang diaplikasikan, maka efektivitas kompos akan semakin tinggi, yang dibuktikan dengan kelimpahan bakteri pelarut fosfat yang semakin tinggi pula, meskipun hal ini tidak bersifat mutlak.

Berdasarkan kedua penelitian sebelumnya, diketahui terdapat beberapa *research gap*, diantaranya ragam faktor atau perlakuan (hanya jumlah atau jenis kompos), skala penelitian (hanya skala rumah kaca atau laboratorium), waktu pengambilan sampel (hanya 0 - 60 hari), dan kondisi objek percobaan setiap pengambilan sampel (hanya berupa tanah saja atau tanah perakaran tanaman). Untuk memenuhi *research gap* tersebut, diperlukan penelitian terkait rekayasa kompos berupa pengaruh aplikasi kompos padat dengan komposisi yang divariasikan, disertai dengan faktor tambahan seperti kedalaman bajak berbeda, terhadap kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) tanah. Variasi jenis kompos mencakup penambahan *biochar*, *vermicompost*, dan/atau *Liquid Organic Biofertilizer* (LOB). Skala penelitian juga perlu ditingkatkan hingga skala lahan dan waktu pengambilan sampel diperpanjang untuk memperoleh sampel dari kondisi yang berbeda. Berdasarkan hal tersebut, penulis mengajukan sebuah penelitian mengenai dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol pertanaman nanas PT Great Giant Pineapple, Lampung Tengah dengan variasi kedalaman bajak dan jenis kompos.

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian permasalahan pada latar belakang, tujuan penelitian ini:

1. Mengetahui dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol pertanaman nanas yang dipengaruhi kedalaman bajak;
2. Mengetahui dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol pertanaman nanas yang dipengaruhi jenis kompos;
3. Mengetahui dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol pertanaman nanas yang dipengaruhi interaksi kedalaman bajak – jenis kompos.

1.3 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang telah dirumuskan, manfaat penelitian ini:

1. Memberikan informasi tentang kedalaman bajak yang lebih efisien dalam meningkatkan kesuburan tanah ultisol pertanaman nanas, ditinjau dari kelimpahan *Azotobacter* dan/atau bakteri pelarut fosfat yang tinggi;
2. Memberikan informasi tentang jenis kompos yang lebih efisien dalam meningkatkan kesuburan tanah ultisol pertanaman nanas, ditinjau dari kelimpahan *Azotobacter* dan/atau bakteri pelarut fosfat yang tinggi;
3. Memberikan informasi tentang kedalaman bajak – jenis kompos yang lebih efisien dalam meningkatkan kesuburan tanah ultisol pertanaman nanas, ditinjau dari kelimpahan *Azotobacter* dan/atau bakteri pelarut fosfat yang tinggi.

1.4 Kerangka Pikir

Meskipun dikenal sebagai tanah yang miskin unsur hara, tanah ultisol tetap dimanfaatkan PT Great Giant Pineapple sebagai media tanam bagi tanaman nanas dan beberapa komoditas buah tropis lainnya, mengingat tanah ultisol masih memiliki unsur-unsur hara mikro (mikronutrien) yang dibutuhkan oleh tanaman dalam menunjang tumbuh kembangnya. PT GGP menerapkan pemupukan tanah ultisol dengan kompos yang diproduksi sendiri, dalam rangka melengkapi ketersediaan unsur hara, terutama hara makro (makronutrien) pada tanah ultisol. Untuk meningkatkan efektivitas aplikasi kompos, dilakukan penambahan *biochar*, *vermicompost*, hingga *Liquid Organic Biofertilizer* (LOB). Chen *et al.* (2018) dan Lu *et al.* (2020) menyatakan bahwa *biochar* atau arang pertanian mendukung aktivitas bakteri tanah melalui penyediaan karbon (sebagai *carbon source*) dan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri, serta penyediaan lingkungan tumbuh yang sesuai bagi bakteri tanah (sebagai *microhabitat*). *Biochar* mampu berperan sebagai *microhabitat* bagi bakteri tanah, mengingat karakteristiknya berupa porositas yang tinggi, terutama di bagian permukaan, yang dapat didiami bakteri tanah.

Rehman *et al.* (2023) menyatakan bahwa *vermicompost* merupakan *biofertilizer* hasil dekomposisi bahan organik oleh cacing tanah, yang dapat meningkatkan aktivitas bakteri tanah melalui peningkatan ketersediaan oksigen, pengaturan suhu tanah, serta peningkatan porositas, infiltrasi, dan kandungan nutrisi tanah. Sementara itu, Novitasari (2019) menyatakan bahwa LOB yang ditambahkan pada kompos produksi PT GGP merupakan konsorsium mikroba penyedia hara (terutama N dan P), pengurai bahan organik, hingga penghasil hormon pendukung tumbuh tanaman. Pernyataan Chen *et al.* (2018), Novitasari (2019), Lu *et al.* (2020), dan Rehman *et al.* (2023) menyiratkan bahwa kompos dengan kandungan *biochar* (disertai aplikasi *biochar* di lahan), *vermicompost*, dan LOB memiliki tingkat efektivitas yang lebih tinggi dalam meningkatkan kelimpahan bakteri tanah, mengingat peran dari masing-masing bahan terhadap kehidupan bakteri tanah.

Selain jenis kompos, faktor lain yang dapat divariasikan untuk melengkapi penelitian terkait rekayasa kompos adalah faktor pengolahan lahan. Salah satu aspek yang paling penting dalam pengolahan lahan adalah kedalaman bajak dengan aplikasi cacahan serasah, yaitu dapat berupa bajak standar budidaya dengan cacahan kasar serasah dan bajak dalam dengan cacahan halus serasah. Fang *et al.* (2020) dan Farooq *et al.* (2022) menyatakan bahwa pelepasan nutrisi dari serasah tanaman terangkum dalam proses dekomposisi yang dilakukan mikroba tanah. Sementara itu, Alvim *et al.* (2015) menyatakan bahwa ukuran cacahan serasah yang kecil, kualitas serasah yang baik, dan kandungan karbon tanah yang tinggi mendukung keberlangsungan dekomposisi serasah. Pernyataan Alvim *et al.* (2015), Fang *et al.* (2020), dan Farooq *et al.* (2022) menyiratkan bahwa pengolahan lahan dengan bajak dalam disertai aplikasi cacahan halus serasah memiliki tingkat efektivitas yang lebih tinggi dalam meningkatkan kelimpahan bakteri tanah, mengingat besarnya kontak serasah dengan mikroba tanah dan tingginya laju dekomposisi serasah yang berukuran kecil dalam tanah.

Untuk mengetahui tingkat efektivitas pengolahan lahan dan aplikasi kompos, perlu dilakukan pengukuran tingkat kesuburan tanah pasca pengolahan lahan dan aplikasi kompos, dengan variabel tertentu. Antralina dkk. (2015) dan Ramadhani dkk. (2020) menentukan tingkat efektivitas aplikasi kompos yang divariasikan melalui variabel kelimpahan bakteri penyubur tanah, yaitu *Azotobacter* (bakteri penambat-N) dan bakteri pelarut fosfat. Kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat yang relatif tinggi diartikan sebagai kandungan hara yang relatif tinggi pada tanah, yang juga berarti tanah relatif subur, demikian sebaliknya. Oleh karena itu, kelimpahan bakteri penyubur tanah dapat dijadikan sebagai variabel dalam penentuan perlakuan terbaik pada penelitian dengan kedalaman bajak dan jenis kompos yang divariasikan.

Metode yang diterapkan Antralina dkk. (2015) dan Ramadhani dkk. (2020) dalam menentukan kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat pada tanah yaitu metode enumerasi tidak langsung berupa *Total Plate Count* (TPC). Metode enumerasi tersebut melibatkan tahapan isolasi bakteri pada media tumbuh sintetik secara *in vitro*. Kultivasi bakteri dilakukan pada media selektif dan/atau diferensial, yang diawali dengan dilusi sampel secara bertingkat. Kultur bakteri pasca inkubasi diamati dan dihitung jumlah koloni yang muncul, untuk kemudian dilakukan perhitungan dengan rumus terkait, sehingga kelimpahan bakteri target dapat dinyatakan dalam satuan *Colony Forming Unit* (CFU) per gram tanah (CFU g^{-1}) (Utami dkk., 2020). Dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat menentukan tingkat efisiensi masing-masing perlakuan, dimana perlakuan dengan kelimpahan bakteri target tertinggi menjadi perlakuan terbaik.

1.5 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pikir yang melandasi penelitian, hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini:

1. Dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan/atau bakteri pelarut fosfat tanah ultisol pertanaman nanas antar kedalaman bajak berbeda signifikan, dengan perlakuan bajak dalam (± 40 cm) + cacahan halus serasah nanas (L1) sebagai perlakuan terbaik;
2. Dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan/atau bakteri pelarut fosfat tanah ultisol pertanaman nanas antar jenis kompos berbeda signifikan, dengan perlakuan kompos premium GGP + LOB (P3) sebagai perlakuan terbaik;
3. Dinamika kelimpahan *Azotobacter* dan/atau bakteri pelarut fosfat tanah ultisol pertanaman nanas antar interaksi kedalaman bajak – jenis kompos berbeda signifikan, dengan interaksi L1P3 sebagai interaksi terbaik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple

Tanah ultisol, atau dikenal juga sebagai tanah podsolik merah-kuning, menjadi salah satu jenis tanah yang paling mendominasi dalam hal rasio persebaran dari total keseluruhan lahan kering di wilayah Indonesia. Tanah ultisol paling umum dijumpai di wilayah pulau Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, dan Papua, dimana di wilayah-wilayah tersebut pemanfaatan lahan ultisol cenderung ke arah sektor perkebunan dan industri tanaman. Tanah ultisol lazim dimanfaatkan sebagai media tanam kelapa sawit, karet, tebu, hingga nanas. Pemanfaatan tanah ultisol dalam budidaya tanaman nanas dilakukan PT Great Giant Pineapple dalam skala besar, melibatkan sistem pengolahan lahan, aplikasi pupuk, hingga rotasi tanaman tertentu, sehingga memiliki sifat atau karakteristik khas tersendiri, yang berbeda dari tanah ultisol di wilayah lain (Al-Musyafa dkk., 2016).

2.1.1 Karakteristik Fisik Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple

Ultisol merupakan salah satu jenis tanah dengan karakteristik dasar berupa tanah mineral masam yang mengalami pelapukan seiring terjadinya pencucian secara intensif. Ultisol dikenal luas sebagai tanah dengan jumlah bahan organik yang rendah, warna merah kekuningan (Gambar 1), dan memiliki kejenuhan basa $< 35\%$ (Andika dan Suntari, 2021). Kemasaman yang dimiliki tanah ultisol berada dalam rentang $< 4,5$, dimana sifat tersebut disertai dengan tingginya kejenuhan logam Al, Fe, dan Mn, namun di sisi lain minim kapasitas tukar kation (KTK) dan daya simpan air. Ultisol memiliki tekstur berupa liat hingga liat

berpasir (*sandy clay*) (Gambar 1), dengan *bulk density* (bobot isi tanah) relatif tinggi yaitu antara 1,3-1,5 g/cm³, meskipun tingkat agregasinya relatif rendah (Gama dkk., 2022).



Gambar 1 Karakteristik fisik tanah ultisol yang teramati secara langsung di lahan PT Great Giant Pineapple (lokasi penelitian), meliputi warna dan tekstur (Sumber: dokumentasi pribadi).

Meskipun tanah ultisol kerap kali dianggap sebagai tanah yang kurang subur, namun tanah tersebut dapat menjadi lahan pertanian potensial apabila dilakukan pengelolaan kesuburan tanah dan karakteristik fisik maupun kimia tanah secara tepat, dengan memperhatikan kendala yang muncul (Holilullah dkk., 2015). Kesuburan tanah ultisol umumnya hanya ditentukan oleh kandungan bahan organik yang berada pada lapisan tanah atas (*topsoil*), sehingga salah satu kendala dalam upaya pemulihan kesuburan lahan adalah erosi tanah, yang menyebabkan penurunan kandungan bahan organik tanah secara keseluruhan menurun secara signifikan dalam waktu singkat (Al-Musyafa dkk., 2016). Tanah ultisol memiliki pori aerasi dan indeks stabilitas relatif rendah, yang menjadikan tanah tersebut mudah menjadi padat. Tanah yang terlalu padat menghambat penetrasi akar menuju lapisan dalam tanah, sehingga diperlukan solusi untuk memperbaiki karakteristik fisik tanah tersebut.

Salah satu solusi yang paling banyak digunakan untuk mengatasi pemadatan tanah adalah aplikasi bahan organik pada tanah (Holilullah dkk., 2015). Sejak 2013, PT Great Giant Pineapple telah melakukan aplikasi *effluent* sapi (limbah cair) pada lahan sebelum tanam, dengan tujuan menunjang perbaikan karakteristik fisik dan kimia tanah ultisol yang akan ditanami tanaman nanas (Sanjaya dkk., 2016).

Natalia dkk. (2018) menyatakan bahwa pemadatan yang terjadi pada tanah ultisol dapat meningkatkan risiko kemunculan dan penyebaran jamur patogen *Phytophthora*, dimana tanah ultisol yang memadat memiliki porositas yang rendah dan infiltrasi rendah sehingga mudah membentuk genangan air. Pernyataan tersebut didukung oleh Martin dan Rahmat (2017), yang membuktikan bahwa terdapat korelasi positif antara karakteristik fisik-kimia tanah dan keberadaan jamur patogen *Phytophthora*, dimana jamur tersebut mengalami pertumbuhan optimum pada kondisi tanah ultisol dengan pemadatan tinggi.

2.1.2 Karakteristik Kimia Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple

Secara umum, karakteristik kimia tanah, bersama dengan karakteristik fisik dan biologi, berperan penting dalam menunjang kehidupan tanaman, mencakup pertumbuhan dan perkembangannya. Karakteristik kimia tanah berupa pH, C-organik, Kapasitas Tukar Kation (KTK), dan kandungan unsur hara. Hara tanah terdiri atas unsur-unsur yang dibutuhkan tanaman sebagai nutrisi, diantaranya N, P, dan K. Secara lebih lanjut, karakteristik kimia tanah dapat menjadi salah satu indikator penentuan tingkat kemampuan lahan dalam mendukung kehidupan tanaman. Aktivitas ion yang tentu tidak dapat dilihat secara langsung akan diketahui melalui penggunaan bahan-bahan kimia sebagai pereaksi atau reagen, sehingga karakteristik kimia tanah dapat diungkapkan. Selain itu, yang lebih penting lagi, karakteristik kimia tanah dapat digunakan sebagai acuan dalam penetapan saran atau rekomendasi terkait pemupukan tanah untuk pemulihan kesuburan tanah atau pengembalian kompleksitas hara tanah (Isir dkk., 2022).

Menurut Natalia dkk. (2018), berdasarkan sampel tanah ultisol yang diambil pada Desember 2016 dari lahan pertanaman nanas (dengan tingkat produksi yang berbeda) milik PT Great Giant Pineapple, diketahui bahwa tanah ultisol tersebut memiliki karakteristik kimia (dengan nilai rata-rata) yaitu P-tersedia $42,51 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), K-tersedia $56,18 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), P-potensial (P_2O_5) $180,31 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), K-potensial (K_2O) $76,65 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), N-total 0,11%, pH H_2O 4,5, C-organik 1,02%, rasio C/N 10,16, K_{dd} (kalium dapat ditukar) $0,33 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$, Na_{dd} (natrium dapat ditukar) $0,14 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$, Ca_{dd} (kalsium dapat ditukar) $1,14 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$, Mg_{dd} (magnesium dapat ditukar) $0,57 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$, KTK (Kapasitas Tukar Kation) $18,76 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$, KB (kejenuhan basa) 12,25%, Fe-tersedia $73,55 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), Mn-tersedia $6,23 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), Cu-tersedia $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), Zn-tersedia $5,34 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm), Al_{dd} (aluminium dapat ditukar) $1,03 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$, dan H_{dd} (hidrogen dapat ditukar) $0,2 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$.

Hasil analisis karakteristik kimia tanah ultisol PT Great Giant Pineapple yang dikemukakan Natalia dkk. (2018) di atas dapat diklasifikasikan menjadi kriteria tertentu berdasarkan nilainya, sehingga diketahui karakteristik kimia tanah secara lebih umum. Tanah ultisol PT GGP memiliki karakteristik kimia berupa kandungan P-tersedia sangat tinggi, P-potensial rendah, K-tersedia tinggi, K-potensial sangat rendah, N-total rendah, C-organik rendah, rasio C/N rendah, dan kejenuhan basa (KB) sangat rendah. Selain itu, kapasitas tukar kation (KTK) tanah masuk kriteria sedang, yang terdiri atas K_{dd} rendah, Na_{dd} rendah, Ca_{dd} sangat rendah, dan Mg_{dd} rendah. Unsur-unsur mikro tersedia seperti Fe, Mn, Cu, dan Zn pada tanah masuk kriteria cukup. Pengukuran pH tanah dengan pelarut berupa akuades (H_2O) menghasilkan kriteria masam untuk tanah ultisol tersebut (BPSI Tanah dan Pupuk, 2023).

2.1.3 Karakteristik Biologi Tanah Ultisol PT Great Giant Pineapple

Karakteristik biologi tanah sangat berkaitan dengan karakteristik fisik dan kimia tanah, dimana utamanya karakteristik tersebut dapat diungkap melalui eksplorasi keanekaragaman hayati tanah, mencakup mikrofauna, makrofauna, dan mikroba tanah. Keanekaragaman mikroba tanah paling tinggi umumnya ditemui pada tanah rizosfer, atau tanah di sekitar perakaran tanaman, yang selanjutnya mereka lebih dikenal sebagai mikroba rizosfer. Produksi eksudat akar tanaman yang berbeda untuk setiap fase pertumbuhan menjadikan kelimpahan dan keanekaragaman mikroba rizosfer akan berbeda pula bergantung pada fase pertumbuhan tanaman, mengingat eksudat akar merupakan sumber nutrisi utama bagi mikroba rizosfer. Meskipun begitu, hubungan yang terjadi antara tanaman dan mikroba rizosfer nyatanya tidak hanya menjadi hubungan satu arah, dimana mikroba rizosfer banyak membantu dalam penguraian hara tanah menjadi bentuk tersedia yang dapat diserap akar tanaman sebagai nutrisi untuk mendukung pertumbuhannya (Utami dkk., 2020).

Mikroba rizosfer yang mendukung pertumbuhan tanaman, yang kemudian dikenal sebagai mikroba rizosfer fungsional, tidak hanya membantu dalam menguraikan hara tanah, namun juga dapat memproduksi asam-asam organik dan hormon pengatur tumbuh tanaman. Mikroba fungsional yang umum dijumpai pada rizosfer tanaman nanas berupa *Fusarium*, *Burkholderia*, *Azospirillum amazonense*, hingga *A. lipoferum* (Moreno-Salazar *et al.*, 2020). Diversitas mikroba fungsional tanah menjadi salah satu indikator penting dalam penentuan ketersediaan hara, pengendalian penyakit, hingga penentuan total produksi senyawa-senyawa yang menunjang tumbuh kembang tanaman (Al-Maliki and Ebreesum, 2020). Utami dkk. (2020) menyatakan bahwa terdapat korelasi positif antara fenomena penyakit layu dan busuk lunak pada tanaman nanas dan kelimpahan *Azotobacter*, dimana kelimpahan *Azotobacter* yang

meningkat juga meningkatkan risiko tanaman untuk terserang serangga vektor dan patogen. Hal tersebut disebabkan kandungan N_2 yang semakin tinggi akan menyebabkan dinding sel tanaman menipis. Sementara itu, bakteri penghasil IAA dan fenomena penyakit busuk hati (*heart rot*) akibat jamur patogen *Phytophthora cinnamomi* menunjukkan korelasi negatif, dimana IAA yang diproduksi bakteri meningkatkan adaptasi tanaman terhadap cekaman abiotik, sehingga tekanan vigor sel menjadi lebih baik dan tahan terhadap serangan patogen. Selain itu, IAA juga diketahui berperan ganda selain sebagai fitohormon, juga sebagai antimikroba yang menghambat pertumbuhan patogen pada tanaman (Utami dkk., 2020).

Untuk tanah ultisol di PT Great Giant Pineapple sendiri, Utami dkk. (2020) menyatakan bahwa terdapat perbedaan kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) pada lahan ultisol tanaman nanas dengan fase pertumbuhan tanaman yang berbeda (vegetatif dan generatif), serta lahan dengan produktivitas tanaman yang berbeda (rendah dan tinggi) (Tabel 1). Kelimpahan *Azotobacter* dan BPF yang diukur Utami dkk. (2020) berasal dari tanah ultisol kedalaman ± 20 cm, yang merupakan rizosfer tanaman nanas.

Tabel 1 Kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol PT Great Giant Pineapple, pada fase pertumbuhan dan tingkat produktivitas tanaman berbeda (Utami dkk., 2020).

Faktor Pembeda (Kondisi Tanaman)	Kelimpahan ($\log$ CFU g^{-1})	
	<i>Azotobacter</i>	BPF
Fase Vegetatif	7,01	6,18
Fase Generatif	6,46	5,85
Produktivitas Rendah ($< 60 \text{ ton ha}^{-1}$)	7,01	6,46
Produktivitas Tinggi ($> 60 \text{ ton ha}^{-1}$)	6,64	6,18

2.2 Kebutuhan dan Alokasi Nutrien Tanaman Nanas

Kebutuhan nutrien tanaman nanas dinilai lebih tinggi dibandingkan beberapa jenis tanaman pangan lain, dimana kuantitasnya bervariasi bergantung pada kultivar, berat buah, kerapatan tanam, dan banyak faktor lainnya. Salah satu studi terkait kultivar nanas *Perola* dan *Smooth Cayenne* menunjukkan bahwa kebutuhan nutrien kedua kultivar tersebut mencakup 509-1.234 kg Ha⁻¹ unsur K, 238-450 kg Ha⁻¹ unsur N, 161-253 kg Ha⁻¹ unsur Ca, 33-157 kg Ha⁻¹ unsur Mg, 13-75 kg Ha⁻¹ unsur P, dan 17-40 kg Ha⁻¹ unsur S. Selain itu, buah dan *slip* kultivar *Perola* diketahui mengambil setidaknya 16% unsur K dan N, 13% unsur Ca, 9% unsur Mg, dan 22% unsur S dari total masing-masing nutrien yang diserap dan dikumpulkan atau diakumulasikan tanaman dari tanah melalui akar (Pegoraro *et al.*, 2014).

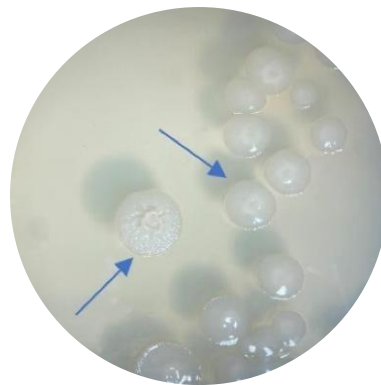
Makronutrien, yang setidaknya terdiri atas unsur N, P, dan K, sangat memengaruhi pertumbuhan, kualitas buah, hingga kuantitas hasil, sehingga kekurangannya akan sangat menurunkan potensi produksi pertanian nanas (Tewodros *et al.*, 2018). Selain itu, mikronutrien juga menawarkan banyak manfaat apabila diberikan dalam jumlah cukup, terutama pada fase vegetatif tanaman nanas. Sebagai contoh, unsur Ca memengaruhi tingkat kekerasan buah, sementara kekurangan (defisit) unsur Mg akan menghambat pertumbuhan batang (Yeboah *et al.*, 2021; Loekito *et al.*, 2022). Sementara itu, kelebihan suplai nutrien pada beberapa kasus justru berakibat buruk bagi tanaman. Interaksi antar nutrien akan berdampak kontributif (korelasi positif) ataupun kompetitif (korelasi negatif). Dampak kontributif dapat berupa pemupukan Mg dan Zn secara bersamaan terbukti meningkatkan tinggi tanaman dan konsentrasi klorofil pada daun, sementara konsentrasi Na yang terlalu tinggi justru menurunkan konsentrasi K, Ca, P, dan Mg menjadi contoh dampak kompetitif (Khuong *et al.*, 2023).

Status nutrisi tanaman, termasuk tanaman nanas, memengaruhi pertumbuhan tanaman, hingga akhirnya menentukan jumlah dan kualitas buah yang dihasilkan secara signifikan. Pengambilan nutrisi tanaman nanas utamanya berkaitan dengan siklus fenologis, dimana awal fase pertumbuhan vegetatif (sejak pemindahan bibit pada lahan tanam hingga 6 bulan pertumbuhan pertama) ditandai dengan pengambilan nutrisi yang relatif lambat, mengingat tanaman belum membentuk terlalu banyak biomassa tubuhnya. Fase selanjutnya, 6 bulan pertumbuhan berikutnya, terjadi peningkatan pengambilan nutrisi dan produksi biomassa dalam rangka mendukung pembungaan tanaman nanas. Pada fase tersebut, sebagian besar nutrisi dan fotosintat yang diserap atau dihasilkan organ vegetatif (akar dan daun) disalurkan menuju organ generatif (bunga), yang merupakan cikal bakal buah. Tanaman nanas memiliki kebutuhan unsur N dan K yang lebih rendah pada 3 bulan pertama pasca penanaman, kemudian mengalami peningkatan seiring berjalannya waktu menuju fase pembungaan atau fase reproduktif tanaman (Pegoraro *et al.*, 2014).

Siklus fenologis dan pengambilan nutrisi tanaman nanas umumnya dipengaruhi kondisi dan faktor iklim regional yang dikaitkan dengan manajemen pertanian, mencakup kultivar tanaman, penggunaan irigasi, dan ukuran bibit. Untuk membentuk strategi penentuan jumlah dan waktu pemupukan lahan serta jumlah minimum hara yang harus dilengkapi untuk menjaga kesuburan tanah, diperlukan pengetahuan terkait jumlah unsur hara terakumulasi dalam tanaman pada setiap tahap perkembangan. Akumulasi unsur hara menjadi sangat penting untuk diketahui oleh petani nanas terkait penentuan strategi pemupukan, yang merupakan dasar untuk mencapai keberhasilan dalam budidaya (Pegoraro *et al.*, 2014). Penggunaan nutrisi tunggal dalam pupuk pada akhirnya tidak mampu membantu mengoptimalkan status nutrisi tanaman nanas, yang justru menyebabkan alokasi nutrisi yang buruk atau kerusakan lingkungan akibat penggunaan pupuk, terutama pupuk kimia, secara berlebihan (Khuong *et al.*, 2023).

2.3 *Azotobacter*

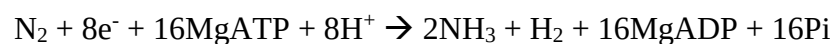
Bakteri penambat nitrogen dikenal luas sebagai bakteri dengan kemampuan mengkonversi nitrogen dari atmosfer (nitrogen atmosfer) menjadi nitrogen dalam bentuk yang dapat dimanfaatkan tumbuhan. Proses konversi tersebut kemudian dikenal sebagai penambatan atau fiksasi nitrogen (Dahal *et al.*, 2017). Bakteri penambat nitrogen mencakup sejumlah besar bakteri heterotrof yang mendiami tanah, sehingga berperan penting dalam reduksi nitrogen secara massal. Salah satu genus bakteri penambat nitrogen yang umum diketahui yaitu *Azotobacter*. *Azotobacter* merupakan bakteri penambat nitrogen non-simbiotik (*free-living*), Gram-negatif, bentuk sel oval atau lonjong, dan bersifat aerob. *Azotobacter* pertama kali ditemukan oleh ahli mikrobiologi dan botani Beijerinck pada tahun 1901. Genus *Azotobacter* terdiri atas 7 spesies berbeda, diantaranya *A. chroococcum*, *A. armeniacus*, *A. beijerinckii*, *A. paspali*, *A. salinestrus*, *A. nigricans*, dan *A. vinelandii*. Nitrogen atmosfer yang difiksasi oleh *Azotobacter* utamanya berperan dalam sintesis protein sel, dimana protein tersebut akan termineralisasi ketika sel bakteri mati, sehingga mendukung ketersediaan nitrogen bagi tanaman (Nongthombam *et al.*, 2021).

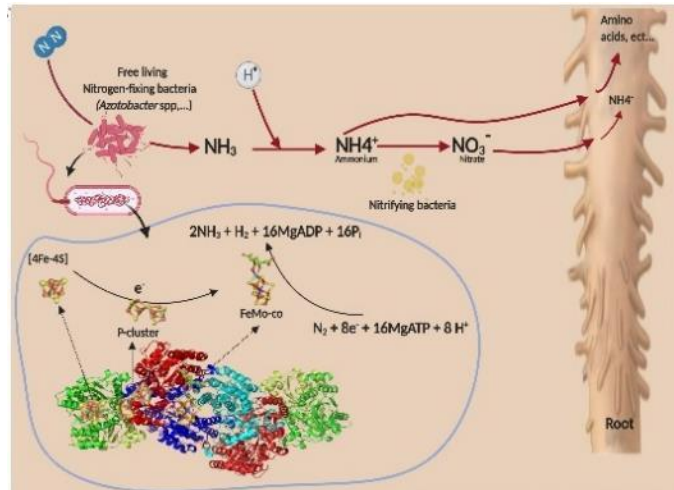


Gambar 2 Morfologi koloni (ditunjukkan anak panah) *Azotobacter chroococcum* pada media *Ashby's Mannitol Agar* (Rysbek *et al.*, 2022).

Azotobacter dapat diketahui melalui penumbuhan bakteri secara *in vitro* dengan media agar dengan gula manitol dan tanpa unsur N, salah satunya yaitu media *Ashby's Mannitol Agar*. *Azotobacter* yang tumbuh pada media agar tersebut akan muncul koloni yang transparan, mirip seperti bulir air (Gambar 2). Hindersah *et al.* (2020) menyatakan bahwa isolat *Azotobacter chroococcum* dan *A. vinelandii*, hasil isolasi dari rizosfer tanaman jagung, memiliki karakteristik produksi eksopolisakarida (EPS), IAA, sitokinin (CK), giberelin (GA), dan tentunya nitrogenase. Isolat *A. chroococcum* dikarakterisasikan dengan produksi eksopolisakarida (EPS) sebesar 6,4 g L⁻¹, IAA 0,52 mg L⁻¹, CK 0,97 mg L⁻¹, GA 0,41 mg L⁻¹, dan aktivitas nitrogenase sebesar 74,1 nmol g⁻¹ jam⁻¹. Sementara itu, isolat *A. vinelandii* dikarakterisasikan dengan produksi EPS 5,9 g L⁻¹, IAA 0,82 mg L⁻¹, CK 0,46 mg L⁻¹, GA 0,35 mg L⁻¹, dan aktivitas nitrogenase 65,2 nmol g⁻¹ jam⁻¹.

Fiksasi nitrogen biologis, yang melibatkan *Azotobacter*, menjadi proses yang berlangsung pada kondisi aerob, dimana hal ini menjadi salah satu penunjuk ciri khas genus *Azotobacter* yang sangat menoleransi keberadaan oksigen selama fiksasi N₂ dalam rangka menjaga respirasi dari nitrogenase. Nitrogenase bergantung-Mo (*Mo-dependent nitrogenase*) sendiri terdiri atas dua protein komponen, yang dikenal sebagai *iron (Fe) protein* atau dinitrogenase reduktase. Kedua protein komponen tersebut bertindak bersama dalam mengkatalisis reduksi dinitrogen (N₂) dalam kompleks reaksi sebagai berikut.





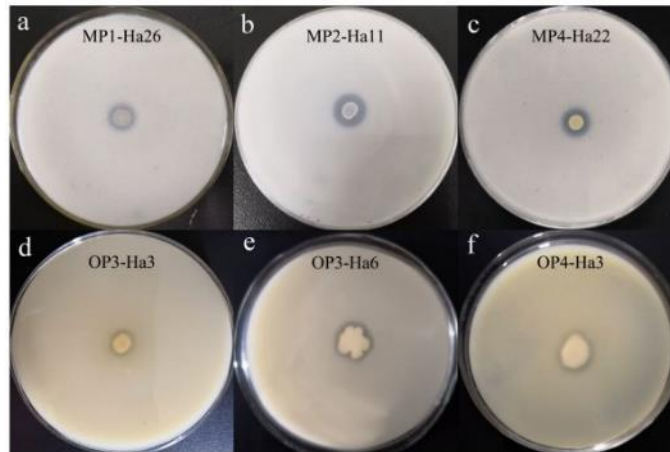
Gambar 3 Mekanisme fiksasi nitrogen atmosfer non-simbiotik oleh *Azotobacter* sp. (Aasfar *et al.*, 2021).

Protein-Fe sendiri merupakan homodimer yang mengandung dua situs perikatan nukleotida (MgATP atau MgADP), dimana satu situs ada di setiap subunit dan kedua subunit tersebut dihubungkan oleh kluster 4Fe-4S tunggal. Nitrogenase-MoFe merupakan protein dengan bentuk α , β , heterotetramer (Gambar 3). Setiap unit α , β dimerik memiliki dua metalokluster yang unik, yaitu kluster-P (8Fe-7S) dan kofaktor-FeMo (FeMo-co). Selama siklus katalitik tersebut, protein-Fe berikatan pada satu unit $\alpha\beta$ dari protein-MoFe. Selama hal tersebut terjadi, satu elektron dipindahkan dari kluster 4Fe-4S menuju protein-MoFe. Pemindahan elektron tersebut bersamaan dengan hidrolisis minimum dari dua molekul MgATP. Melanjutkan pemindahan elektron dan hidrolisis ATP, protein-Fe melepaskan diri dari protein-MoFe dan protein-Fe baru berikatan pada bekas tempat tersebut dan mengulangi siklus yang sama. Hanya satu elektron yang dipindahkan per siklusnya, sehingga setidaknya delapan kali perikatan harus terjadi untuk mereduksi N seperti reaksi sebelumnya (Aasfar *et al.*, 2021).

2.4 Bakteri Pelarut Fosfat

Tanah merupakan salah satu pusat dari terdapatnya berbagai mikrobioma, diantaranya yaitu bakteri pelarut fosfat (BPF). BPF merupakan kelompok bakteri yang memiliki potensi dalam mengubah fosfor tidak larut menjadi bentuk fosfor tersedia yang dapat dimanfaatkan tanaman sebagai nutrisi tumbuh. BPF di dalam tanah relatif sangat beragam jenisnya, dimana potensi pelarutan P dapat dianalisis melalui metode kualitatif dan kuantitatif. Timofeeva *et al.* (2022) menyatakan bahwa BPF lebih umum hidup di tanah dengan aerasi yang cukup, dibandingkan tanah dengan kandungan air tinggi. BPF mencakup genus bakteri aerob dan aerob. *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Micrococcus*, dan *Pseudomonas* merupakan genus BPF aerob, sementara *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Paenibacillus*, dan *Serratia* merupakan genus BPF anaerob.

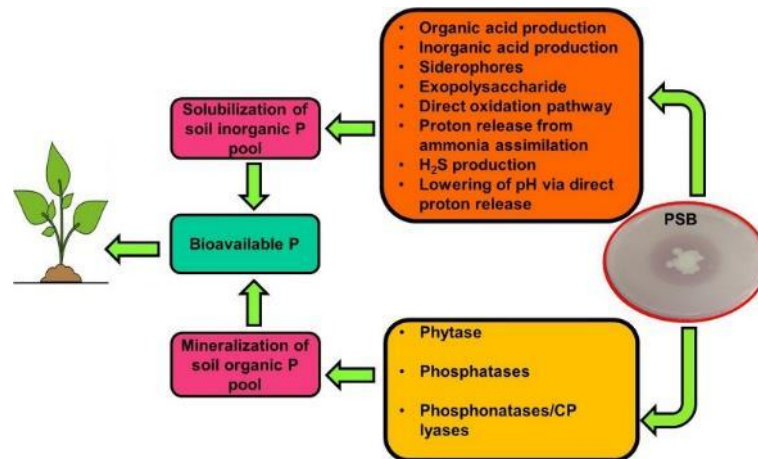
BPF dapat diketahui melalui penumbuhan bakteri secara *in vitro* dengan media agar yang mengandung fosfat anorganik (seperti *tricalcium phosphate* atau $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), salah satunya yaitu media *Pikovskaya's Agar*. BPF yang tumbuh pada media agar tersebut akan memunculkan zona jernih di sekitar koloni, yang menjadi indikator pelarutan fosfat anorganik oleh bakteri. Tingkat atau indeks pelarutan fosfat oleh bakteri dapat ditentukan melalui luas atau diameter zona jernih yang terbentuk. Qingwei *et al.* (2023) menyatakan bahwa isolasi BPF dari sampel tanah rizosfer pohon hawar menghasilkan 35 isolat BPF dengan diameter zona jernih yang berbeda-beda. Isolat BPF hasil isolasi dianalisis taksonnya secara biomolekuler, sehingga diketahui genus dan spesies dari setiap isolat BPF yang diperoleh (Gambar 4).



Gambar 4 Morfologi koloni BPF pada NBRIP (a-c) dan *Pikovskaya's Agar* (d-f) dengan diameter zona jernih bervariasi: a) *Ensifer sesbaniae*, d.10 mm; b) *Pantoea brenneri*, d.13,5 mm; c) *Bacillus altitudinis*, d. 9,9 mm; d) *Pseudomonas* sp., d. 9,4 mm; e) *Pseudomonas* sp., d. 13,4 mm; f) *Bacillus wiedmannii*, d. 15,7 mm (Qingwei *et al.*, 2023).

BPF memainkan peran penting dalam tanah melalui aktivitas metabolismenya, dan menjadi bagian penting dalam kesatuan manajemen nutrisi tanah, dimana mereka meningkatkan akuisisi nutrisi tanah oleh tanaman. BPF dapat menjadi *biofertilizer* potensial yang dapat meningkatkan produksi agrikultur, dengan tidak bertentangan terhadap aspek ekologis (Rajwar *et al.*, 2018). Tidak hanya mendukung penyediaan nutrisi, BPF juga mendukung pertumbuhan tanaman melalui produksi senyawa pendukung tumbuh (hormon), dimana telah dilakukan banyak analisis efek pendukung pertumbuhan tanaman oleh BPF, baik pada kondisi normal maupun dengan cekaman.

Mekanisme utama yang digunakan bakteri pelarut fosfat dalam pelarutan fosfat, terutama fosfat anorganik (seperti Fe-P, Al-P, dan Ca-P), diantaranya yaitu produksi asam organik, produksi asam anorganik dan H₂S, pelepasan proton dari NH₄⁺ (asimilasi/respirasi), mekanisme tak langsung, jalur oksidasi langsung, produksi eksopolisakarida (EPS), dan produksi siderofor (Gambar 5) (Rawat *et al.*, 2021).



Gambar 5 Skema sederhana dari mekanisme pelarutan fosfat tanah oleh bakteri pelarut fosfat (Rawat *et al.*, 2021).

Asam organik seperti asam tartarat, asam glukonat, asam oksalat, dan asam sitrat, dapat diproduksi oleh bakteri pelarut fosfat (BPF) untuk melarutkan fosfat anorganik melalui mekanisme pengelatan ikatan kation pada fosfat, penurunan pH, pembentukan kompleks ikatan ion logam terhadap fosfat, dan membuka situs adsorpsi P. Asam organik berupa senyawa dengan berat molekul (BM) rendah, yang melalui gugus hidroksil dan karboksil yang dimiliki, mengelati kation berikatan fosfor, serta menurunkan pH rizosfer melalui pertukaran gas (O_2/CO_2) dan kesetimbangan proton-bikarbonat, sehingga melepaskan ikatan fosfor (Rawat *et al.*, 2021).

Jalur metabolisme kunci produksi asam organik oleh bakteri pelarut fosfat, diantaranya fermentasi, respirasi senyawa karbon organik, atau oksidasi langsung, menghasilkan asidifikasi atau pengasaman pada lingkungan sekitar bakteri, sehingga melepaskan fosfat dari kompleksnya melalui substitusi proton terhadap kation, seperti Fe^{+3} dan Al^{+3} , atau melalui pertukaran ion fosfat (PO_4^{2-}) oleh anion asam. Asam organik yang paling utama diproduksi BPF diantaranya asam 2-ketoglukonat dan asam glukonat. Sekresi asam glukonat oleh BPF diperantarai enzim glukosa dehidrogenase, dalam jalur oksidasi glukosa secara langsung (Rawat *et al.*, 2021).

Zaheer *et al.* (2019) menyatakan bahwa *Pseudomonas* sp. strain AZ15 sebagai kandidat BPF memproduksi asam oksalat, asam glukonat, asam asetat, asam laktat, dan asam sitrat, dengan tingkat pelarutan fosfat mencapai $109,4 \mu\text{g mL}^{-1}$. Selain itu, *strain* tersebut diketahui meningkatkan variabel hasil pada tanaman buncis, seperti akumulasi material kering, hasil panen, jumlah nodul akar, dan berat kering nodul. Ameen *et al.* (2019) menyatakan bahwa beberapa mekanisme dilakukan BPF secara bersamaan dalam melarutkan fosfat, namun salah satu yang paling dominan adalah asidifikasi (pengasaman) lingkungan sekitar melalui produksi asam organik.

Produksi asam anorganik, seperti asam hidroklorat, asam sulfat, asam nitrat, dan asam karbonat, oleh bakteri pelarut fosfat (BPF) telah diketahui menjadi mekanisme lain pelarutan fosfat. Meskipun demikian, tingkat efisiensi pelarutan fosfat dengan asam anorganik cenderung lebih rendah dibandingkan asam organik. Dalam pelarutan fosfat, mekanisme produksi asam anorganik seperti asam nitrat dan asam sulfat, diketahui dilakukan oleh BPF seperti *Nitrobacter* dan *Thiobacillus* spp. Pelarutan fosfat melalui produksi HCl (asam anorganik), dengan menurunkan pH lingkungan (asidifikasi) hingga setara dengan asam organik, dapat terjadi namun memiliki efisiensi yang jauh lebih rendah. Pada praktik kultur *in vitro*, produksi asam organik dan anorganik oleh BPF dalam pelarutan fosfat terdeteksi sebagai perubahan warna media agar (yang ditambahkan indikator pH) di sekitar koloni BPF. Hal ini menunjukkan asam disekresikan oleh bakteri dari internal menuju eksternal sel.

2.5 Kedalaman Bajak Tanah dan Dekomposisi Serasah

Karakteristik fisik, kimia, dan biologis tanah nyatanya dapat mengalami perubahan, salah satunya melalui pengolahan lahan. Pengolahan lahan menjadi bentuk upaya manusia secara sengaja untuk meningkatkan kualitas dari karakteristik-karakteristik tersebut, dengan kata lain meningkatkan kesuburan tanah. Dalam dunia pertanian sendiri,

pengolahan lahan erat kaitannya dengan upaya yang bertujuan menciptakan karakteristik fisik, kimia, dan biologis tanah yang lebih baik dibandingkan sebelumnya, hingga kedalaman tertentu disesuaikan dengan jangkauan pertumbuhan akar tanaman (Nizatillah dkk., 2019).

Pengolahan tanah dengan inti kegiatan menggemburkan kembali tanah yang akan dijadikan media tanam, tentu tidak terlepas dari istilah pembajakan tanah. Pembajakan tanah dapat dilakukan secara tradisional menggunakan tenaga manusia, namun dalam skala penanaman massal, pembajakan yang paling umum dilakukan adalah pembajakan dengan traktor. Mardinata dan Zulkifli (2014) menyatakan bahwa melalui penggunaan traktor sebagai alat bajak, karakteristik tanah dapat disesuaikan dengan pertumbuhan tanaman melalui pemanfaatan peralatan kerja mekanis dengan kapasitas besar. Pembajakan umumnya berupa bajak piring (*disc plow*) atau bajak singkal (*moldboard plow*). Melalui pembajakan tersebut, kedalaman bajak tanah dapat disesuaikan dengan kebutuhan, mulai dari bajak dangkal (10-20 cm), bajak standar budidaya (20-40 cm), hingga bajak dalam (40-60 cm).

Pelepasan nutrisi dari serasah tanaman terangkum dalam proses dekomposisi yang dilakukan mikroba tanah, dimana komunitas mikroba tanah mensekresikan sejumlah enzim yang memineralisasi bahan organik kompleks menjadi molekul kecil yang mudah diserap oleh tanaman untuk mendukung pertumbuhannya (Fang *et al.*, 2020; Farooq *et al.*, 2022). Oleh karena itu, laju dekomposisi serasah bergantung pada seberapa besar kontak serasah dengan mikroba tanah, yang berarti seberapa dalam serasah dikubur di dalam tanah. Semakin dalam serasah dikubur, yang berarti berkontak dengan semakin banyak mikroba tanah, maka laju dekomposisi akan semakin cepat, demikian sebaliknya. Alvim *et al.* (2015) menyatakan bahwa ukuran cacahan serasah yang kecil, kualitas serasah yang baik, dan kandungan karbon tanah yang tinggi menunjukkan dampak stimulasi rizosfer yang tinggi, yang secara langsung mendukung keberlangsungan dekomposisi serasah.

Berdasarkan hal tersebut, ukuran cacahan serasah pada akhirnya menentukan laju dekomposisi, dimana cacahan serasah dengan ukuran lebih kecil akan lebih cepat terdekomposisi di dalam tanah, dibandingkan cacahan serasah dengan ukuran lebih besar.

2.6 Kompos PT Great Giant Pineapple

Kompos atau pupuk kompos merupakan salah satu produk organik yang dibuat manusia dengan mengandalkan proses dekomposisi dari material organik sisa (tanaman atau hewan), secara aerob maupun anaerob pada kondisi lingkungan tertentu. Sebagai salah satu perusahaan besar yang bergerak di bidang pertanian, PT Great Giant Pineapple memproduksi kompos secara mandiri, yang kemudian akan diaplikasikan pada lahan pertanaman milik sendiri. Bahan baku dari kompos milik PT GGP diantaranya kotoran sapi (*cow dung*), serasah tanaman nanas (*bromelain*), cacahan bambu, hingga ampas dan kulit singkong. Kotoran sapi yang dihasilkan dari peternakan PT GGP perlu dibentuk menjadi *effluent* terlebih dahulu, melalui proses pemisahan dengan kotoran sapi padatan (*solid manure*), dimana *effluent* tersebut dapat menjadi pupuk organik cair yang digunakan untuk menyuburkan tanah pertanaman nanas dan komoditas lainnya (Sutanto dan Lubis, 2017).

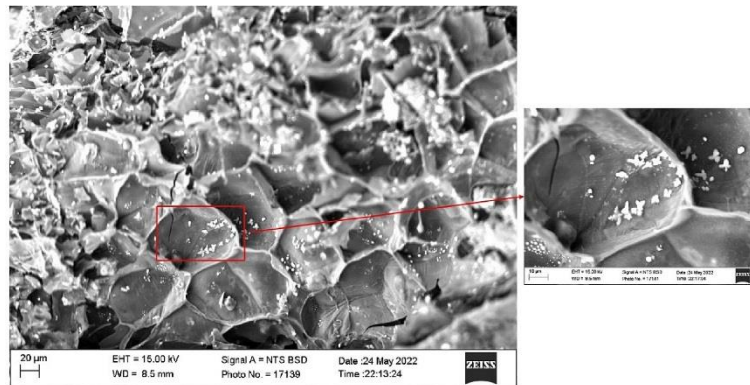
Dalam upaya meningkatkan hara tanah, aktivitas mikrobiologi tanah, hingga perbaikan struktur tanah, PT Great Giant Pineapple mulai tahun 2013 memberlakukan aturan aplikasi *effluent* sapi pada lahan *eks chopper* sebelum dilakukan penanaman berikutnya. *Eks chopper* merujuk pada proses pencacahan sisa tanaman nanas hasil panen menggunakan mesin *chopper* dalam rangka mempercepat dekomposisi sisa dan menjadi penutup permukaan tanah. Cacahan tanaman yang menutupi tanah mampu meminimalisir evaporasi (penguapan air tanah) hingga *splash erosion* (pengikisan lapisan tanah melalui percikan air) akibat curah hujan tinggi (Sutanto dan Lubis, 2017).

Kompos merupakan salah satu pupuk organik yang paling lazim digunakan, terutama pada negara-negara berkembang di dunia. Kompos berasal dari bahan organik yang beragam, terutama kotoran ternak dan serasah tanam, yang difermentasikan dalam kurun waktu tertentu, menghasilkan bahan baru berwarna gelap, tekstur remahan, dan kaya akan nutrisi bagi tanaman. Kompos lebih diminati oleh para petani, dibandingkan pupuk organik lainnya seperti mulsa organik atau kotoran ternak, karena beberapa alasan. Pertama, produk kompos yang dihasilkan melalui proses pengomposan telah melalui fase termofilik, dimana suhu tinggi selama fermentasi akan membunuh gulma, hama, dan patogen tanaman yang terkandung pada bahan asal. Hal tersebut menyebabkan kompos lebih aman untuk diaplikasikan pada lahan pertanian untuk jangka waktu panjang. Kedua, kompos yang diaplikasikan pada tanah menyediakan unsur esensial dan bahan organik dalam kurun waktu yang relatif lebih lama, dengan kata lain kompos menerapkan *slow release* dalam nutrisi tanah dan tanaman. Ketiga, kompos dapat mencegah penyebaran hama atau patogen tanaman, seperti halnya yang terjadi pada aplikasi mulsa organik pada lahan pertanian (Riwandi *et al.*, 2014).

2.7 Biochar

Biochar atau arang pertanian merupakan salah satu produk bioteknologi, dengan mekanisme kerja utama berupa imobilisasi mikroba, dimana mikroba ditetapkan keberadaannya pada suatu ruang melalui mekanisme imobilisasi yang beragam dalam rangka mempertahankan keberlanjutan aktivitas yang dilakukan mikroba tersebut (Gambar 6). Yan *et al.* (2019) menyatakan bahwa aplikasi *biochar* terbukti meningkatkan kelimpahan bakteri penambat-N pada tanah. Blanco-Vargas *et al.* (2022) melengkapi dengan pernyataan bahwa *biochar* dapat menjadi inokulan biologis (bahan hidup pemacu siklus nutrisi tanah) yang baik untuk mendukung pertumbuhan bakteri pelarut fosfat. Efek positif aplikasi *biochar* cenderung lebih terlihat

pada tanah bertekstur ringan, seperti halnya tanah ultisol yang bertekstur liat berpasir. Aplikasi *biochar* terbukti meningkatkan rasio C/N dan ketersediaan nutrisi yang berperan penting dalam fiksasi nitrogen oleh bakteri penambat-N seperti *Azotobacter* dan pelarutan fosfat oleh bakteri pelarut fosfat (Chen *et al.*, 2017).



Gambar 6 Hasil pengamatan melalui *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang menunjukkan kolonisasi bakteri sebagian besar terjadi pada permukaan *biochar* yang kasar dan berpori (Bolan *et al.*, 2023).

Terdapat beberapa mekanisme *biochar* dalam penyediaan lingkungan hidup yang sesuai bagi bakteri tanah. Pertama, *biochar* memperbaiki karakteristik fisika dan kimia tanah, sehingga menyediakan ruang tumbuh yang lebih memadai bagi bakteri tanah (Mao *et al.*, 2019). Kedua, *biochar* menyediakan nutrisi secara langsung bagi bakteri tanah. Ketiga, *biochar* menyediakan area permukaan dan porositas yang besar (Gambar 6), sehingga ruang dan situs perlekatan bakteri untuk tumbuh semakin meningkat (Palansooriya *et al.*, 2019). Keempat, *biochar* memiliki kapasitas adsorpsi yang tinggi, dimana dapat menyerap berbagai substansi organik maupun anorganik terlarut, yang bermanfaat bagi bakteri tanah (Chen *et al.*, 2018). Selain keempat alasan tersebut, *biochar* dikenal luas karena mekanisme *slow release* (pelepasan hara dalam jangka waktu panjang) karbon organik.

2.8 Vermicompost

Vermicompost adalah kompos yang diproduksi melalui proses bio-oksidatif terkontrol yang melibatkan cacing tanah dan mikroba dalam konversi limbah organik menjadi pupuk organik, yang memengaruhi karakteristik fisikokimia tanah dan konsentrasi nutrisi tanah secara signifikan (Aslam *et al.*, 2019). *Vermicompost* diproduksi melalui proses pengomposan pada suhu yang lebih rendah (dibandingkan pengomposan pada umumnya), pH netral, dan kelembapan tinggi untuk mendukung pertumbuhan cacing tanah dan aktivitas mikroba mesofilik yang berperan penting dalam dekomposisi bahan organik dan kesuburan tanah. Pengomposan berlangsung dalam kurun waktu 3-6 bulan, dimulai dari bahan organik mentah hingga diperoleh *vermicompost* yang siap diaplikasikan pada lahan pertanian. Kurun waktu tersebut akan bergantung pada jenis dan jumlah cacing tanah yang digunakan, serta kondisi lingkungan selama pengomposan (Oyege *et al.* (2023). Bianco *et al.* (2022) menyatakan bahwa *vermicompost* yang dihasilkan kaya akan humus, makronutrien, dan mikronutrien, yang dinilai lebih tinggi dibandingkan kandungan nutrisi pada kompos. Hal ini menyebabkan *vermicompost* sangat bernilai.

Vermicompost merupakan bahan organik penyubur tanah dengan ciri khas aktivitas mikroba tinggi dan kaya akan nutrisi, termasuk unsur-unsur esensial seperti N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, dan Cu. Nutrien tersebut berada dalam bentuk tersedia sehingga mudah diserap tanaman. Selain nutrisi, *vermicompost* juga kaya akan enzim yang utamanya berperan dalam degradasi bahan organik, mikroba penyubur, dan substansi pemacu tumbuh tanaman (hormon) (Hoque *et al.*, 2022). Rehman *et al.* (2023) menyatakan bahwa *vermicompost* memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas bakteri tanah melalui peningkatan ketersediaan oksigen, pengaturan suhu tanah, serta peningkatan porositas, infiltrasi, dan kandungan nutrisi tanah. Faktor-faktor lingkungan (pada tanah) yang disediakan dan diatur sedemikian rupa

oleh *vermicompost*, mendukung pertumbuhan bakteri tanah. Selain penyediaan faktor lingkungan yang sesuai, *vermicompost* mendukung pertumbuhan bakteri tanah melalui biokontrol, dimana mikroba antagonis dalam *vermicompost* secara efektif menekan pertumbuhan patogen tanaman. Oleh karena itu, *vermicompost* juga memberikan manfaat dalam menangani hama pertanian (Urmi *et al.*, 2022).

2.9 *Liquid Organic Biofertilizer (LOB)*

Liquid Organic Biofertilizer (LOB) atau pupuk hayati organik cair merupakan pupuk organik yang telah ditambahkan dengan mikroorganisme (dalam bentuk inokulan) dengan kemampuan penyediaan hara, peningkatan ketersediaan hara, proteksi hama dan patogen, penguraian bahan organik, pemantap agregat tanah, hingga bioremediator tanah. Kegunaan LOB relatif lebih beragam dibandingkan pupuk organik biasa yang hanya meningkatkan kesuburan tanah melalui penyediaan nutrisi bagi tanaman. Mikroorganisme yang terkandung dalam LOB berupa bakteri dan jamur yang memberikan dampak positif dalam pertumbuhan tanaman (Novitasari, 2019).

LOB yang diproduksi PT Great Giant Pineapple (Gambar 7) menjadi solusi alternatif dalam upaya pemulihan kualitas lahan, melalui perbaikan karakteristik fisik, kimia, dan biologi tanah, sehingga tanah kembali produktif. LOB PT GGP mengandung banyak bakteri *indigenous* seperti *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, dan *Pseudomonas* sp., hingga berbagai fitohormon yang mendukung pertumbuhan tanaman (seperti auksin, giberelin, dan sitokinin). Selain itu, LOB PT GGP juga mengandung *Azospirillum* sp. dan *Azotobacter* sp. sebagai bakteri penambat N non-simbiotik, *Bacillus* sp. sebagai bakteri pelarut fosfat, hingga jamur *Aspergillus* sp. sebagai mikroba pelarut fosfat dan pengurai bahan organik, terutama lignin dan selulosa dari serasah tanaman (Novitasari, 2019).



Gambar 7 Produk *Liquid Organic Biofertilizer* (LOB) yang diproduksi PT Great Giant Pineapple (Great Giant Foods, 2022).

LOB yang diproduksi PT GGP (Gambar 7) dipasarkan sebagai bentuk substansi yang mengandung mikroorganisme hidup, yang ketika diaplikasikan pada benih, permukaan tanaman, atau tanah, akan mengkolonisasi rizosfer atau bagian dalam tubuh tanaman (terutama akar), sehingga mendukung pertumbuhan tanaman melalui peningkatan suplai atau ketersediaan nutrisi pokok bagi tanaman. Melalui penggunaan LOB, terdapat beberapa keunggulan yang diperoleh dalam kegiatan pertanian, diantaranya mempertahankan dan meningkatkan kesuburan lahan secara berkelanjutan, cara aplikasi relatif mudah dan ramah lingkungan, serta meningkatkan efisiensi pemakaian pupuk organik (Sutanto dan Lubis, 2017).

Aplikasi pupuk dengan pengayaan mikroba (seperti LOB) secara signifikan meningkatkan diversitas komunitas bakteri tanah dan mendukung pembelahan sel-sel bakteri penyubur tanah, yang secara langsung juga meningkatkan aktivitas bakteri tanah (Araujo *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021). Salah satu mekanisme peningkatan diversitas komunitas bakteri tanah oleh LOB yaitu melalui keberadaan probiotik dalam LOB. Wei *et al.* (2024) menyatakan bahwa probiotik dalam LOB mengaktifkan bakteri tanah indigenus, sehingga meningkatkan populasi bakteri tanah. Aplikasi LOB meningkatkan jumlah bakteri penyubur tanah, dimana mereka berkompetisi dalam hal ruang dan nutrisi dengan bakteri patogen, hingga resisten terhadap invasi patogen tanaman.

Penambahan LOB pada kompos sama dengan penambahan inokulum mikroba penyubur tanah, yang akan berinteraksi dengan bakteri tanah, membentuk hubungan yang berkorelasi positif dengan kesuburan tanah. Santoyo *et al.* (2021) menyatakan bahwa konsorsium mikroba (LOB) dalam kompos akan berkolaborasi secara sinergis pada rizosfer, membentuk interaksi kompleks, dan memengaruhi komposisi dan struktur komunitas bakteri tanah. Interaksi kompleks yang dimaksud dalam pernyataan Santoyo *et al.* (2021) berupa interaksi yang utamanya terkait dengan penyediaan ruang tumbuh dan nutrisi bagi bakteri tanah. Bakteri dan aktinobakteri yang terdapat di dalam LOB akan memproduksi senyawa metabolit sekunder yang bersifat antimikroba, dimana senyawa ini ditujukan pada mikroba patogen tanah.

Sementara itu, kapang dalam LOB akan berkompetisi dalam hal ruang, dengan mikroba atau kapang patogen pada tanah, sehingga tidak memberikan ruang bagi patogen untuk tumbuh. Kerja konsorsium mikroba dalam hal ini menyediakan ruang tumbuh yang memadai bagi mikroba penyubur tanah, diantaranya *Azotobacter* dan BPF. Terkait dengan penyediaan nutrisi, mikroba dalam LOB (terutama kapang) akan membantu dekomposisi bahan-bahan organik pada tanah, sehingga penyediaan nutrisi (terutama karbon) semakin cepat. Ju *et al.* (2019) menambahkan bahwa konsorsium mikroba memberikan manfaat lebih bagi kesuburan tanah melalui fungsionalitas mikroba berspektrum luas, tidak seperti inokulum mikroba tunggal.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada November 2023 hingga Juni 2024, yang terdiri atas pengambilan sampel tanah ultisol pertanaman nanas pada lahan percobaan di lokasi 32C PT Great Giant Pineapple, Lampung Tengah, analisis mikrobiologi sampel kompos dan tanah di Laboratorium Mikrobiologi (Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung), dan analisis karakteristik fisika-kimia sampel tanah di Laboratorium Ilmu Tanah (Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung).

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *autoclave*, oven (suhu ± 60 °C), inkubator (suhu ± 37 °C), *Biological Safety Cabinet* (BSC), *Laminar Air Flow* (LAF), *orbital shaker*, *colony counter*, *shaking waterbath*, lemari pendingin, neraca digital analitik, neraca Ohaus, cawan Petri, tabung reaksi, tabung Durham, rak tabung reaksi, pipet ukur, *rubber bulb*, mikropipet dan mikrotip (P100 dan P1000), pipet tetes, buret, jarum ose (bulat dan lancip), batang pengaduk, spatula logam, labu Erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, gelas Beaker, botol reagen, standar turbiditas 0,5 McFarland, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, *vortex mixer*, pembakar spiritus, *sprayer*, sendok logam, gunting, keranjang plastik, termometer digital tanah, *sieve* 0,2 dan 2 mm, pH meter, *ice box*, *ice pack*, alat tulis, *handphone*, dan perangkat komputer beserta *software* penghimpun dan pengolah data numerik (*Microsoft Excel* 2016).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel tanah ultisol, sampel kompos, dan media-media mikrobiologi seperti *Plate Count Agar* (PCA) (Merck), *Rose Bengal Chloramphenicol Agar* (RBCA) (Merck), *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) (HiMedia), *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) (HiMedia), *Lactose Broth* (LB) (HiMedia), *Brilliant Green Bile Broth 2%* (HiMedia), *Tetrathionate Broth (base)* (Merck), glukosa, sukrosa, dekstrosa, manitol, amilum, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , KCl , KI , K_2SO_4 , CaCO_3 , NaNO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}$, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, larutan KOH 1 M, HCl 1 M, H_2SO_4 pekat, H_3PO_4 pekat, *yeast extract*, kasein, pepton, tripton, *carboxymethyl cellulose* (CMC), *skim milk powder*, *urea*, *guaiacol* (2-methoxyphenol), indikator *Bromothymol Blue* (BTB), indikator *Bromophenol Blue* (BPB), indikator *Phenol Red* (PR), *iod*, agar batang, *bacteriological agar*, *nystatin* (suspensi), *chloramphenicol* (250 mg), larutan indikator *Congo Red* 0,1%, larutan NaCl 2M, dan larutan *Lugol's iodine*, alkohol (etanol) 70%, spiritus (metanol), akuades, *cotton swab* atau *cotton bud*, *strip* indikator universal (pH 1-14), *plastic wrap*, *tissue*, kertas HVS, plastik HDPE, korek api, karet gelang, kertas label, dan *aluminium foil*.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Split Plot Design* dengan RAK sebagai rancangan dasar petak utama (*SplitRCBD*). *Main plot* adalah kedalaman bajak yang terdiri atas 2 taraf, yaitu bajak standar budidaya (± 30 cm) dengan cacahan kasar serasah nanas (L0) dan bajak dalam (± 40 cm) dengan cacahan halus serasah nanas (L1). *Sub plot* adalah jenis kompos yang terdiri atas 4 taraf, yaitu kompos GGP (P0), kompos GGP + aplikasi *biochar* 10 ton ha⁻¹ di lahan (P1), kompos premium GGP (P2), kompos premium GGP + LOB (P3). Variabel utama pada penelitian ini adalah kelimpahan ($\log$ CFU g⁻¹) *Azotobacter* dan BPF, yang diketahui melalui metode enumerasi mikroba tidak langsung, yaitu *Total Plate Count* (TPC). Variabel pendukung pada penelitian ini adalah suhu (°C), kadar air (%), pH, dan C-organik (%) tanah.

Sebelum aplikasi, semua jenis kompos diuji mutu secara *in vitro* terlebih dahulu, meliputi uji kandungan bakteri dan jamur total, uji kualitatif penyediaan hara mikroba kompos (N dan P), uji kualitatif produksi enzim mikroba kompos (bakteri: uji produksi protease, selulase, dan urease; jamur: uji produksi amilase, selulase, dan ligninase), dan uji cemaran *E. coli* dan *Salmonella* sp.. Apabila kompos memenuhi standar mutu yang berlaku, maka kompos diaplikasikan pada lahan.

Pengujian pengaruh kedalaman bajak dan jenis kompos dilakukan dengan aplikasi setiap jenis kompos secara langsung pada petak percobaan dengan kedalaman bajak berbeda, untuk kemudian ditanami dengan tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) kultivar *Smooth Cayenne* klon GP 3 PT GGP. Metode pengujian pengaruh kedalaman bajak dan jenis kompos terhadap kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) tanah ultisol dilakukan dengan rincian variasi perlakuan berikut.

Tabel 2 Variasi perlakuan dalam penelitian.

<i>Main Plot</i>	<i>Sub Plot</i>	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
L0	P0	L0P0U1	L0P0U2	L0P0U3
	P1	L0P1U1	L0P1U2	L0P1U3
	P2	L0P2U1	L0P2U2	L0P2U3
	P3	L0P3U1	L0P3U2	L0P3U3
L1	P0	L1P0U1	L1P0U2	L1P0U3
	P1	L1P1U1	L1P1U2	L1P1U3
	P2	L1P2U1	L1P2U2	L1P2U3
	P3	L1P3U1	L1P3U2	L1P3U3

Keterangan:

L0 : Bajak standar budidaya (± 30 cm) + cacahan kasar serasah nanas

L1 : Bajak dalam (± 40 cm) + cacahan halus serasah nanas

P0 : Kompos GGP (kotoran sapi + serasah nanas + 1,75% *biochar*)

P1 : Kompos GGP + aplikasi *biochar* 10 ton ha⁻¹ di lahan

P2 : Kompos premium GGP (kotoran sapi + serasah nanas + 1,75% *biochar* + 1,5% *vermicompost*)

P3 : Kompos premium GGP + *Liquid Organic Biofertilizer* (LOB)

3.4 Prosedur Kerja

Adapun prosedur kerja yang dilakukan pada penelitian ini dijelaskan sebagai berikut.

3.4.1 Pengujian Mutu Mikrobiologi Kompos

Semua jenis kompos yang diaplikasikan pada petak percobaan diuji mutu mikrobiologinya terlebih dahulu untuk pengecekan pemenuhan persyaratan teknik minimal terkait kelayakan pakai pupuk dengan didasarkan pada Keputusan Menteri Pertanian RI Nomor 261/KPTS/SR.310/M/4/2019 Tentang Persyaratan Teknis Minimal Pupuk Organik, Pupuk Hayati, dan Pembenah Tanah. Berdasarkan

peraturan tersebut, diketahui bahwa kompos yang diaplikasikan masuk ke dalam kategori Pupuk Hayati Majemuk dengan parameter uji mutu mikrobiologi berupa jumlah sel hidup bakteri dan fungi, uji fungsional (pelarutan hara dan produksi enzim oleh mikroba kompos), dan uji *E. coli* dan *Salmonella* sp..

3.4.1.1 Pembuatan Media Tumbuh Mikroba Kompos

Media tumbuh mikroba kompos berupa media tumbuh untuk penentuan kandungan total bakteri dan jamur, uji pelarutan hara, uji produksi enzim, serta uji *E. coli* dan *Salmonella* sp. (metode MPN). Uji kandungan total bakteri kompos dengan media *Plate Count Agar* (PCA) (Ulinuha *et al.* (2020)), sementara uji total jamur kompos dengan media *Rose Bengal Chloramphenicol Agar* (RBCA) (Abdel-Sater *et al.* (2016)). Uji penambahan hara N dengan media *Nitrogen-free Bromothymol Blue Agar* (NfBA) (Goswami *et al.* (2015)), uji pelarutan hara P dengan media *National Botanical Research Institute Phosphate Agar* (NBRIPA) + *Bromophenol Blue* (Li *et al.* (2021)), sementara uji produksi enzim bakteri meliputi protease, selulase, dan urease dengan media *Skim Milk Agar* (SMA) modifikasi (Prihatiningsih *et al.* (2021)), *Mandels Agar* + 0,5% CMC (Hernawati dkk. (2015)), dan *Christensen's Urea Agar* (CUA) (Omorieg *et al.* (2016)). Uji produksi enzim jamur meliputi amilase, selulase, dan ligninase dengan media *Czapek-Dox Agar* (CDA) + 1% amilum (Zhang *et al.* (2023)), CDA + 1% CMC (Oetari *et al.* (2016)), dan *Boyd & Kohlmeyer Agar* (BKA) + 4 mM *guaiacol* (Irawan *et al.* (2022)).

Media PCA (Merck) ditimbang sebanyak 22,5 g dan dilarutkan dengan 1 L akuades (disesuaikan dengan kebutuhan) di dalam gelas Beaker. Media RBCA (Merck) ditimbang sebanyak 33,2 g dan dilarutkan dengan 1 L

akuades (d disesuaikan dengan kebutuhan) di dalam gelas Beaker. Campuran dihomogenkan dengan batang pengaduk, diukur pH-nya hingga sesuai dengan instruksi di kemasan media, dan diberi *magnetic stirrer*. Gelas Beaker ditutup dengan *aluminium foil* (tidak terlalu rapat), kemudian dipanaskan di atas *hotplate stirrer* dengan suhu pemanasan maksimum (skala 3) dan kecepatan putaran *stirrer* secukupnya. Media dianggap telah matang ketika media telah cukup hilang kekeruhannya dan tampak mendidih (muncul buih). Media selanjutnya dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer steril untuk disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm, selama 15-20 menit. Media steril didinginkan hingga suhu 40-50 °C, kemudian media siap digunakan untuk isolasi bakteri atau jamur dengan teknik *pour plate* (dengan media masing-masing).

Uji pelarutan hara dengan media-media selektif-diferensial yang mengandung unsur hara tertentu, seperti N dan P (Tabel 3). Sementara itu, uji produksi enzim dengan media umum (*universal*) yang ditambahkan dengan substrat bahan organik seperti protein, selulosa, lignin, amilum, dan urea. Bahan-bahan penyusun media (Tabel 3) ditimbang sesuai ketentuan dan dilarutkan dengan akuades (d disesuaikan dengan kebutuhan) di dalam gelas Beaker. Campuran dihomogenkan dengan batang pengaduk, diukur pH-nya hingga sesuai dengan ketentuan, dan diberi *magnetic stirrer*. Gelas Beaker ditutup dengan *aluminium foil* (tidak terlalu rapat), kemudian dipanaskan di atas *hotplate stirrer* dengan suhu pemanasan maksimum (skala 3) dan kecepatan putaran *stirrer* secukupnya. Media dianggap telah matang ketika telah cukup hilang kekeruhannya dan tampak mendidih.

Tabel 3 Nama, komposisi, dan pH akhir media tumbuh selektif-diferensial untuk uji pelarutan hara dan produksi enzim mikroba kompos.

Nama Media	Komposisi (g L⁻¹)	pH Akhir
<i>Nitrogen-free Bromothymol Blue Agar (NfBA)</i>	Sukrosa 10; NaCl 0,2; K ₂ HPO ₄ 0,6; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,2; K ₂ SO ₄ 0,1; CaCO ₃ 2; larutan 0,5% indikator <i>Bromothymol Blue</i> 2 mL; <i>bacteriological agar</i> 15.	6,8
<i>National Botanical Research Institute Phosphate Agar (NBRIPA) + Bromophenol Blue</i>	Glukosa 10; Ca ₃ PO ₄ 5; MgCl ₂ .6H ₂ O 5; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,25; KCl 0,2; (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,1; indikator <i>Bromophenol Blue</i> 0,025; <i>bacteriological agar</i> 15.	7,2
<i>Skim Milk Agar (SMA) modifikasi</i>	Trypton 5; yeast extract 2,5; dextrose 1; skim milk powder 10; <i>bacteriological agar</i> 15.	7,0
<i>Mandels Agar (MA) + 0,5% CMC</i>	Trypton 3,5; yeast extract 3,5; NaCl 2; KH ₂ PO ₄ 2,45; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,35; (NH ₄) ₂ SO ₄ 1,7; CMC 5; <i>bacteriological agar</i> 15.	7,0
<i>Christensen's Urea Agar (CUA)</i>	Dekstrosa 1; NaCl 5; KH ₂ PO ₄ 2; pepton 2; urea 20; indikator <i>Phenol Red</i> 0,012; <i>bacteriological agar</i> 15.	7,0

<i>Czapek-Dox Agar</i> (CDA) + 1% amilum	Sukrosa 30; NaNO ₃ 2; K ₂ HPO ₄ 1; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,5; KCl 0,5; FeSO ₄ 0,01; amilum 10; agar batang 15.	5,0
<i>Czapek-Dox Agar</i> (CDA) + 1% CMC	Sukrosa 30; NaNO ₃ 2; K ₂ HPO ₄ 1; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,5; KCl 0,5; FeSO ₄ 0,01; CMC 10; agar batang 15.	5,0
<i>Boyd & Kohlmeyer</i> <i>Agar</i> (BKA) + 4 mM <i>guaiacol</i>	Glukosa 10; pepton 2; <i>yeast</i> <i>extract</i> 1; <i>guaiacol</i> 0,45 mL; agar batang 18; <i>chloramphenicol</i> .	5,0

Media selanjutnya dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer steril untuk disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm, selama 15-20 menit. Media steril didinginkan hingga suhu 40-50 °C, kemudian dituang pada cawan Petri steril hingga memenuhi separuh tinggi cawan Petri (20-25 mL) dalam kondisi steril (pada BSC). Media didiamkan hingga memadat, dan apabila telah padat, cawan Petri dibalik untuk mencegah jatuhnya embun air ke permukaan media, hingga media digunakan untuk uji pelarutan hara dan produksi enzim mikroba. Untuk media yang perlu ditambahkan antibakteri (antibiotik) seperti *chloramphenicol*, seperti BKA, bahan tersebut ditambahkan pada media hasil sterilisasi di autoklaf, kemudian dihomogenkan.

Berbeda dari media lainnya, pembuatan media SMA dilakukan melalui cara yang berbeda. Semua bahan penyusun (Tabel 3), kecuali *skim milk*, ditimbang sesuai ketentuan dan dilarutkan dengan akuades dalam volume ½ takaran (Larutan A). Sementara itu, ½ volume akuades yang lain dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer steril dan disterilisasi pada autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm, selama 15-20

menit. Akuades steril tersebut ditambahkan *skim milk* (sesuai takaran) secara aseptis (pada BSC) sehingga diperoleh larutan *skim milk* dalam labu Erlenmeyer (Larutan B).

Larutan A disterilisasi dalam autoklaf, sementara larutan B dipasteurisasi dalam *shaking waterbath* pada suhu 80 °C, selama 30 menit (tidak disterilisasi di autoklaf). Setelah larutan A dan B suhunya mencapai 40-50 °C, larutan B dicampurkan ke dalam larutan A, campuran dihomogenkan, dan segera dituang pada cawan Petri steril hingga memenuhi separuh tinggi cawan Petri (20-25 mL) dalam kondisi steril (pada BSC). Media didiamkan hingga memadat, dan apabila telah padat, cawan Petri dibalik untuk mencegah jatuhnya embun air ke permukaan media hingga media digunakan untuk uji produksi enzim protease bakteri.

Uji cemaran *E. coli* (metode MPN) terdiri atas tiga uji, dimana masing-masing uji dilakukan dengan media uji tertentu. Uji penduga (*presumptive test*) dengan media *Lactose Broth* (LB), uji penguat (*Confirmative Test*) dengan media *Brilliant Green Bile Broth* 2% (BGLB), dan uji pelengkap (*Complete Test*) dengan media *Eosine Methylene Blue Agar* (EMBA) (Sipriyadi *et al.*, 2021).

Media LB (HiMedia) ditimbang sebanyak 13 g dan dilarutkan dengan 1 L akuades (d disesuaikan dengan kebutuhan) di dalam gelas Beaker. Media BGLB (HiMedia) ditimbang sebanyak 40,01 g dan dilarutkan dengan 1 L akuades (d disesuaikan dengan kebutuhan) di dalam gelas Beaker. Campuran dihomogenkan dengan batang pengaduk dan diukur pH-nya hingga sesuai dengan instruksi di kemasan media. Media didistribusikan ke dalam tabung reaksi berisi tabung Durham (keduanya dalam kondisi steril), masing-masing 9 mL. Gelembung yang terjebak dalam

tabung Durham setelah penuangan dikeluarkan (tabung dibalik), hingga tabung Durham seluruhnya dipenuhi media (tidak ada gelembung). Media selanjutnya disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm, selama 15-20 menit. Media steril didinginkan hingga mencapai suhu ruang, kemudian media siap digunakan untuk uji penduga dan penguat dalam uji cemaran *E. coli*.

Untuk media EMBA (HiMedia), pembuatan dilakukan dengan cara yang sama seperti media PCA atau RBCA, dengan ketentuan takaran yaitu 37,46 g untuk 1 L akuades. Media steril yang telah mencapai suhu 40-50 °C dituang pada cawan Petri steril hingga memenuhi separuh tinggi cawan Petri (20-25 mL) dalam kondisi steril (pada BSC). Media didiamkan hingga memadat, dan apabila telah padat, cawan Petri dibalik untuk mencegah jatuhnya embun air ke permukaan media, hingga media digunakan untuk uji pelengkap dalam uji cemaran *E. coli*.

Uji cemaran *Salmonella* sp. (metode MPN) terdiri atas tiga tahap, dimana masing-masing tahap dilakukan dengan media uji tertentu. Tahap pra-pengayaan (*pre-enrichment*) dengan media *Buffered Peptone Water* (BPW), tahap pengayaan selektif (*selective enrichment*) dengan media *Tetrathionate Broth* (TTB) + 20% *iodine-potassium iodide* (KI) solution, dan tahap penanaman selektif-diferensial (*selective-differential plating*) dengan media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) (Rahmawati dkk., 2018).

Bahan-bahan penyusun media BPW, yaitu 10 g pepton, 5 g NaCl, 3,5 g Na₂HPO₄, 1,5 g KH₂PO₄, ditimbang dan dilarutkan dengan 1 L akuades (disesuaikan dengan kebutuhan) di dalam gelas Beaker. Untuk selanjutnya, pembuatan media BPW sama halnya dengan pembuatan

media LB atau BGLB, namun perbedaannya media BPW didistribusikan (sebanyak 9 mL) pada tabung reaksi steril tanpa tabung Durham. Media steril didinginkan hingga mencapai suhu ruang (25-28 °C), kemudian media siap digunakan dalam tahap pra-pengayaan dalam uji cecairan *Salmonella* sp. sampel kompos.

Media TTB (Merck) ditimbang sebanyak 46 g dan dilarutkan dengan 1 L akuades steril (d disesuaikan dengan kebutuhan), yang diupayakan pH-nya sesuai instruksi pada kemasan media. Akuades steril yang digunakan berada dalam labu Erlenmeyer (hasil sterilisasi dengan autoklaf). Campuran diberi *magnetic stirrer* steril, dan dipanaskan pada *hotplate stirrer* hingga media larut sempurna. Setelah dipanaskan, media *broth* didinginkan hingga mencapai suhu ruang, dan ditambahkan larutan *iod*-KI steril sebanyak 20% dari volume media *broth*. Sebanyak 6 g *iod* dan 5 g KI dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi 20 mL akuades steril, kemudian dihomogenkan hingga semua bahan larut sempurna, sehingga didapatkan larutan *iod*-KI steril. Media *broth* + larutan *iod*-KI didistribusikan ke dalam tabung reaksi steril, masing-masing sebanyak 9 mL. Media *broth* dalam tabung reaksi siap digunakan dalam tahap pengayaan selektif dalam uji cecairan *Salmonella* sp..

Media SSA (HiMedia) ditimbang sebanyak 60 g dan dilarutkan dengan 1 L akuades steril (d disesuaikan dengan kebutuhan) yang diupayakan pH-nya sesuai instruksi pada kemasan media. Akuades steril yang digunakan berada dalam labu Erlenmeyer (hasil sterilisasi dengan autoklaf). Campuran diberi *magnetic stirrer* steril, dan dipanaskan pada *hotplate stirrer* hingga media larut sempurna. Media dianggap telah matang ketika media telah cukup hilang kekeruhannya dan

tampak mendidih. Media steril didinginkan hingga suhu 40-50 °C, kemudian dituang pada cawan Petri steril hingga memenuhi separuh tinggi cawan Petri (20-25 mL) dalam kondisi steril (pada BSC). Media didiamkan hingga memadat, dan apabila telah padat, cawan Petri dibalik untuk mencegah jatuhnya embun air ke permukaan media, hingga media digunakan dalam tahap penanaman selektif-diferensial dalam uji cecairan *Salmonella* sp..

3.4.1.2 Uji Kandungan Total Bakteri dan Jamur

Uji kandungan total bakteri dan jamur dilakukan melalui metode *Total Plate Count* (TPC), yang disertai dengan *serial dilution* dan teknik *pour plate*. Sebanyak 15 g sampel kompos diencerkan ke dalam 135 mL larutan NaCl 0,9% dalam labu Erlenmeyer (enceran 10^{-1}), kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada *orbital shaker* dengan kecepatan rotasi 100 rpm, selama 30-60 menit. Hasil inkubasi diambil 1 mL (dengan mikropipet P1000) dan diencerkan kembali ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi (enceran 10^{-2}), kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer* selama 20-30 detik. Pengenceran dilakukan hingga didapat enceran 10^{-9} , dimana enceran 10^{-4} dan 10^{-5} digunakan sebagai sampel isolasi jamur dan dua enceran terakhir (10^{-8} dan 10^{-9}) digunakan sebagai sampel isolasi bakteri, dimana masing-masing enceran diambil 1 mL dan dituangkan secara aseptis ke dalam cawan Petri steril.

Setelah suspensi, media agar (PCA atau RBCA) dengan suhu 40-50 °C (dalam labu Erlenmeyer) dituangkan ke dalam cawan Petri sebanyak 20-25 mL atau mencapai setengah ketinggian cawan Petri, kemudian cawan Petri digerakkan membentuk pola angka 8, sebanyak 5-7 kali gerakan atau hingga homogen. Hasil homogenisasi didiamkan hingga media agar padat. Setiap enceran dikulturkan secara *duplo*.

Kultur diinkubasi pada inkubator bersuhu ± 37 °C selama 24 jam (untuk bakteri) dan/atau meja kerja selama 72 jam (untuk jamur). Jumlah koloni bakteri dan jamur yang tumbuh pada kultur hasil inkubasi dihitung dengan *colony counter* atau secara manual. Hasil perhitungan jumlah koloni antar ulangan dicatat dan dirata-ratakan untuk mewakili data jumlah koloni dari setiap enceran. Data jumlah koloni dimasukkan ke dalam rumus TPC, yang mengacu pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya:

$$TPC (CFU g^{-1}) = \frac{\text{Jumlah koloni (CFU)}}{\text{Massa sampel yang ditanam (g)}}$$

$$TPC (\log CFU g^{-1}) = \log (TPC (CFU g^{-1})).$$

3.4.1.3 Uji Kualitatif Pelarutan Hara Mikroba Kompos

Uji kualitatif pelarutan hara mikroba kompos dilakukan dengan teknik *spread plate*. Sebanyak 0,1 mL (dengan mikropipet P100) enceran 10^{-7} dan 10^{-8} dari sampel kompos (hasil *serial dilution* pada uji kandungan total bakteri dan jamur) dituangkan di atas media agar yang telah dipadatkan dalam cawan Petri, kemudian diratakan dengan drigalski atau *cotton swab* steril. Media yang digunakan meliputi media uji penambatan hara N dan P (Tabel 3). Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari untuk uji penambatan hara N dan pada inkubator ($\pm 37^{\circ}\text{C}$) selama 3 untuk uji pelarutan hara P, dengan indikator hasil positif uji pada kultur hasil inkubasi bersifat khas untuk setiap pengujian (Tabel 4). Hasil uji dinyatakan dalam nilai positif (+) dan negatif (-) uji pelarutan hara dari mikroba (bakteri) kompos.

Tabel 4 Nama media, waktu inkubasi kultur, dan indikator hasil positif uji dalam uji pelarutan hara mikroba kompos.

Nama Media	Waktu Inkubasi	Indikator hasil positif Uji
<i>Nitrogen-free Bromothymol Blue Agar</i>	5 hari	Perubahan warna medium di sekitar koloni dari hijau menjadi biru
<i>National Botanical Research Institute Phosphate Agar</i>	3 hari	Perubahan warna medium di sekitar koloni dari ungu menjadi kuning

3.4.1.4 Uji Kualitatif Produksi Enzim Mikroba Kompos

Uji kualitatif produksi enzim mikroba kompos dilakukan dengan teknik *spread plate*. Sebanyak 0,1 mL (dengan mikropipet P100) enceran 10^{-4} dan 10^{-5} (untuk uji produksi enzim jamur) serta 10^{-7} dan 10^{-8} (untuk uji produksi enzim bakteri) dari sampel kompos (hasil *serial dilution* pada uji kandungan total bakteri dan jamur) dituangkan di atas media agar yang telah dipadatkan dalam cawan Petri, kemudian diratakan dengan drigalski atau *cotton swab* steril. Media yang digunakan meliputi media uji produksi enzim mikroba dengan pengaturan pH yang berbeda-beda (Tabel 3). Kultur diinkubasi pada suhu dan waktu yang bervariasi, dengan indikator hasil positif uji pada kultur hasil inkubasi bersifat khas untuk setiap pengujian (Tabel 5). Hasil uji dinyatakan dalam nilai positif (+) dan negatif (-) uji produksi enzim dari mikroba (bakteri dan jamur) kompos.

Tabel 5 Nama media, suhu dan waktu inkubasi kultur, serta indikator hasil positif uji dalam uji produksi enzim mikroba kompos.

Nama Media	Suhu Inku-basi	Waktu Inkubasi	Indikator hasil positif Uji
<i>Skim Milk Agar</i>	$\pm 37\text{ }^{\circ}\text{C}$	24 jam	Zona jernih di sekitar koloni bakteri
<i>Mandels Agar</i> + 0,5% CMC	$\pm 37\text{ }^{\circ}\text{C}$	24 jam	Zona jernih di sekitar koloni bakteri (setelah penambahan larutan <i>Congo Red</i> 0,1% dan pembilasan larutan NaCl 2M)

<i>Christensen's Urea Agar</i>	$\pm 37^{\circ}\text{C}$	72 jam	Perubahan warna media di sekitar koloni dari jingga menjadi merah-pink
<i>Czapek-Dox Agar + 1% amilum</i>	$\pm 28^{\circ}\text{C}$	72 jam	Zona jernih di sekitar koloni jamur (setelah penambahan larutan <i>Lugol's iodine</i>)
<i>Czapek-Dox Agar + 1% CMC</i>	$\pm 28^{\circ}\text{C}$	72 jam	Zona jernih di sekitar koloni jamur (setelah penambahan larutan <i>Congo Red</i> 0,1% dan pembilasan larutan NaCl 2M)
<i>Boyd & Kohlmeyer Agar + 4 mM guaiacol</i>	$\pm 28^{\circ}\text{C}$	72 jam	Perubahan warna media di sekitar dan bawah koloni jamur menjadi cokelat kehitaman

3.4.1.5 Uji Cemarkan *E. coli*

Uji cemarkan *E. coli* dilakukan melalui metode *Most Probable Number* (MPN), yang disertai dengan teknik *serial dilution* (seperti halnya pada uji kandungan total bakteri dan jamur). Uji cemarkan *E. coli* dengan metode MPN terdiri atas tiga uji, yaitu uji penduga (*presumptive test*), uji penguat (*Confirmative Test*), dan uji pelengkap (*Complete Test*).

Setiap uji layaknya tahap seleksi, sehingga apabila hasil uji penduga tidak positif, maka tidak dilanjutkan ke uji penguat, demikian pula dari uji penguat menuju uji pelengkap.

a. Uji Penduga (*Presumptive Test*)

Enceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} dari sampel kompos masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL (dengan mikropipet P1000) ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL media LB steril. Inokulasi sampel dilakukan hingga selesai 1 seri yang terdiri atas 3 tabung reaksi (beserta tabung Durham). Tiga tabung yang diinokulasikan enceran 10^{-1} menjadi seri A, enceran 10^{-2} menjadi seri B, dan enceran 10^{-3} menjadi seri C, sehingga diperoleh 9 tabung uji. Sebagai kontrol positif dan kontrol negatif dalam uji penduga, masing-masing berupa 1 tabung berisi media LB steril yang ditambahkan 1 mL suspensi bakteri *E. coli* dan/atau *Bacillus* sp. dalam NaCl 0,9% yang disesuaikan dengan standar turbiditas 0,5 McFarland (kepadatan 1×10^8 CFU mL^{-1}). Kultur diinkubasi dalam inkubator bersuhu $\pm 37^\circ\text{C}$ selama 24 jam. Indikator hasil positif uji penduga adalah keberadaan gelembung gas pada tabung Durham yang tampak secara kasat mata (ukurannya cukup besar). Apabila terdapat setidaknya satu tabung uji dengan gelembung gas pada tabung Durham, maka seri asal tabung uji tersebut dilanjutkan ke uji penguat.

b. Uji Penguat (*Confirmative Test*)

Kultur pada uji penduga (dengan gelembung gas pada tabung Durham) masing-masing diinokulasikan secara bersesuaian ke dalam 1 tabung reaksi berisi 9 mL media BGLB steril (dengan tabung Durham) dengan jarum ose bulat steril. Inokulasi pada media BGLB dilakukan hingga

diperoleh seri A, B, dan/atau C untuk uji penguat dari masing-masing sampel. Kultur yang menjadi kontrol positif (*E. coli*) dan negatif (*Bacillus* sp.) juga turut diinokulasikan masing-masing ke dalam 1 tabung berisi 9 mL media BGLB steril (dengan tabung Durham). Kultur diinkubasi dalam inkubator bersuhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Indikator hasil positif uji penguat adalah keberadaan gelembung gas pada tabung Durham yang tampak secara kasat mata (ukurannya cukup besar). Apabila terdapat setidaknya satu tabung uji dengan gelembung gas pada tabung Durham, maka seri asal tabung uji tersebut dilanjutkan ke uji pelengkap.

Pada uji penguat, dilakukan perhitungan nilai MPN, dimana tabung uji yang menunjukkan hasil positif diberikan poin 1, sementara yang menunjukkan hasil negatif diberikan poin 0. Jumlah poin diakumulasikan untuk setiap seri (seri A, B, dan/atau C), sehingga diperoleh kombinasi 3 angka yang berurutan. Kombinasi 3 angka tersebut dibandingkan dengan tabel MPN yang mengacu pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya (Lampiran: Tabel 1), sehingga diketahui nilai MPN untuk cemarkan *E. coli* (MPN g^{-1}) dari masing-masing sampel kompos yang diujikan.

c. Uji Pelengkap (*Complete Test*)

Kultur pada uji penduga (dengan gelembung gas pada tabung Durham) masing-masing diinokulasikan secara bersesuaian ke dalam cawan Petri berisi media EMBA steril (yang telah padat) melalui teknik goresan tunggal (*single streak*), dengan jarum ose bulat steril. Satu cawan berisi media EMBA dapat dibagi menjadi 5 bagian,

dimana 3 bagian untuk masing-masing kultur uji dengan hasil positif dari 1 seri yang sama, 1 bagian untuk kontrol positif, dan 1 bagian untuk kontrol negatif. Kultur pada cawan Petri diinkubasi secara terbalik, dalam inkubator bersuhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Indikator hasil positif uji pelengkap adalah koloni bakteri berwarna hijau metalik, yang menjadi ciri khas koloni *E. coli* pada media EMBA. Hasil uji pelengkap digunakan untuk memperkuat hasil perhitungan nilai MPN cemaran *E. coli* pada uji penguat, melalui perbandingan data antara kedua uji tersebut.

3.4.1.6 Uji Cemaran *Salmonella* sp.

Uji cemaran *Salmonella* sp. dilakukan melalui metode *Most Probable Number* (MPN), yang disertai dengan teknik *serial dilution* (sama seperti yang dilakukan pada uji kandungan total bakteri dan jamur). Uji cemaran *Salmonella* sp. dengan metode MPN terdiri atas tiga tahap, yaitu tahap pra-pengayaan (*pre-enrichment*), tahap pengayaan selektif (*selective enrichment*), dan tahap penanaman selektif-diferensial (*selective-differential plating*). Berbeda dari uji cemaran *E. coli*, setiap tahap dalam uji cemaran *Salmonella* sp. harus dilakukan, hingga tahap terakhir untuk mengetahui seberapa besar cemaran *Salmonella* sp. pada sampel kompos.

a. Tahap Pra-Pengayaan (*Pre-Enrichment*)

Enceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} dari sampel kompos masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL (dengan mikropipet P1000) ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL media BPW steril. Inokulasi sampel dilakukan hingga selesai 1 seri yang terdiri atas 3 tabung reaksi (beserta tabung Durham). Tiga tabung yang diinokulasikan enceran 10^{-1} menjadi seri A, enceran 10^{-2} menjadi seri B, dan enceran 10^{-3} menjadi

seri C, sehingga diperoleh 9 tabung uji. Sebagai kontrol positif dan kontrol negatif dalam tahap pra-pengayaan, masing-masing berupa 1 tabung berisi media BPW steril yang ditambahkan 1 mL suspensi bakteri *Salmonella* sp. dan/atau *Bacillus* sp. dalam NaCl 0,9% yang disesuaikan kekeruhannya dengan standar turbiditas 0,5 McFarland (kepadatan 1×10^8 CFU mL⁻¹). Kultur diinkubasi dalam inkubator bersuhu ± 37 °C selama 24 jam. Kultur dengan pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan media *broth* yang tampak secara kasat mata. Semua kultur hasil pra-pengayaan, baik uji maupun kontrol, dilanjutkan ke tahap pengayaan selektif.

b. Tahap Pengayaan Selektif (*Selective Enrichment*)

Kultur pada tahap pra-pengayaan (mencakup kultur uji dan kontrol) masing-masing diinokulasikan secara bersesuaian sebanyak 1 mL (dengan mikropipet P1000) ke dalam 1 tabung reaksi berisi 9 mL media TTB + 20% larutan *iod*-KI steril, sehingga diperoleh 9 tabung uji dan 2 tabung kontrol dengan media TTB. Kultur diinkubasi dalam inkubator bersuhu ± 37 °C selama 24 jam. Kultur dengan pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan media *broth*, namun kekeruhan dapat saja kurang teramati secara kasat mata disebabkan media TTB pada dasarnya berwarna putih keruh (*milky*). Semua kultur hasil pengayaan selektif, baik uji maupun kontrol, dilanjutkan ke tahap penanaman selektif-diferensial.

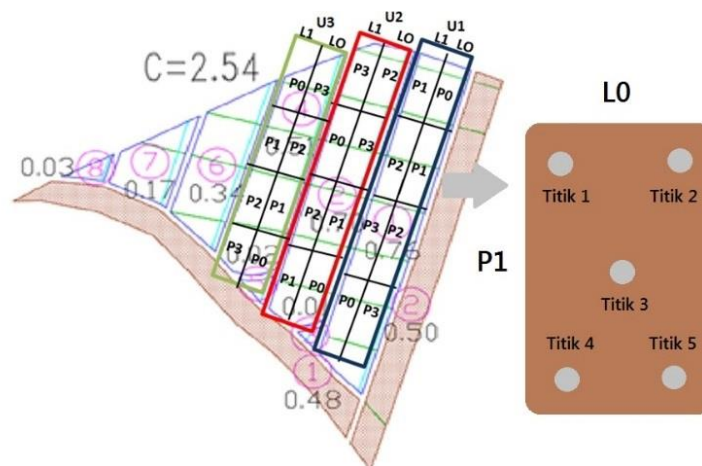
c. Tahap Penanaman Selektif-Diferensial (*Selective-Differential Plating*)

Kultur pada tahap pengayaan selektif (mencakup kultur uji dan kontrol) masing-masing diinokulasikan secara bersesuaian ke dalam cawan Petri berisi media SSA steril (yang telah padat) melalui teknik goresan tunggal (*single streak*), dengan jarum ose bulat steril. Satu cawan berisi media SSA dapat dibagi menjadi 5 bagian, dimana 3 bagian untuk masing-masing kultur uji dari 1 seri yang sama, 1 bagian untuk kontrol positif, dan 1 bagian untuk kontrol negatif. Kultur pada cawan Petri diinkubasi secara terbalik, dalam inkubator suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Indikator hasil positif tahap penanaman selektif-diferensial adalah koloni bakteri berwarna hitam, yang menjadi ciri khas koloni *Salmonella* sp. pada media SSA.

Pada tahap penanaman selektif-diferensial, dilakukan perhitungan nilai MPN, dimana koloni dari kultur uji yang menunjukkan hasil positif (warna hitam) diberikan poin 1, sementara yang menunjukkan hasil negatif (warna selain hitam) diberikan poin 0. Jumlah poin diakumulasikan untuk setiap seri (seri A, B, dan/atau C), sehingga diperoleh kombinasi 3 angka yang berurutan. Kombinasi 3 angka tersebut dibandingkan dengan tabel MPN yang mengacu pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya (Lampiran: Tabel 1), sehingga diketahui nilai MPN untuk cemarkan *Salmonella* sp. (MPN g^{-1}) dari masing-masing sampel kompos yang diujikan.

3.4.2 Pengambilan Sampel Tanah Ultisol Pertanaman Nanas

Pengambilan sampel tanah ultisol pertanaman nanas dilakukan di lahan yang terdapat di lokasi 32C PT Great Giant Pineapple ($4^{\circ}48'37,1''$ LS - $4^{\circ}48'45,9''$ LS dan $105^{\circ}16'55,1''$ BT - $105^{\circ}17'05,2''$ BT) (Lampiran: Gambar 1) dan dilakukan secara berkala pada periode Desember 2023 hingga Maret 2024. Pengambilan sampel tanah ultisol (sampel untuk isolasi *Azotobacter* dan BPF) dilakukan pada 4 waktu berbeda selama masa penelitian, yaitu pasca-perlakuan pra-tanam atau PT (Desember 2023), 1 bulan setelah tanam atau 1 BST (Januari 2024), 2 bulan setelah tanam atau 2 BST (Februari 2024), dan 3 bulan setelah tanam atau 3 BST (Maret 2024). Pengambilan sampel dilakukan pada 5 titik berbeda, dalam pola diagonal atau mata dadu pada masing-masing petak percobaan (Gambar 8), dimana sampel dari setiap titik pengambilan dikompositkan dalam satu wadah, untuk satu petak percobaan yang sama. Jumlah total sampel yaitu 24, sesuai jumlah petak percobaan.



Gambar 8 Peta lahan percobaan dalam penelitian, terkait penempatan petak percobaan dan letak titik pengambilan sampel.

Pada setiap titik pengambilan sampel (titik 1-5), dalam satu petak percobaan, sampel tanah sebanyak 50-100 g diambil dari daerah sekitar akar tanaman nanas (rizosfer) dari kedalaman 0-20 cm, yang

kemudian dikompositkan dengan cara ditempatkan dalam satu kantong plastik HDPE berlabel dan dihomogenkan secara manual (Handayani *et al.*, 2020). Setelah pengambilan selesai, sampel tanah disimpan dalam *ice box* berisi *ice pack*. Segera setelah sampel sampai di laboratorium, sampel dipindahkan ke dalam lemari pendingin suhu ± 4 °C untuk penyimpanan jangka panjang, apabila sampel belum segera dianalisis lebih lanjut.

3.4.3 Pengukuran Variabel Penelitian

Sejumlah variabel digunakan sebagai indikator ketercapaian tujuan penelitian, dimana setiap variabel diukur atau diuji dengan metode tertentu (Tabel 6), yang disertai dengan penggunaan alat atau bahan yang khas, disesuaikan dengan tujuan pengukuran atau pengujian.

Tabel 6 Variabel dalam penelitian disertai metode yang digunakan untuk pengukuran atau pengujiannya.

No	Variabel	Metode	Sampel*
1	Variabel Utama:		
	Kelimpahan <i>Azotobacter</i>	<i>Total Plate Count</i> (TPC) dengan <i>Ashby's Mannitol (AM) Agar</i>	PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST
	Kelimpahan BPF	<i>Total Plate Count</i> (TPC) dengan <i>Pikovskaya's (PVK) Agar</i>	PT, 1 BST, 2 BST, dan 3 BST
2	Variabel Pendukung:		
	Suhu Tanah	Termometer tanah	PT, 1 BST,
	Kadar Air Tanah	Gravimetri	2 BST, dan
	pH Tanah	Elektrometri	3 BST
	C-Organik Tanah	<i>Walkley and Black</i>	

Keterangan: PT (pra-tanam) = Desember 2023; 1 BST (1 bulan setelah tanam) = Januari 2024; 2 BST (2 bulan setelah tanam) = Februari 2024; 3 BST (3 bulan setelah tanam) = Maret 2024.

3.4.3.1 Kelimpahan *Azotobacter* dan Bakteri Pelarut Fosfat

Pengukuran kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC), dengan dengan media tumbuh selektif dan/atau diferensial berupa *Ashby's Mannitol* (AM) Agar dan *Pikovskaya's* (PVK) Agar.

a. Pembuatan Media Tumbuh Selektif-Diferensial

Azotobacter dan Bakteri Pelarut Fosfat

Media tumbuh selektif dan/atau diferensial dibuat untuk mengisolasi *Azotobacter* berupa *Ashby's Mannitol Agar* (AM) (Pranoto dkk. (2015)) dan untuk isolasi bakteri pelarut fosfat digunakan media diferensial *Pikovskaya's Agar* (PVK) (Ramadhani dkk. (2020)). Semua media tumbuh selektif-diferensial dibuat dalam bentuk agar, untuk mendukung pelaksanaan perhitungan bakteri dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Bahan-bahan kimia penyusun media selektif-diferensial ditimbang sesuai ketentuan (Tabel 7) dan dimasukkan ke dalam gelas Beaker, kemudian ditambahkan akuades dengan volume yang ditentukan. Campuran dihomogenkan dengan batang pengaduk, pH media diatur menjadi $7 \pm 0,2$, dan diberi *magnetic stirrer*. Gelas Beaker ditutup dengan *aluminium foil* (tidak terlalu rapat), kemudian dipanaskan di atas *hotplate stirrer* dengan suhu pemanasan maksimum (skala 3) dan kecepatan putaran *stirrer* secukupnya. Media dianggap telah matang ketika media telah cukup mengental dan tampak mendidih (menampakkan buih).

Tabel 7 Nama, komposisi, dan pH akhir media tumbuh selektif-diferensial untuk isolasi dan perhitungan *Azotobacter* dan BPF.

Nama Media	Komposisi (g L ⁻¹)	pH Akhir
<i>Ashby's Mannitol Agar</i>	Manitol 20; K ₂ HPO ₄ 0,2; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,2; NaCl 0,2; K ₂ SO ₄ 0,1; CaCO ₃ 5; <i>bacteriological agar</i> 15.	7,0
<i>Pikovskaya's Agar</i>	Dekstrosa 10; <i>yeast extract</i> 0,5; Ca ₃ (PO ₄) ₂ 5; (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,5; KCl 0,2; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,1; MnSO ₄ .H ₂ O 0,0001; FeSO ₄ .7H ₂ O 0,0001; <i>bacteriological agar</i> 15; <i>nystatin</i> .	7,0

Media selanjutnya dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer untuk disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm, selama 15-20 menit. Media steril didinginkan hingga suhu 40-50 °C, sehingga media siap digunakan untuk isolasi bakteri dengan metode *pour plate*. Untuk media *Pikovskaya's Agar* perlu ditambahkan antijamur (antibiotik) seperti *nystatin* (suspensi), yang ditambahkan pada media hasil sterilisasi di autoklaf pada kondisi relatif panas, untuk memperbesar kemungkinan suspensi antijamur tersebut larut dalam media.

b. Isolasi dan Perhitungan Jumlah *Azotobacter* dan Bakteri Pelarut Fosfat

Perhitungan jumlah *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) dilakukan melalui metode *Total Plate Count* (TPC), yang disertai dengan *serial dilution* dan teknik *pour plate*. Sebanyak 15 g sampel tanah dilarutkan ke dalam 135 mL larutan NaCl 0,9% (enceran 10^{-1}) dalam labu Erlenmeyer, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30-60 menit pada *orbital shaker*. Hasil inkubasi diambil 1 mL dan diencerkan kembali ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,9% (enceran 10^{-2}), kemudian dihomogenisasi dengan *vortex mixer* selama 15-30 detik.

Pengenceran dilakukan hingga didapat enceran 10^{-5} , dimana enceran 10^{-3} dan 10^{-4} digunakan sebagai sampel isolasi *Azotobacter* dan enceran 10^{-4} dan 10^{-5} digunakan sebagai sampel isolasi BPF. Masing-masing enceran diambil 1 mL dan dituangkan ke dalam cawan Petri steril. Setelah suspensi, media agar selektif-diferensial (AM atau PVK) bersuhu 40-50 °C (dalam labu Erlenmeyer) dituangkan ke dalam cawan Petri, kemudian cawan Petri digerakkan membentuk pola angka 8, sebanyak 5-7 kali gerakan atau hingga homogen. Hasil homogenisasi didiamkan hingga media agar padat. Kultur didiamkan hingga media agar padat. Setiap enceran dikulturkan secara *duplo*.

Tabel 8 Nama media, waktu inkubasi kultur, dan indikator hasil positif uji dalam isolasi dan perhitungan *Azotobacter* dan BPF.

Nama Media	Waktu Inkubasi	Indikator hasil positif Uji
<i>Ashby's Mannitol Agar</i>	5 hari	Koloni transparan mirip bulir air
<i>Pikovskaya's Agar</i>	3 hari	Koloni dengan zona jernih di sekitarnya

Kultur diinkubasi dalam inkubator bersuhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 3 hari untuk BPF dan 5 hari untuk *Azotobacter*. Koloni bakteri yang menunjukkan hasil positif pada kultur hasil inkubasi (Tabel 8; Lampiran: Gambar 2) dihitung jumlahnya dengan *colony counter* atau secara manual. Hasil perhitungan jumlah koloni antar ulangan dicatat dan dirata-ratakan untuk mewakili data jumlah koloni dari setiap enceran. Data jumlah koloni dimasukkan ke dalam rumus *Total Plate Count* (TPC) yang mengacu pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya:

$$TPC (CFU g^{-1}) = \frac{\text{Jumlah koloni (CFU)}}{\text{Massa sampel yang ditanam (g)}}$$

$$TPC (\log CFU g^{-1}) = \log (TPC (CFU g^{-1})).$$

3.4.3.2 Suhu Tanah

Suhu tanah diukur secara langsung di lahan percobaan dengan termometer digital tanah. Termometer digital tanah dinyalakan dan bagian elektrodanya ditancapkan pada tanah hingga kedalaman 5-10 cm. Setelah ditancapkan, ditunggu sejenak hingga hasil pengukuran suhu tanah ditampilkan pada layar tampilan termometer. Suhu tanah dinyatakan dalam satuan derajat Celcius ($^{\circ}\text{C}$).

3.4.3.3 Kadar Air Tanah

Kadar air tanah diukur dengan metode gravimetri, dimana kadar air ditentukan dari selisih massa sampel tanah basah dan kering dibagi massa sampel basah. Sejumlah sampel tanah basah diletakkan pada potongan *aluminium foil* yang dialasi cawan Petri, kemudian sampel berikut *aluminium foil* ditimbang dengan neraca digital analitik. Hasil penimbangan dicatat sebagai berat sampel basah. Sampel tanah basah kemudian dikeringkan pada oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Setelah kering, sampel tanah kering ditimbang dengan cara yang sama seperti sampel tanah basah, hingga diperoleh berat sampel kering. Kadar air sampel tanah dinyatakan dalam satuan persen (%), dengan rumus:

$$\text{Kadar air tanah (\%)} = \frac{BB - BK}{BK} \times 100$$

dengan,

BB = berat basah tanah (g);

BK = berat kering tanah (g).

3.4.3.4 pH Tanah

pH tanah diukur dengan metode elektrometri, dimana pengukuran pH dilakukan pada suspensi tanah dengan pelarut berupa akuades. Rasio tanah : akuades yang digunakan dalam pembuatan suspensi adalah 1 : 25. Sebelum dibuat suspensi, sampel tanah dikeringanginkan terlebih dahulu, kemudian diayak dengan *sieve* 2 mm. Tanah yang lolos ayakan ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke labu Erlenmeyer (ukuran 250 mL). Sebanyak 125 mL akuades dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi tanah, kemudian dihomogenkan pada *orbital shaker* selama 30 menit. Suspensi tanah hasil homogenisasi didiamkan hingga tanah mengendap, kemudian diukur pH-nya dengan pH meter. Hasil pengukuran pH suspensi tanah yang ditampilkan pada layar tampilan pH meter mewakili pH sampel tanah.

3.4.3.5 C-Organik Tanah

C-organik tanah diukur dengan metode *Walkley and Black*, dimana pengukuran C-organik didasarkan pada kandungan bahan organik yang mudah teroksidasi, dengan metode titrasi *diphenylamine*.

a. Pembuatan Larutan Reagen

Larutan reagen yang perlu dibuat dalam pengukuran C-organik tanah yaitu larutan PDS (*potassium dichromate standard*) 1 N, larutan indikator *diphenylamine*, dan larutan titran FAS (*ferrous ammonium sulphate*) 0,5 N. Untuk pembuatan larutan PDS, sebanyak 12,26 g $K_2Cr_2O_7$ (kondisi kering) dilarutkan dalam 250 mL akuades, kemudian dihomogenkan dan disimpan dalam botol reagen. Untuk pembuatan larutan indikator *diphenylamine*,

sebanyak 1 g $(\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{NO}_3\text{S})_2\text{Ba}$ dilarutkan dalam 40 mL akuades, kemudian ditambahkan 200 mL H_2SO_4 pekat dan dihomogenkan. Larutan indikator disimpan dalam botol reagen. Untuk pembuatan larutan FAS 0,5 N, sebanyak 49 g $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL, ditambahkan 5 mL H_2SO_4 pekat, dan diencerkan dengan akuades hingga garis batas labu ukur. Larutan FAS 0,5 N dipindahkan ke dalam botol reagen untuk disimpan. Semua larutan reagen dibuat pada hari yang sama dengan hari pereaksian dan titrasi.

b. Pereaksian dan Titrasi *Diphenylamine*

Sampel tanah kering-angin diayak terlebih dahulu dengan sieve 0,2 mm. Hasil ayakan ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer (ukuran 500 mL). Sebanyak 10 mL larutan PDS 1 N ditambahkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi sampel tanah, kemudian dihomogenkan secara perlahan. Setelah cukup homogen, sebanyak 20 mL H_2SO_4 pekat ditambahkan pada suspensi, kemudian dihomogenkan secara perlahan lalu lebih cepat (total selama 1 menit). Setelah homogen, suspensi didiamkan selama 30 menit (hingga suhunya mencapai suhu ruang). Suspensi blanko juga dibuat dengan cara yang sama seperti suspensi sampel, namun tanpa ditambahkan sampel tanah.

Setelah 30 menit, suspensi sampel dan blanko diencerkan dengan 200 mL akuades. Setelah diencerkan, kedua suspensi ditambahkan 10 mL H_3PO_4 pekat dan 1 mL larutan indikator *diphenylamine*, kemudian dihomogenkan. Setelah pereaksian selesai, kedua suspensi dititrasi dengan larutan FAS 0,5 N (yang sebelumnya telah dimasukkan ke dalam buret). Titrasi *diphenylamine*

dimulai dari warna suspensi coklat kehijauan, berubah menjadi ungu gelap kebiruan selama proses, dan titik akhir ditandai dengan kemunculan warna hijau terang.

c. Perhitungan Nilai C-Organik

Perhitungan nilai C-organik tanah melalui metode *Walkley and Black* melalui titrasi *diphenylamine* didasarkan pada dua reaksi, yaitu reaksi oksidasi karbon organik dan reduksi ion Cr_2 . Pada suspensi sampel, setelah reaksi oksidasi karbon organik oleh ion Cr_2 , sisa ion Cr_2 direduksi oleh ion Fe dari larutan FAS 0,5 N. Sementara itu, pada suspensi blanko, tidak terjadi reaksi oksidasi karbon organik, sehingga sisa ion Cr_2 sebenarnya merupakan keseluruhan ion Cr_2 . Keseluruhan ion Cr_2 memerlukan lebih banyak ion Fe dari larutan FAS 0,5 N untuk mereduksinya. Oleh karena itu, selisih antara volume larutan FAS 0,5 N terpakai pada titrasi suspensi blanko dan sampel, setara dengan volume larutan PDS 1 N yang diperlukan untuk mengoksidasi karbon organik pada sampel tanah. Sebanyak 1 mL larutan PDS 1 N diperlukan untuk oksidasi 3 mg (0,003 g) karbon organik.

C-organik sampel tanah dinyatakan dalam satuan persen (%), dengan rumus:

$$C_{\text{organik}} (\%) = \frac{(V_b - V_s) \times N \times 0,003}{W} \times 100$$

dengan,

V_b = volume titran dari suspensi blanko (mL);

V_s = volume titran dari suspensi sampel (mL);

N = normalitas larutan FAS yang digunakan;

0,003 = karbon teroksidasi oleh larutan PDS 1 N (g mL^{-1});

W = berat sampel tanah (g).

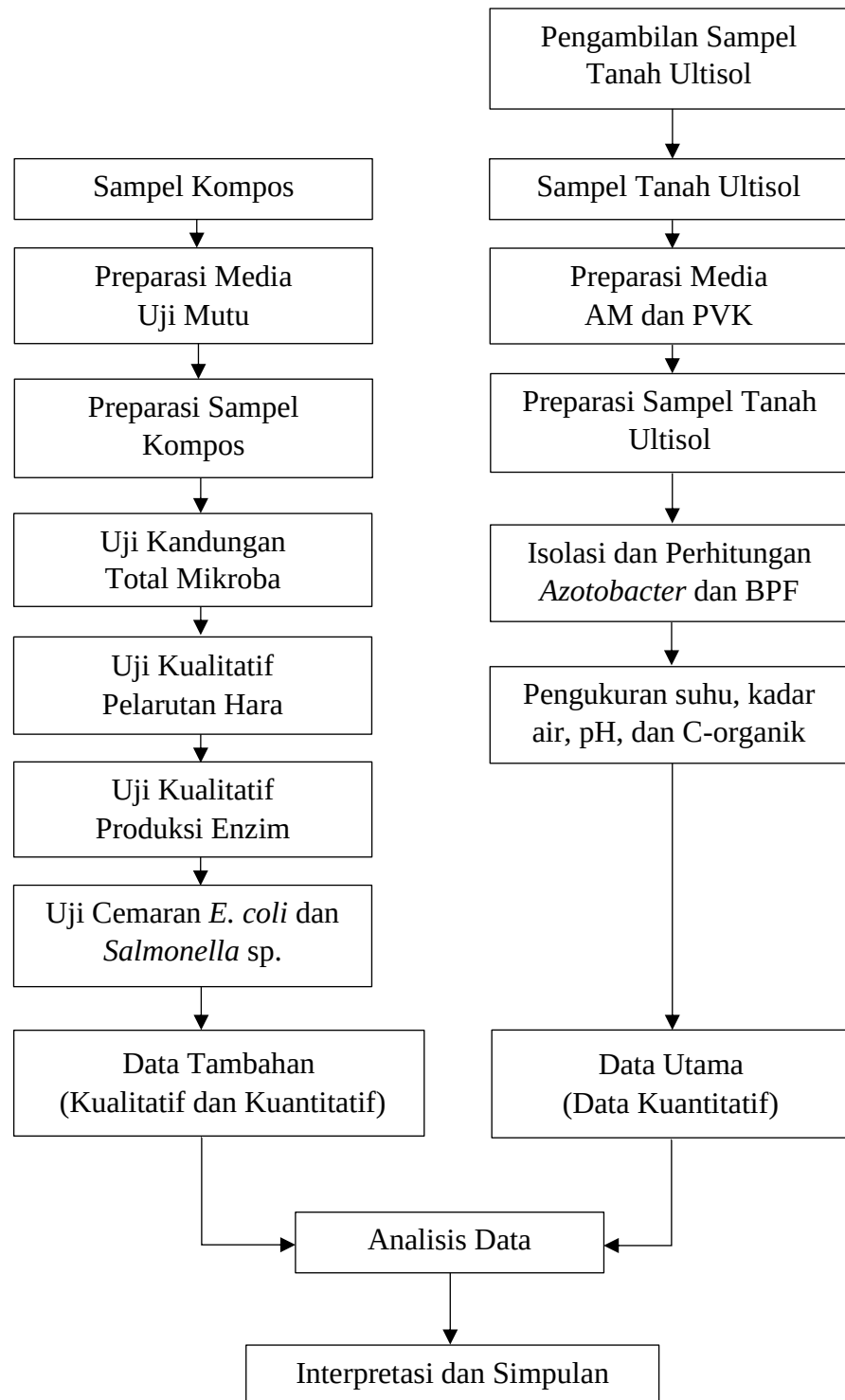
3.5 Analisis Data

Data utama penelitian berupa data variabel penelitian berupa kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat (BPF) per gram tanah yang ditransformasi menjadi bentuk logaritma ($\log \text{CFU g}^{-1}$), suhu ($^{\circ}\text{C}$), kadar air (%), pH, dan C-organik (%) dari sampel tanah ultisol yang diambil pada 4 waktu berbeda (Desember 2023-Maret 2024). Sementara itu, data hasil uji mutu masing-masing jenis kompos menjadi data tambahan. Data kelimpahan *Azotobacter*-BPF, suhu, kadar air, pH, dan C-organik tanah dihimpun, diolah, dan disajikan dalam bentuk tabel dan diagram garis (dengan *Microsoft Excel* 2016). Melalui diagram garis, diketahui tren dinamika masing-masing variabel penelitian selama masa pengambilan sampel, yang dijelaskan secara deskriptif kualitatif.

Data kelimpahan *Azotobacter* dan BPF dari setiap sampel tanah ultisol dianalisis terkait normalitas dan homogenitas data, dengan uji Shapiro-Wilk dan uji Bartlett. Setelah diketahui normalitas dan homogenitasnya, data dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada α 5%, sehingga diketahui keberadaan ragam rerata. Apabila terdapat ragam rerata yang signifikan, maka rerata data dibandingkan secara berpasangan (*pairwise comparison*) melalui *Post Hoc Test*, dengan uji Tukey's HSD pada α 5%, sehingga diketahui pasangan rerata data dengan ragam signifikan. Selain itu, data kelimpahan *Azotobacter* dan BPF dari setiap sampel tanah ultisol dianalisis dengan *Principal Component Analysis* (PCA), sehingga diperoleh *output* berupa *score plot* dan *biplot*.

Melalui hasil uji Tukey's HSD dan PCA, dapat ditentukan perlakuan (kedalaman bajak dan jenis kompos) terbaik, ditinjau dari kelimpahan *Azotobacter* dan BPF yang tertinggi. Data variabel penelitian lainnya (suhu, kadar air, pH, dan C-organik tanah) diuji korelasinya terhadap data kelimpahan *Azotobacter* dan BPF dengan PCA dan uji Pearson R pada α 1%. Sementara itu, data tambahan berupa hasil uji mutu setiap jenis kompos disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas secara deskriptif kualitatif, sehingga diketahui status kelayakan kompos.

3.6 Diagram Alir Penelitian



Gambar 9 Diagram alir penelitian.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, simpulan yang dapat diambil dari penelitian ini:

1. Kelimpahan *Azotobacter* pada sampel PT dan bakteri pelarut fosfat pada sampel 3 BST berbeda signifikan antar kedalaman bajak, dengan perlakuan bajak dalam (± 40 cm) + cacahan halus serasah nanas (L1) sebagai perlakuan terbaik;
2. Kelimpahan *Azotobacter* pada sampel PT dan bakteri pelarut fosfat pada sampel 3 BST berbeda signifikan antar jenis kompos, dengan perlakuan aplikasi kompos premium GGP + *Liquid Organic Biofertilizer* (P3) sebagai perlakuan terbaik;
3. Kelimpahan *Azotobacter* pada sampel PT berbeda signifikan antar interaksi kedalaman bajak – jenis kompos, dengan interaksi L1P3 sebagai interaksi terbaik.

5.2 Saran Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, saran yang dapat diberikan dari penelitian ini untuk penelitian lain dengan topik terkait yaitu penambahan variabel penelitian berupa karakteristik fisik (kepadatan massa, porositas, dan kekerasan tanah) dan kimia tanah (N-total, P-tersedia, dan rasio C/N), yang diukur pada setiap waktu pengambilan sampel yang lebih diperpanjang. Karakteristik fisik-kimia tanah tersebut dapat menjadi data sekunder yang mendukung data utama berupa kelimpahan *Azotobacter* dan bakteri pelarut fosfat, sehingga dapat dilakukan interpretasi data yang lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in microbiology*, 12(628379), 6-7.
- Abdel-Sater, M. A., Moubasher, A. A. H., & Soliman, Z. S. (2016). Diversity of filamentous and yeast fungi in soil of citrus and grapevine plantations in the Assiut region, Egypt. *Czech Mycology*, 68(2), 187.
- Adeleke, R., Nwangburuka, C., & Oboirien, B. (2017). Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. *South African Journal of Botany*, 108, 397-398.
- Al-Maamori, H. A., Salman, A. D., Al-Budeiri, M., Al-Shami, Y. A. O., & Al-shaabani, E. M. (2023). Effect of vermicompost production on some soil properties and nutrients in plants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 214(012006), 1-2.
- Al-Maliki, S., & Ebreesum, H. (2020). Changes in soil carbon mineralization, soil microbes, roots density and soil structure following the application of the arbuscular mycorrhizal fungi and green algae in the arid saline soil. *Rhizosphere*, 14(100203), 1-2.
- Al-Musyafa, M. N., Afandi, A., & Novpriansyah, H. (2016). Kajian sifat fisik tanah pada lahan pertanaman nanas (*Ananas comosus* L.) produksi tinggi dan rendah di PT Great Giant Pineapple Lampung Tengah. *Jurnal Agrotek Tropika*, 4(1), 66-67.
- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in microbiology*, 8, 971.
- Alvim, E. A. C. C., de Oliveira Medeiros, A., Rezende, R. S., & Goncalves Jr, J. F. (2015). Small leaf breakdown in a Savannah headwater stream. *Limnologia*, 51, 132.

- Ameen, F., Al Yahya, S. A., Al Nadhari, S., Alasmari, H., Alhoshani, F., & Wainwright, M. (2019). Phosphate solubilizing bacteria and fungi in desert soils: species, limitations and mechanisms. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(10), 1456.
- Anand yawati, S. A., Nugroho, B., & Sabiham, S. (2017). Study of root exudate organic acids and microbial population in the rhizosphere of oil palm seedling. *J Trop Soils*, 22(1), 33.
- Andika, R., & Suntari, R. (2021). Estimasi Kandungan Fosfor pada Tanaman Nanas Menggunakan *Unmanned Aerial Vehicle* (UAV) di PT Great Giant Pineapple, Lampung. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 8(2), 434.
- Antralina, M., Kania, D., & Santoso, J. (2015). Pengaruh pupuk hayati terhadap kelimpahan bakteri penambat nitrogen dan pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona ledgeriana* Moens) klon cib. 5. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 18(2), 183.
- Araujo, R., Dunlap, C., & Franco, C. M. (2020). Analogous wheat root rhizosphere microbial successions in field and greenhouse trials in the presence of biocontrol agents *Paenibacillus peoriae* SP9 and *Streptomyces fulvissimus* FU14. *Molecular plant pathology*, 21(5), 623.
- Arifin, Z., Ma'shum, M., Susilowati, L. E., & Bustan, B. (2022). Aplikasi *Biochar* dalam Mempengaruhi Aktivitas Mikrobial Tanah pada Pertanaman Jagung yang Menerapkan Pola Pemupukan Terpadu. *Prosiding Saintek*, 4, 214-215.
- Aslam, Z., Bashir, S., Hassan, W., Bellitürk, K., Ahmad, N., Niazi, N. K., ... & Maitah, M. (2019). Unveiling the efficiency of vermicompost derived from different biowastes on wheat (*Triticum aestivum* L.) plant growth and soil health. *Agronomy*, 9(12), 791.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Lampung Tengah. (2023). Produksi Buah-Buahan dan Sayuran Tahunan Menurut Jenis Tanaman di Kabupaten Lampung Tengah (Kuintal) 2020-2023. <https://lampungtengahkab.bps.go.id/id/>. Diakses pada 25 Juni 2024.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Lampung Tengah. (2025). Jumlah Curah Hujan Menurut Bulan di Stasiun Klimatologi (mm/tahun), 2024. <https://lampungtengahkab.bps.go.id/id/>. Diakses pada 13 Mei 2025.
- Balai Pengujian Standar Instrumen Tanah dan Pupuk. (2023). *Petunjuk Teknis Edisi 3: Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air, dan Pupuk*. Bogor: Kementerian Pertanian Republik Indonesia. pp. 234-235.
- Bian, H., Li, C., Zhu, J., Xu, L., Li, M., Zheng, S., & He, N. (2022). Soil moisture affects the rapid response of microbes to labile organic C addition. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 857185.

- Bianco, A., Fancello, F., Garau, M., Deroma, M., Atzori, A. S., Castaldi, P., ... & Budroni, M. (2022). Microbial and chemical dynamics of brewers' spent grain during a low-input pre-vermicomposting treatment. *Science of the Total Environment*, 802, 149792.
- Blanco-Vargas, A., Chacón-Buitrago, M. A., Quintero-Duque, M. C., Poutou-Piñales, R. A., Díaz-Ariza, L. A., Devia-Castillo, C. A., ... & Pedroza-Rodríguez, A. M. (2022). Production of pine sawdust biochar supporting phosphate-solubilizing bacteria as an alternative bioinoculant in *Allium cepa* L., culture. *Scientific Reports*, 12(1), 12815.
- Bohórquez-Sandoval, L. J., García-Molano, J. F., Pascual-Valero, J. A., & Ros-Muñoz, M. (2024). A comprehensive review on organic waste compost as an effective phosphorus source for sustainable agriculture. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 13(4), 3.
- Bolan, S., Hou, D., Wang, L., Hale, L., Egamberdieva, D., Tammeorg, P., ... & Bolan, N. (2023). The potential of biochar as a microbial carrier for agricultural and environmental applications. *Science of the Total Environment*, 886, 163968.
- Cahyono, P., Loekito, S., Wiharso, D., Rahmat, A., Nishimura, N., & Senge, M. (2020). Effects of Compost on Soil Properties and Yield of Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) on Red Acid Soil, Lampung, Indonesia. *GEOMATE Journal*, 19(76), 35-36.
- Chen, H., Ma, J., Wei, J., Gong, X., Yu, X., Guo, H., & Zhao, Y. (2018). Biochar increases plant growth and alters microbial communities via regulating the moisture and temperature of green roof substrates. *Science of the total Environment*, 635, 334.
- Chen, J., Sun, X., Zheng, J., Zhang, X., Liu, X., Bian, R., ... & Pan, G. (2017). Biochar amendment changes temperature sensitivity of soil respiration and composition of microbial communities 3 years after incorporation in an organic carbon-poor dry cropland soil. *Biology and Fertility of Soils*, 54, 185.
- Dahal, B., NandaKafle, G., Perkins, L., & Brözel, V. S. (2017). Diversity of free-living nitrogen fixing *Streptomyces* in soils of the badlands of South Dakota. *Microbiological Research*, 195, 3-4.
- Das, S., Richards, B. K., Hanley, K. L., Krounbi, L., Walter, M. F., Walter, M. T., ... & Lehmann, J. (2019). Lower mineralizability of soil carbon with higher legacy soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry*, 130, 20.
- Demir, Z. (2019). Effects of vermicompost on soil physicochemical properties and lettuce (*Lactuca sativa* Var. *Crispa*) yield in greenhouse under different soil water regimes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(17), 2162-2163.

- Elfiati, D., Delvian, D., Hanum, H., Susilowati, A., & Rachmat, H. H. (2021). Potential of phosphate solubilizing fungi isolated from peat soils as inoculant biofertilizer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(6), 3044.
- Fang, M., Liang, M., Liu, X., Li, W., Huang, E., & Yu, S. (2020). Abundance of saprotrophic fungi determines decomposition rates of leaf litter from arbuscular mycorrhizal and ectomycorrhizal trees in a subtropical forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 149(107966), 1-2.
- Farooq, T. H., Li, Z., Yan, W., Shakoor, A., Kumar, U., Shabbir, R., ... & Chen, X. (2022). Variations in litterfall dynamics, C: N: P stoichiometry and associated nutrient return in pure and mixed stands of camphor tree and masson pine forests. *Frontiers in Environmental Science*, 10(903039), 2.
- Gama, D. P., Afandi, A., Yusnaini, S., & Banuwa, I. S. (2022). Pengaruh Aplikasi Asam Humat terhadap Nisbah Dispersi dan Daya Menahan Air Tanah pada Tanah Ultisol di PT Great Giant Pineapple (GGP) Lampung Tengah. *Jurnal Agrotek Tropika*, 10(2), 270.
- Gao, Y., Wang, S., Tan, W., & Xi, B. (2023). Dynamics of nutrient elements and potentially toxic elements during composting with different organic wastes. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7, 1181392.
- Goswami, D., Parmar, S., Vaghela, H., Dhandhukia, P., & Thakker, J. N. (2015). Describing *Paenibacillus mucilaginosus* strain N3 as an efficient plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food & Agriculture*, 1(1000714), 4.
- Great Giant Foods. (2022). Regenerative Agriculture: Bringing Nature's Best to The Table.
- Handayani, K., Mubari, N. R., Sutandi, A., Sudadi, U., & Santosa, D. A. (2020). Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Rhizosphere of Pineapple Plantation in Lampung, Indonesia. *Plant Archives (International Journal of Plant Research)*, 20(2), 4164.
- Harlifia, N. F., Irawan, B., & Farisi, S. (2021). Manufacture of Ligninolytic Fungi Inoculum *Geotrichum* sp. with Sorghum (*Sorghum bicolor*) Media and its Effect on the Quality of Bamboo Leaf Compost (*Bambusa* sp.). *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 8(1), 63-67.
- Hernawati, W., Sumardi, S., & Rochmah, A. (2015). Pengaruh Pemaparan Medan Magnet pada Media Mandels yang Dimodifikasi terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Selulase *Bacillus* sp.. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 16(2), 78.

- Hindersah, R., Setiawati, M. R., Asmiran, P., & Fitriatin, B. N. (2020). Formulation of *Bacillus* and *Azotobacter* consortia in liquid cultures: preliminary research on microbes-coated urea. *International Journal of Agriculture System*, 8(1), 2-3.
- Ho, T. T. K., Le, T. H., Tran, C. S., Nguyen, P. T., Vo, T. D. H., Thai, V. N., & Bui, X. T. (2022). Compost to improve sustainable soil cultivation and crop productivity. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 6(100211), 4-5.
- Holilullah, H., Afandi, A., & Novpriansyah, H. (2015). Karakteristik Sifat Fisik Tanah pada Lahan Produksi Rendah dan Tinggi di PT Great Giant Pineapple. *Jurnal Agrotek Tropika*, 3(2), 278-279.
- Hoque, T. S., Hasan, A. K., Hasan, M. A., Nahar, N., Dey, D. K., Mia, S., ... & Kader, M. A. (2022). Nutrient release from vermicompost under anaerobic conditions in two contrasting soils of Bangladesh and its effect on wetland rice crop. *Agriculture*, 12(3), 376.
- Idbella, M., Baronti, S., Giagnoni, L., Renella, G., Becagli, M., Cardelli, R., ... & Bonanomi, G. (2024). Long-term effects of biochar on soil chemistry, biochemistry, and microbiota: Results from a 10-year field vineyard experiment. *Applied Soil Ecology*, 195, 105217.
- Indonesia, S. N. (2008). Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya. *SNI*, 2897(2008), 4-6.
- Irawan, B., Putri, L. F., & Farisi, S. (2021). Application of xylanolytic fungi inoculum of *Aspergillus tubingensis* R. Mossery in bamboo (*Bambusa* sp.) litter composting. *Journal of Physics: Conference Series*, 1751(1), 012064.
- Irawan, B., Wahyuningtias, I., Ayuningtyas, N., Isky, O. A., Farisi, S., Sumardi, S., ... & Hadi, S. (2022). Potential Lignocellulolytic Microfungi from Pineapple Plantation for Composting Inoculum Additive. *International Journal of Microbiology*, 2022(9252901), 3.
- Isir, S., Tamod, Z. E., & Supit, J. M. (2022). Identifikasi Sifat Kimia Tanah pada Lahan Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) di Desa Talikuran Kecamatan Remboken Kabupaten Minahasa. *Soil Environmental*, 22(1), 1.
- Ju, W., Liu, L., Fang, L., Cui, Y., Duan, C., & Wu, H. (2019). Impact of co-inoculation with plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on the biochemical responses of alfalfa-soil system in copper contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 167, 225.
- Khuong, N. Q., Anh, N. T., Dang, N. H., Han, L. V. B., Nhu, L. T., Xuan, L. N. T., ... & Thuc, L. V. (2023). Determining an Appropriate Leaf Position to Establish Norms of Diagnosis and Recommendation Integrated System for Ratoon Pineapple. *Asian Journal of Plant Sciences*, 22(1), 174.

- Krestini, E. H., Susilawati, A., & Hermanto, C. (2020). Effect of NPK fertilizer and microbial consortium to growth and production of garlic (*Allium sativum* L.). *BIO Web of Conferences*, 20(03010), 2.
- Li, K. S., Zeghbrokeck J, V., Liu, Q., & Zhang, S. (2021). Isolating and characterizing phosphorus solubilizing bacteria from rhizospheres of native plants grown in calcareous soils. *Frontiers in Environmental Science*, 9(802563), 2.
- Liu, P., Xia, Y., & Shang, M. (2020). A bench-scale assessment of the effect of soil temperature on bare soil evaporation in winter. *Hydrology Research*, 51(6), 1355-1356.
- Loekito, S., Afandi, Afandi, A., Nishimura, N., Koyama, H., & Senge, M. (2022). The Effects of Calcium Fertilizer Sprays during Fruit Development Stage on Pineapple Fruit Quality under Humid Tropical Climate. *International Journal of Agronomy*, 2022(3207161), 7.
- Lu, H., Yan, M., Wong, M. H., Mo, W. Y., Wang, Y., Chen, X. W., & Wang, J. J. (2020). Effects of biochar on soil microbial community and functional genes of a landfill cover three years after ecological restoration. *Science of the Total Environment*, 717(137133), 2.
- Lucchetta, M., Romano, A., Alzate Zuluaga, M. Y., Fornasier, F., Monterisi, S., Pii, Y., ... & Gaiotti, F. (2023). Compost application boosts soil restoration in highly disturbed hillslope vineyard. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1289288.
- Lund, P., Tramonti, A., & De Biase, D. (2014). Coping with low pH: molecular strategies in neutralophilic bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 38(6), 1094-1097.
- Mackie, K. A., Marhan, S., Ditterich, F., Schmidt, H. P., & Kandeler, E. (2015). The effects of biochar and compost amendments on copper immobilization and soil microorganisms in a temperate vineyard. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 201, 67.
- Maji, D., Misra, P., Singh, S., & Kalra, A. (2017). Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. *Applied soil ecology*, 110, 97-98.
- Mao, J., Zhang, K., & Chen, B. (2019). Linking hydrophobicity of biochar to the water repellency and water holding capacity of biochar-amended soil. *Environmental Pollution*, 253, 780.
- Mardinata, Z., & Zulkifli, Z. (2014). Analisis Kapasitas Kerja dan Kebutuhan Bahan Bakar Traktor Tangan Berdasarkan Variasi Pola Pengolahan Tanah, Kedalaman Pembajakan dan Kecepatan Kerja. *Agritech*, 34(3), 355.

- Martin, D. A. N., & Rahmat, A. (2017). Relationship of soil physicochemical properties and existence of *Phytophthora* sp. in pineapple plantations. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 2(1), 85.
- Moreno-Salazar, R., Sánchez-García, I., Chan-Cupul, W., Ruiz-Sánchez, E., Hernández-Ortega, H. A., Pineda-Lucatero, J., & Figueroa-Chávez, D. (2020). Plant growth, foliar nutritional content and fruit yield of *Capsicum chinense* biofertilized with *Purpureocillium lilacinum* under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*, 261(108950), 1-2.
- Natalia, R., Anwar, S., Sutandi, A., Nugroho, B., & Cahyono, P. (2018). Karakteristik Kimia dan Fisika Tanah di Area Pertanaman Nanas dengan Perbedaan Tingkat Produksi. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 20(1), 15.
- Nizatillah, D., Bulan, R., & Yunus, Y. (2019). Kajian Kedalaman Penggunaan Bajak Singkal terhadap Perubahan Sifat Fisika-Mekanika, Kapasitas Lapang dan Kebutuhan Bahan Bakar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 4(1), 609.
- Nongthombam, J., Kumar, A., Sharma, S., & Ahmed, S. (2021). *Azotobacter*: A complete review. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 10(6), 72-73.
- Novitasari, D., Andalasari, T. D., Widagdo, S., & Rugayah, R. (2019). Respons Pertumbuhan dan Produksi Selada (*Lactuca sativa* L.) Terhadap Perbedaan Komposisi Media Tanam dan Interval Waktu Aplikasi Pupuk Organik Cair. *Jurnal Agrotek Tropika*, 7(2), 336-337.
- Oetari, A., Susetyo-Salim, T., Sjamsuridzal, W., Suherman, E. A., Monica, M., Wongso, R., ... & Teja, T. P. (2016). Occurrence of fungi on deteriorated old *dluwang* manuscripts from Indonesia. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 114(2016), 95.
- Omoregie, A. I., Senian, N., Li, P. Y., Hei, N. L., Leong, D. O. E., Ginjom, I. R. H., & Nissom, P. M. (2016). Screening for Urease-Producing Bacteria from Limestone Caves of Sarawak. *Borneo Journal of Resource Science and Technology*, 6(1), 38-39.
- Oyege, I., & Balaji Bhaskar, M. S. (2023). Effects of vermicompost on soil and plant health and promoting sustainable agriculture. *Soil Systems*, 7(4), 101.
- Palansooriya, K. N., Wong, J. T. F., Hashimoto, Y., Huang, L., Rinklebe, J., Chang, S. X., ... & Ok, Y. S. (2019). Response of microbial communities to biochar-amended soils: a critical review. *Biochar*, 1, 3.
- Pegoraro, R. F., Souza, B. A. M. D., Maia, V. M., Silva, D. F. D., Medeiros, A. C., & Sampaio, R. A. (2014). Macronutrient uptake, accumulation and export by the irrigated 'vitória' pineapple plant. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38, 896-897.

- Pemerintah Indonesia. (2019). *Keputusan Menteri Pertanian RI Nomor 261/KPTS/SR.310/M/4/2019 tentang Persyaratan Teknis Minimal Pupuk Organik, Pupuk Hayati, dan Pembenah Tanah*. Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Pranoto, E., Pratiwi, S., Wachyuni, H., & Anindita, S. (2015). Pola Sebaran Populasi *Azotobacter* sp. dan Bahan Organik pada Berbagai Kelas Kemiringan Lereng Perkebunan Teh Dataran Tinggi PPTK Gambung. *Biospecies*, 8(1), 37.
- Prihatiningsih, N., Asnani, A. R. I., & Djatmiko, H. A. (2021). Extracellular protease from *Bacillus subtilis* B315 with antagonistic activity against bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) of chili. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(3), 1292.
- Qingwei, Z., Lushi, T., Yu, Z., Yu, S., Wanting, W., Jiangchuan, W., ... & Bilal, M. (2023). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere of poplar on road verge and their antagonistic potential against various phytopathogens. *BMC microbiology*, 23(221), 4-8.
- Rahmawati, S., Farahdiba, A. U., Alfian, O., & Adhly, R. B. (2018). Identifikasi Total *Coliform*, *E. coli*, dan *Salmonella* spp. sebagai Indikator Sanitasi Makanan Kantin di Lingkungan Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia. *Jurnal Sains & Teknologi Lingkungan*, 10(2), 104.
- Rajwar, J., Chandra, R., Suyal, D. C., Tomer, S., Kumar, S., & Goel, R. (2018). Comparative phosphate solubilizing efficiency of psychrotolerant *Pseudomonas jessenii* MP1 and *Acinetobacter* sp. ST02 against chickpea for sustainable hill agriculture. *Biologia*, 73, 801.
- Ramadhani, W. S., & Nuraini, Y. (2018). The use of pineapple liquid waste and cow dung compost to improve the availability of soil N, P, and K and growth of pineapple plant in an Ultisol of Central Lampung. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 6(1), 1457.
- Ramadhani, W. S., Handayanto, E., Nuraini, Y., & Rahmat, A. (2020). Aplikasi Limbah Cair Nanas dan Kompos Kotoran Sapi untuk Meningkatkan Populasi Mikroba Pelarut Fosfat di Ultisol, Lampung Tengah. *J Teknik Pertanian Lampung*, 2, 79.
- Rashid, M. I., Mujawar, L. H., Shahzad, T., Almeelbi, T., Ismail, I. M., & Oves, M. (2016). Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiological research*, 183, 28.
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2021). Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1), 57.

- Rehman, S. U., De Castro, F., Aprile, A., Benedetti, M., & Fanizzi, F. P. (2023). Vermicompost: Enhancing plant growth and combating abiotic and biotic stress. *Agronomy*, 13(4), 1134.
- Riwandi, Handjaningsih, M., & Munawar, A. (2014). Soil quality improvement using compost and its effects on organic-corn production. *Journal of tropical soils*, 20(1), 11-12.
- Rosita, R., Apriana, E., Hazra, F., & Eris, D. D. (2023). Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Three Types of Soil Rhizosphere and Their Potency to Increase Growth of Corn Plants (*Zea mays*). *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 10(1), 36.
- Rysbek, A., Ramankulov, Y., Kurmanbayev, A., Richert, A., & Abeldenov, S. (2022). Comparative Characterization and Identification of Poly-3-hydroxybutyrate Producing Bacteria with Subsequent Optimization of Polymer Yield. *Polymers*, 14(2), 335.
- Sahputra, R. D., Nuraini, Y., & Antonius, S. (2017). Dampak Biochar dan Pupuk Organik Hayati Terhadap Aktivitas Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* L.) pada Tanah Ultisol. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 10(10), 3-4.
- Sanjaya, J. H., Afandi, A., Afianti, N. A., & Novpriansyah, H. (2016). Pengaruh Effluent Sapi terhadap Beberapa Sifat Fisik dan Kimia Tanah pada Lahan Ultisol di PT Great Giant Pineapple Lampung Tengah. *Jurnal Agrotek Tropika*, 4(1), 106.
- Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S. D. L., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2021). Plant growth stimulation by microbial consortia. *Agronomy*, 11(2), 219.
- Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesthesia & analgesia*, 126(5), 1765.
- Schulte, P. M. (2015). The effects of temperature on aerobic metabolism: towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment. *The Journal of experimental biology*, 218(12), 1857.
- Sipriyadi, S., Wibowo, R. H., & Darwis, W. (2021). Estimation of Numbers of Coliform Bacterial as Water Quality Indicator in Kepahiang District Rivers, Bengkulu Province. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 7(2), 156-157.
- Suryatmana, P., Halimah, U. A., Kmaluddin, N. N., Herdiyantoro, D., & Setiawati, M. R. (2024). The Potential of *Azolla pinnata* Powder and Compost as a Carrier-base for Improving N-Fixing and P-Solubilizing Bacteria Performance to Increase Soybean Productivity. *Agrikultura*, 35(2), 264.

- Sutanto, A., & Lubis, D. (2017). Zero Waste Management PT Great Giant Pineapple (GGP) Lampung Indonesia. *Prosiding Semnas APPPTM Maret 2017 UM Sidoarjo*, 3(1), 109.
- Tao, F., Huang, Y., Hungate, B. A., Manzoni, S., Frey, S. D., Schmidt, M. W., ... & Luo, Y. (2023). Microbial carbon use efficiency promotes global soil carbon storage. *Nature*, 618(7967), 981.
- Tewodros, M., Mesfin, S., Getachew, W., Ashenafi, A., & Neim, S. (2018). Effect of inorganic N and P fertilizers on fruit yield and yield components of pineapple (*Ananas comosus* Merr. (L.) var. Smooth Cayenne) at Jimma, Southwest Ethiopia. *Agrotechnology*, 7(178), 2.
- Timofeeva, A., Galyamova, M., & Sedykh, S. (2022). Prospects for using phosphate-solubilizing microorganisms as natural fertilizers in agriculture. *Plants*, 11(16), 2119.
- Ulinuha, D., Andayani, S., Hertika, A. M. S., & Kilawati, Y. (2020). Estimation of bacterial number in the water, sediment and biofilm of Badek and Mewek River (Malang, Indonesia) using Plate Count and eDNA Method. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(8), 3833.
- Urmi, T. A., Rahman, M. M., Islam, M. M., Islam, M. A., Jahan, N. A., Mia, M. A. B., ... & Kalaji, H. M. (2022). Integrated nutrient management for rice yield, soil fertility, and carbon sequestration. *Plants*, 11(1), 138.
- Utami, A. D., Wiyono, S., Widyastuti, R., & Cahyono, P. (2020). Keanekaragaman Mikroba Fungsional Rizosfer Nanas dengan Berbagai Tingkat Produktivitas. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(4), 587-590.
- Vranova, V., Rejsek, K., Skene, K. R., Janous, D., & Formanek, P. (2013). Methods of collection of plant root exudates in relation to plant metabolism and purpose: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176(2), 180.
- Wang, W., Hu, K., Huang, K., & Tao, J. (2021). Mechanical fragmentation of leaf litter by fine root growth contributes greatly to the early decomposition of leaf litter. *Global Ecology and Conservation*, 26(e01456), 2.
- Wiesenbauer, J., Gorka, S., Jenab, K., Schuster, R., Kumar, N., Rottensteiner, C., ... & Kaiser, C. (2025). Preferential use of organic acids over sugars by soil microbes in simulated root exudation. *Soil Biology and Biochemistry*, 109738.
- Yan, S., Niu, Z., Yan, H., Yun, F., Peng, G., Yang, Y., & Liu, G. (2019). Biochar application significantly affects the N pool and microbial community structure in purple and paddy soils. *PeerJ*, 7(e7576), 11.

- Yeboah, S., Asibuo, J., Oteng-Darko, P., Asamoah Adjei, E., Lamptey, M., Owusu Danquah, E., ... & Butare, L. (2021). Impact of foliar application of zinc and magnesium aminochelate on bean physiology and productivity in Ghana. *International Journal of Agronomy*, 2021(9766709), 5.
- Zaheer, A., Malik, A., Sher, A., Qaisrani, M. M., Mehmood, A., Khan, S. U., ... & Rasool, M. (2019). Isolation, characterization, and effect of phosphate-zinc-solubilizing bacterial strains on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth. *Saudi journal of biological sciences*, 26(5), 1065.
- Zhang, D., Liu, L., & Chen, B. S. (2023). Marine-Derived Fungi as a Valuable Resource for Amylases Activity Screening. *Journal of Fungi*, 9(736), 3.
- Zhang, J., & Shen, J. L. (2022). Effects of biochar on soil microbial diversity and community structure in clay soil. *Annals of Microbiology*, 72(1), 35.