



KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI RHIZOBAKTERI ASAL MANGROVE TANJUNG PILAWANG SEBAGAI BIOKONTROL DAN AGEN HAYATI PERTUMBUHAN TANAMAN

Cornelia Dolfina Maatoke^{1*}, Deiby Elsa Gisisi², & Yusi Firdawati Girsang³

^{1&2}Program Studi Agroteknologi, Fakultas Ilmu Alam & Teknologi Rekayasa, Universitas Halmahera, Jalan Raya Wari, Halmahera Utara, Maluku Utara 97764, Indonesia

³Program Studi Kehutanan, Fakultas Ilmu Alam & Teknologi Rekayasa, Universitas Halmahera, Jalan Raya Wari, Halmahera Utara, Maluku Utara 97764, Indonesia

*Email: onnana81@gmail.com

Submit: 17-12-2023; Revised: 18-02-2024; Accepted: 24-02-2024; Published: 30-06-2024

ABSTRAK: Rhizobakteri merupakan jenis mikroba yang punya peranan penting dalam menyediakan hara tersedia bagi tanaman. Rhizobakteri hidup bersimbiosis dengan perakaran tanaman, dimana aktivitasnya memberi pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Beragam mikroba yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman diduga berada di daerah perakaran mangrove. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui jenis rhizobakteri mangrove Tanjung Pilawang, Desa Gura, Kecamatan Tobelo, Kabupaten Halmahera Utara yang mampu dalam menghambat pertumbuhan cendawan *Collectotricum capsici* dan melarutkan fosfat untuk dijadikan sebagai biokontrol dan agen hayati pertumbuhan tanaman. Metode penelitian yang digunakan meliputi tahapan isolasi, tahapan seleksi dan karakterisasi, serta tahapan identifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rhizobakteri diisolasi dari tanah mangrove Tanjung Pilawang sebesar 11 isolat, dari 11 isolat tersebut terdapat dua isolat yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan cendawan pathogen *Collectotricum capsici* dan mampu dalam melarutkan fosfat, dimana masing-masing isolat mampu memberikan nilai Indeks Pelarutan (IP) tertinggi sebesar 2,85 mm dan 1,91 mm. Setelah dilakukan identifikasi kedua isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* (RTM 10) dan *Pseudomonas* sp (RTM 06), sehingga kedua bakteri tersebut berpotensi sebagai biokontrol dan agen hayati pertumbuhan tanaman.

Kata Kunci: Rhizobakteri Potensial, Rhizobakteri Mangrove, Biokontrol Penyakit Tanaman, Agen Hayati Pertumbuhan Tanaman.

ABSTRACT: Rhizobacteria are a type of microbe that has an important role in providing nutrients to plants. Rhizobacteria live in symbiosis with plant roots, where their activity has a significant influence on plant growth and development. Various microbes that have the potential to stimulate plant growth are thought to reside in mangrove root areas. The aim of this research is to determine the type of rhizobacteria of the Tanjung Pilawang mangrove, Gura Village, Tobelo District, North Halmahera Regency which is capable of inhibiting the growth of the fungus *Collectotricum capsici* and dissolving phosphate to be used as a biocontrol and biological agent for plant growth. The research methods used include the isolation stage, selection and characterization stages, and identification stages. The results of the research showed that 11 isolates of rhizobacteria were isolated from Tanjung Pilawang mangrove soil, of these 11 isolates there were two isolates that had the potential to inhibit the growth of the pathogenic fungus *Collectotricum capsici* and were able to dissolve phosphate, where each isolate was able to provide a Dissolution Index (IP) value. the highest is 2.85 mm and 1.91 mm. After identification, the two isolates were identified as *Bacillus subtilis* (RTM 10) and *Pseudomonas* sp (RTM 06), so that these two bacteria have potential as biocontrol and biological agents for plant growth.

Keywords: Potential Rhizobacteria, Mangrove Rhizobacteria, Growth Hormone IAA, Plant Disease Biocontrol, Plant Growth Biological Agents.



How to Cite: Maatoke, C. D., Gisisi, D. E., & Girsang, Y. F. (2024). Karakterisasi dan Identifikasi Rhizobakteri Asal Mangrove Tanjung Pilawang sebagai Biokontrol dan Agen Hayati Pertumbuhan Tanaman. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 293-304. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.10133>



Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Ekosistem pesisir merupakan lingkungan yang menyediakan sumberdaya alam yang sebagian besar belum termanfaatkan. Salah satu potensi dari bagian ekosistem pesisir adalah ekosistem mangrove. Hutan mangrove adalah hutan dengan tipe hutan yang khas, karena merupakan ekosistem yang dinamik yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut, asupan air tawar dari darat, akumulasi mineral, dan aktivitas mikroorganisme. Kondisi tersebut menyebabkan rhizosfer mangrove mengandung banyak nutrisi dan memiliki keragaman mikroorganisme yang dapat beradaptasi dengan kondisi ekstri. Mangrove Tanjung Pilawang ditumbuhi oleh beragam spesies mangrove, penelitian terkait mangrove Tanjung Pilawang belum banyak dilakukan. Dari segi ekologi dan interaksinya, hutan mangrove menyimpan keragaman hayati yang cukup tinggi, selain keragaman jenis mangrove dan satwa yang hidup di hutan ini, demikian juga aspek biologi tanahnya yang masih belum banyak diteliti keragaman mikroorganismenya. Menurut Rahim & Baderan (2017), seluruh aktivitas biologi di dalam tanah membantu pengambilan mineral oleh mangrove, serta dekomposisi bahan-bahan organik, produksi serasah, dan pelapukan dari batang mangrove yang mati, merupakan salah satu faktor pendukung yang sangat berpengaruh terhadap aspek biologi tanah dari hutan mangrove.

Tanah daerah mangrove terkandung banyak bakteri, jamur, dan *actinomycetes*. Untuk mendekomposisi bahan organik serta produksi serasah dan pelapukan memerlukan bantuan dari aktivitas mikroorganisme, salah satunya adalah rhizobakteri. Interaksi antara rhizobakteri dan tumbuhan menyebabkan terbentuknya eksudat akar yang berasal dari sel-sel pada ujung akar yang sedang tumbuh dan banyak mengandung selulosa, pektin, pati, dan lignin (Sari *et al.*, 2020). Rhizobakteri merupakan bakteri yang hidup pada daerah *rhizosfer* dan mengkolonisasi sistem perakaran tumbuhan. Daerah *rhizosfer* memiliki ketersediaan nutrisi melimpah yang berasal dari kegiatan fotosintesis, fiksasi nitrogen, dan metanogenesis. Oleh sebab itu, lingkungan *rhizosfer* kaya akan keanekaragaman bakteri.

Rhizobakteri adalah mikroba tanah yang berada di sekitar atau pada permukaan akar tanaman, dan terlibat dalam membantu pertumbuhan, serta perkembangan tanaman melalui produksi dan sekresi berbagai senyawa kimia di sekitar *rizosfer*. Bakteri *rhizosfer* dilaporkan mempunyai kemampuan sebagai agen pengendali hayati dalam menghambat pertumbuhan cendawan patogen *Fusarium oxysporum* f.sp, penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman cabai rawit dan tanaman tomat (Andana *et al.*, 2023; Annura *et al.*, 2021). Perkembangan saat ini menunjukkan penggunaan mikroorganisme antagonis



sebagai agen alternatif pengendali berbagai jenis patogen tanaman semakin banyak dikembangkan dan diteliti, untuk menekan penggunaan fungisida sintetik yang sangat berpengaruh negatif terhadap lingkungan.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Annura *et al.* (2021), rhizobakteri sangat signifikan mampu dalam memacu pertumbuhan tanaman, terlihat dari kemampuan rhizobakteri dalam memproduksi hormon pertumbuhan *Indole Acetic Acid* (IAA), serta dapat melarutkan fosfat, hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Agustiyani (2016), yang menyebutkan bahwa bakteri yang diisolasi dari perakaran tanaman memiliki aktivitas pendukung pertumbuhan yang bervariasi, karena bakteri yang hidup di daerah *rhizosfer* memiliki multi aktivitas dalam mendukung pertumbuhan, dan berpotensi sebagai kandidat agens hayati tanaman. Menurut Israwan *et al.* (2015), penelitian isolat rhizobakteri yang diisolasi dari sistem perakaran tanaman yang sehat di antara tanaman yang sakit telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan koloni patogen. Selain mampu menghambat pertumbuhan patogen, tanaman rhizobakteri juga berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) untuk meningkatkan produksi tanaman. Wijoyo (2022), melaporkan bahwa rhizobakteri dapat berfungsi sebagai biopektan, biostimulan yang memacu pertumbuhan dengan cara mengatur konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT), juga sebagai biofertilizer yang mampu melarutkan fosfat.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, belum ada yang melaporkan tentang bagaimana kemampuan rhizobakteri asal tanaman mangrove sebagai biokontrol dan agen hayati pertumbuhan tanaman, sehingga penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jenis rhizobakteri asal tanaman mangrove Tanjung Pilawang, Desa Gura, Kabupaten Halmahera Utara, sebagai biokontrol dan agen hayati tanaman.

METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Agustus 2023. Pengambilan sampel tanah dilakukan di lokasi mangrove Tanjung Pilawang, Desa Gura, Kabupaten Halmahera Utara. Isolasi dan karakterisasi dilakukan di Laboratorium MIPA Terpadu, Universitas Halmahera, dan Identifikasi Isolat dilakukan di Laboratorium ICBB PT. Biodiversitas Bioteknologi Indonesia Bogor.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu erlenmeyer, jarum ose, spatula, bunsen, mikropipet, batang L, petridish, tabung reaksi, rak tabung, *autoclaf*, oven, timbangan analitik, *hot plate*, *laminar air flow*, gelas beaker, *vortex*, kamera, alat tulis, dan *box sample*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu sampel tanah *rhizosfer* mangrove, air suling, alkohol 70%, NaCl 0,9%, media *Nutrient Agar* (NA), *Pikovskaya*, *Potato Dekstrose Agar* (PDA), *Blood Agar*, *Nutrient Brot* (NB), *reagen Salkowski*, dan cendawan patogen.



Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Pengambilan Sampel

Penentuan titik pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling* dengan cara terlebih dahulu menentukan 5 titik pengambilan sampel secara *zig zag* di lokasi *sampling*. Sampel tanah diambil sebanyak 100 g dari 5 titik sampel, kemudian di homogenkan menggunakan metode *composite sampling* (Maatoke & Oktovianus, 2023).

Isolasi Rhizobakteri

Isolasi rhizobakteri menggunakan teknik pengenceran bertingkat dengan metode sebar (*spread method*). Sampel tanah diambil sebanyak 10 g ditimbang dan dimasukan ke dalam erlenmeyer berisi 90 ml akuades dan dikocok menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Suspensi kemudian diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml NaCl 0,9 % (10^{-1}) dan dihomogenkan. Suspensi diambil sebanyak 1 ml pada perlakuan yang sama terhadap masing-masing faktor pengenceran dari 10^{-2} sampai 10^{-7} (Maatoke & Oktovianus, 2023). Cairan suspensi diambil sebanyak 0,1 ml pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} untuk ditumbuhkan ke dalam media NA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam, perlakuan ini dilakukan dengan empat kali ulangan.

Seleksi Rhizobakteri

Seleksi rhizobakteri dilakukan dengan menggunakan metode uji hemolisis dan uji daya hambat terhadap cendawan patogen. Uji hemolisis dilakukan untuk mengetahui rhizobakteri yang berpotensi patogen terhadap mamalia dengan mengkultivasi apakah rhizobakteri tersebut memiliki aktifitas *hemolitik*. Media yang digunakan untuk melihat aktifitas *hemolitik* adalah media *Blood Agar* dengan campuran darah domba 5% dan setelah ditumbuhkan isolat diinkubasi selama 1-3 hari pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan terhadap reaksi hemolisis yang terjadi dengan adanya pembentukan *clear zone* di sekitar rhizobakteri (Yuniawati & Akhdiya, 2021). Daya hambat rhizobakteri terhadap pertumbuhan cendawan patogen dilakukan secara *in-vitro* dengan menggunakan metode biakan ganda (*dual culture*) pada media PDA. Cendawan yang digunakan adalah *Colletotricum* sp., yang berasal dari koleksi Lab MIPA Terpadu, Universitas Halmahera. Cendawan ditumbuhkan di dalam cawan petri berisi media PDA dengan jarak 3 cm dari tepi cawan dan kultur diinkubasi dalam suhu ruang selama 48 jam. Masing-masing isolat rhizobakteri digoreskan memanjang dengan jarak 3 cm dari tepi cawan berlawanan arah dengan letak cendawan patogen yang telah ditumbuhkan sebelumnya. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan *clear zone* (zona antibiosis) di antara kedua isolat.

Karakterisasi Potensi Rhizobakteri

Karakterisasi potensi rhizobakteri dilakukan dengan 3 pengujian, yaitu pengamatan morfologi rhizobakteri, uji pewarnaan gram, dan uji kualitatif kemampuan melarutkan fosfat. Uji kualitatif kemampuan melarutkan fosfat dilakukan menggunakan media selektif *pikovskaya agar*, setelah media disterilkan dengan *autoclave*, kemudian media dituangkan ke dalam cawan petri hingga membeku. Setelah membeku, isolat bakteri berumur 24 jam di tumbuhkan dengan mengambil biakan sebanyak 1 jarum ose pada media NA dan diinkubasi pada



suhu ruang selama 48 jam. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan zona bening di sekitar isolat. Adanya zona bening menunjukkan kemampuan isolat dalam melarutkan fosfat (Istiqomah *et al.*, 2017). Perhitungan terhadap Indeks Pelarut Fosfat (IPF) dengan menggunakan rumus menurut Ningsih *et al.* (2022).

$$\text{Indeks Pelarutan Fosfat} = \frac{\text{Diameter Koloni} + \text{Zona Bening}}{\text{Diameter Koloni}}$$

Identifikasi Rhizobakteri

Identifikasi dilakukan terhadap isolat yang berpotensi sebagai *biocontrol* dan agen hayati pertumbuhan tanaman dengan menggunakan uji molekuler amplifikasi gen 16S rRNA, elektroforesis DNA, dan skuensing DNA gen 16S rRNA. Metode isolasi DNA berdasarkan Rau (2018), yang telah dimodifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Rhizobakteri

Sampel tanah yang dibawa dari lokasi pengambilan sampel dihomogenkan, kemudian dilakukan analisis tahap pertama, yaitu tahap isolasi. Isolasi rhizobakteri dilakukan menggunakan teknik pengenceran bertingkat dengan 4 kali ulangan. Sebanyak 10 g tanah *rhizosfer* dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer berisi 90 ml air destilasi dan dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 15 menit. Suspensi yang diperoleh diambil sebanyak 1 mL, kemudian diencerkan menggunakan seri pengenceran hingga pengenceran 10^{-7} menggunakan vorteks. Pada seri pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} , suspensi diambil sebanyak 0,1 mL dan ditumbuhkan pada media NA, semua isolat yang tumbuh diambil berdasarkan perbedaan warna dan tekstur dari isolat tersebut. Data hasil isolasi disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Isolasi Rhizobakteri Mangrove Tanjung Pilawang.

No.	Tingkat Pengenceran	Jumlah Isolat
1	10^{-4}	4
2	10^{-5}	6
3	10^{-6}	2
4	10^{-7}	3
Total		15

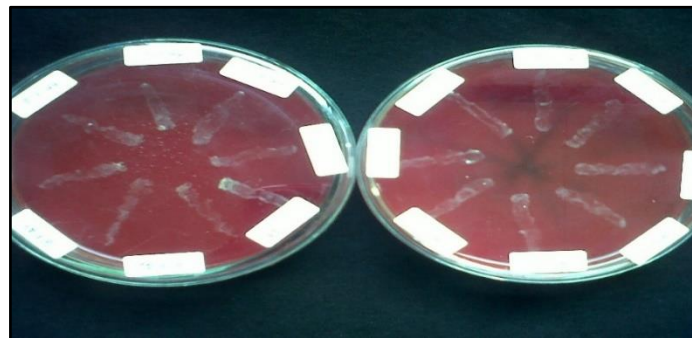
Total jumlah isolat yang didapatkan dari hasil isolasi sebanyak 15 isolat. Isolat-isolat tersebut kemudian dimurnikan untuk mengamati *singel coloni* yang terbentuk dari tahap pemurnian. Pemurnian dilakukan menggunakan metode cawan gores, dimana biakan murni diambil dan digoreskan untuk mendapatkan satu sel tunggal dengan prinsip spesies individu yang dipisahkan merupakan satu koloni tunggal yang tampak pada cawan setelah diinkubasi, sehingga mendapatkan jenis yang berbeda dilihat dari morfologi mikroba tersebut (Rosmania & Yanti, 2020; Oktavia & Pujiyanto, 2018).

Seleksi Rhizobakteri

Uji Hemolisis

Uji hemolisis merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengamati kemampuan bakteri dalam menginduksi hemolisis apabila ditumbuhkan pada *agar*

darah (*blood agar*). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui patogenitas rizobakteri terhadap mamalia, terbentuknya zona bening di sekitar isolat yang ditumbuhkan merupakan indikasi bahwa bakteri tersebut adalah bakteri patogen. Hasil pengujian menunjukkan adanya reaksi dari setiap isolat terhadap media *agar* darah (*blood agar*), dari 15 isolat yang diuji menunjukkan reaksi negative (-) atau tidak membentuk zona bening terhadap media *blood agar*, sehingga 15 isolat tersebut merupakan isolat yang terseleksi dari pengujian ini dan selanjutnya dilakukan pengujian selanjutnya. Gambar 1 menunjukkan hasil pengujian isolate menggunakan media *blood agar*.



Gambar 1. Hasil Uji Hemolisis Isolat Rhizobakteri.

Hemolisin merupakan zat toksin yang dikeluarkan oleh bakteri untuk membentuk suatu zona di sekeliling koloni bakteri yang ditumbuhkan ke media *blood agar* (Rahim & Baderan, 2017). Aktivitas ini terjadi dikarenakan bakteri memiliki hubungan korelasi terhadap faktor virulensi bakteri tersebut (Boriollo *et al.*, 2017). Hal ini berhubungan dengan aktivitas proteolitik yang berperan sebagai faktor virulensi dan protease yang berperan penting dalam proses-proses patologi (Asril & Leksikowati, 2019)

Uji Daya Hambat Pertumbuhan Patogen

Uji daya hambat rizobakteri terhadap cendawan patogen dilakukan untuk mendapatkan isolat yang berpotensi sebagai agen biokontrol penyakit tanaman. Dalam percobaan ini yang digunakan sebagai model adalah cendawan *Colletotrichum capsici*, cendawan ini merupakan patogen yang menyebabkan penyakit antraknosa pada tanaman cabai. Dari 15 isolat terpilih, hasil pengujian menunjukkan 11 isolat mempunyai daya hambat terhadap *Colletotrichum capsici* secara *in-vitro*. Menurut Amaria *et al.* (2019), proses antagonis mikroba dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen terjadi melalui kompetisi, antibiosis maupun parasitisme tidak secara langsung melalui mekanisme induksi ketahanan terhadap penyakit tanaman.



Gambar 2. Pengujian Daya Hambat Pertumbuhan.

Karakterisasi Rhizobakteri Potensial

Tahapan karakterisasi isolat rhizobakteri dilakukan dalam beberapa pengujian meliputi:

Pengamatan Morfologi Rhizobakteri

Morfologi koloni bakteri yang tumbuh dibedakan berdasarkan bentuk koloni, tepi koloni, elevasi koloni, tekstur koloni, warna koloni, dan ukuran koloni. Data hasil pengamatan terhadap morfologi rhizobakteri disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Morfologi Koloni Rhizobakteri Mangrove Tanjung Pilawang.

No.	Kode Isolat	Bentuk (Shape)	Margin (Tepi)	Elevasi	Tekstur	Pigmen (Warna)	Ukuran (Size)
1	RTM 01	Filamentous	Filamentous	Umbonate	Rough	Cream	Small
2	RTM 02	Circular	Pulvinate	Convex	Smooth	White	Small
3	RTM 03	Circular	Undulate	Convex	Rough	White	Moderate
4	RTM 04	Irregular	Lobate	Umbonate	Rough	White	Large
5	RTM 05	Irregular	Undulate	Convex	Rough	Yellow	Small
6	RTM 06	Filamentous	Filamentous	Umbonate	Rough	Yellow	Small
7	RTM 07	Filamentous	Filamentous	Pulvinate	Rough	Yellow	Small
8	RTM 08	Irregular	Curled	Umbonate	Rough	Yellow	Moderate
9	RTM 09	Irregular	Curled	Convex	Smooth	White	Large
10	RTM 10	Irregular	Curled	Umbonate	Rough	Yellow	Large
11	RTM 11	Filamentous	Rhizoid	Pulvinate	Smooth	Cream	Moderate

Karakterisasi morfologi rhizobakteri dilakukan dengan pengamatan langsung, teknik ini membutuhkan tingkat keakuratan yang tinggi untuk memperoleh identitas mikroba yang tepat. Menurut Fibriana *et al.* (2017), menyebutkan bahwa ketepatan identitas mikroba berperan penting dalam aplikasi mikroba tersebut, baik dalam ilmu klinis, patologi tanaman, bioteknologi, dan studi lingkungan.

Uji Pewarnaan Gram

Penentuan sifat gram bakteri diuji dengan pewarnaan gram. Koloni bakteri diambil secara aseptis menggunakan jarum ose dan dioleskan merata di atas gelas objek yang telah ditetesi akuades. Kemudian difiksasi di atas lampu bunsen, selanjutnya ditetesi dengan larutan *crystal violet* selama 1 menit. Larutan *crystal violet* dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya sediaan bakteri ditetesi dengan larutan iodine selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Untuk menghilangkan zat warna ditambahkan alkohol selama 30 detik dengan memiringkan gelas objek. Terakhir ditetesi larutan safranin sekitar



15 detik untuk membedakan lebih jelas reaksi tipe gram bakteri. Bakteri gram positif akan menunjukkan warna biru kehitaman pekat, karena menangkap warna *crystal violet* sebaliknya bakteri gram negatif akan berwarna merah. Tabel 3 menjelaskan data hasil pewarnaan gram isolat rhizobakteri.

Tabel 3. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Rhizobakteri Mangrove Tanjung Pilawang.

No.	Kode Isolat	Bentuk Sel	Warna	Gram
1	RTM 01	Coccus	Merah	Negatif
2	RTM 02	Coccus	Merah	Negatif
3	RTM 03	Coccus	Merah	Negatif
4	RTM 04	Coccus	Merah	Negatif
5	RTM 05	Basil	Ungu	Positif
6	RTM 06	Coccus	Merah	Negatif
7	RTM 07	Diplo Basil	Merah	Negatif
8	RTM 08	Basil	Merah	Negatif
9	RTM 09	Basil	Merah	Negatif
10	RTM 10	Basil	Merah	Positif
11	RTM 11	Coccus	Merah	Negatif

Menurut Atmodjo *et al.* (2023), basil adalah morfologi sel dari bakteri yang berbentuk batang atau silinder. Bentuk basil ini merupakan salah satu bentuk dari 3 morfologi bakteri yang ada pada sel prokariot (basil, kokus, dan spiral). Terdapat 3 jenis bentuk pada morfologi basil, yaitu *monobacillus* yang merupakan bakteri berbentuk batang tunggal, *diplobacillus* yang merupakan bakteri berbentuk batang yang tersusun berpasangan, dan *streptobacillus* yang merupakan bakteri berbentuk batang yang tersusun seperti rantai.

Uji Fosfatase

Uji kualitatif dilaksanakan menggunakan media selektif *pikovskaya* padat dengan komposisi media sebagai berikut glukosa 10g; NaCl 0,2 g; (NH₄)₂SO₄ 0,5 g; KCl 0,2 g; MgSO₄·7H₂O 0,1 g; MnSO₄ 0,005 g; FeSO₄ 0,005 g; Yeast Ekstrak 0,5 g; Agar 20 g; dan sumber fosfat Ca₃(PO₄)₂ atau AlPO₄ sebanyak 5g. Semua bahan dilarutkan dalam 1 L aquades pada wadah *erlenmeyer*, dipanaskan dan diaduk hingga homogen, kemudian disterilasi dengan *autoclave* suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Media *pikovskaya* steril kemudian dituangkan ke cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Setelah media padat isolat rhizobakteri ditumbuhkan pada masing-masing cawan petri, dengan menggunakan metode gores secara perlahan sebanyak 2-3 kali (Zulkifli *et al.*, 2020). Isolat ditumbuhkan pada suhu ruang untuk mengetahui pelarutan yang terjadi. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 10 hari masa inkubasi, kemudian menghitung Indeks Pelarutan (IP) dengan rumus menurut Karpagam & Nagalakshmi (2014).

$$\text{Indeks Pelarutan Fosfat} = \frac{\text{Diameter Koloni} + \text{Zona Bening}}{\text{Diameter Koloni}}$$

Tabel 4. Hasil Uji Fosfatase.

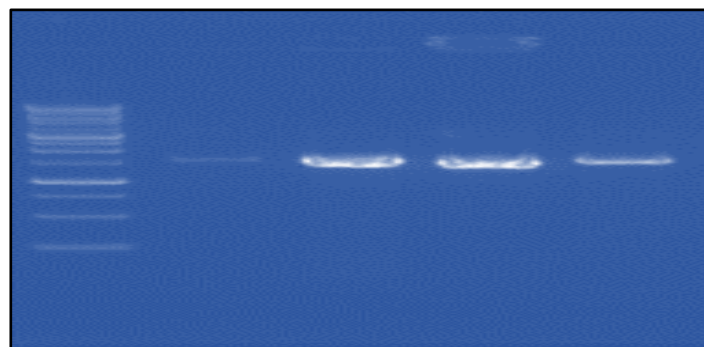
No.	Kode Isolat	Diameter Koloni (DK) (mm)	Zona Bening (ZB) (mm)	Indeks Pelarutan Fosfat (IPF) (mm)
1	RTM 01	1.54	0.21	1.75
2	RTM 02	1.33	0.16	1.12
3	RTM 03	2.50	0.74	1.3

No.	Kode Isolat	Diameter Koloni (DK) (mm)	Zona Bening (ZB) (mm)	Indeks Pelarutan Fosfat (IPF) (mm)
4	RTM 04	1.86	1.14	1.61
5	RTM 05	1.68	0.52	1.31
6	RTM 06	0.72	0.65	1.91
7	RTM 07	0.97	0.61	1.63
8	RTM 08	0.85	0.57	1.67
9	RTM 09	1.84	0.91	1.49
10	RTM 10	0.20	0.37	2.85
11	RTM 11	1.38	0.34	1.25

Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks pelarutan fosfat isolat RTM 10 sebesar 2,85 mm lebih besar dari yang lainnya, disusul dengan isolat RTM 06 dan RTM 01 sebesar 1,91 mm dan 1,75 mm. Katalisis reaksi mineralisasi hidrolitik secara enzimatik terjadi karena adanya pelepasan fosfat tidak terlarut menjadi terlarut. Pembentukan zona bening disekelilingi koloni pada media *pikovskaya* terjadi dikarenakan turunnya pH pada media (Paul & Sinha, 2017).

Identifikasi Rhizobakteri

Berdasarkan hasil pensejajaran BLAST pada data base NCBI terhadap sekuen 16S ribosomal RNA gen yang dilakukan untuk dua isolat terpilih yaitu isolat RTM10 dan isolat RTM08. Hasil amplifikasi fragmen DNA berukuran sekitar 1500 bp disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Fragmen DNA Hasil Amplifikasi dengan PCR pada Isolat.

Data hasil sekuensing kemudian dianalisis menggunakan piranti FASTA dari EMBL (*European Molecular Biology Laboratory*) pada situs www.ebi.ac.uk. Hasil skuensing isolat RTM10 memiliki kemiripan terdekat 100% dengan *Bacillus subtilis* dan isolat RTM06 memiliki kemiripan terdekat sebesar 99% dengan *Pseudomonas* sp. Menurut Sudrajat *et al.* (2014), genus *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. memiliki kemampuan yang paling besar dalam melarutkan fosfat yang tidak larut menjadi bentuk terlarut di dalam tanah.

SIMPULAN

Rhizobakteri yang berhasil diisolasi dari tanah mangrove Tanjung Pilawang sebesar 11 isolat, dari 11 isolat tersebut terdapat dua isolat yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan cendawan patogen *Colletotricum capsici* dan mampu dalam melarutkan fosfat, dimana masing-masing isolat mampu memberikan nilai Indeks Pelarutan tertinggi sebesar 2,85 mm dan 1,91



mm. Setelah dilakukan identifikasi kedua isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* (RTM 10) dan *Pseudomonas* sp. (RTM 06), sehingga kedua bakteri tersebut berpotensi sebagai biokontrol dan agen hayati pertumbuhan tanaman.

SARAN

Isolat rhizobakteri yang berpotensi sebagai biokontrol dan agen hayati pertumbuhan tanaman disarankan untuk diuji lanjut dengan mengaplikasikan ke tanaman untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman dan ketahanan tanaman terhadap penyakit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan penelitian yang didanai oleh Kemendikbudristek melalui Program Hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) pendanaan tahun 2023, kepadanya kami mengucapkan terima kasih.

DAFTAR RUJUKAN

- Agustiyani, D. (2016). Penapisan dan Karakterisasi Rhizobakteria serta Uji Aktivitasnya dalam Mendukung Perkecambahan dan Pertumbuhan Benih Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(2), 241-248. <https://doi.org/10.14203/jbi.v12i2.2890>
- Amaria, W., Kasim, N. N., & Munif, A. (2019). Kelimpahan Populasi Bakteri Filosfer, Rizosfer, dan Endofit Tanaman Kemiri Sunan (*Reutealis trisperma* (Blanco) Airy Shaw), Serta Potensinya sebagai Agens Biokontrol. *Journal Tabaro Agriculture Science*, 3(1), 305-317. <http://dx.doi.org/10.35914/tabaro.v3i1.200>
- Andana, D. S., Jannah, H., & Safnowandi, S. (2023). Pemanfaatan Bintil Akar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) sebagai Pupuk Biologi untuk Pertumbuhan Bibit Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) dalam Upaya Penyusunan Petunjuk Praktikum Fisiologi Tumbuhan II. *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi*, 3(1), 1-10. <https://doi.org/10.36312/bjkb.v3i1.145>
- Annura, R.P., Syamsuddin., & Halimursyadah. (2021). Karakterisasi Rizobakteri sebagai Agens Biokontrol serta Uji In Vitro terhadap Patogen *Fusarium oxysporum* F.Sp.Lycopersici (Sacc.) Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum*) dan Perannya sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman. *Jurnal Agrista*, 25(2), 50-59.
- Asril, M., & Leksikowati, S. S. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Asal Limbah Cair Tahu sebagai Dasar Penentuan Agen Pembuatan Biofertilizer. *Elkawanie : Journal of Islamic Science and Technology*, 5(2), 86-99. <http://dx.doi.org/10.22373/ekw.v5i2.4356>
- Atmodjo, S. S., Yasin., Erwin., Hidayat, M., Sari, D. A., Tuba, S., Erwin., Rumondor, R., Siregar, S., Effendi., Anwar, I. F., & Muttaqin, M. (2023). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Makassar: PT. Masagena Mandiri Medica.
- Boriollo M. F. G., Netto, M. F. R., Silva, J. J. d., & Dias, C. D. S. (2017). Performance Evaluation of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Genotypes and Taxa on Human and Animal Blood Agar Culture Media.



- African Journal of Microbiology Research*, 11(21), 860-887.
<https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8129>
- Fibriana, F., Amalia, A V., & Mubarak, I. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Penghasil Pigmen dari Limbah Kulit Kentang. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 40(1), 7-13.
<https://doi.org/10.15294/ijmns.v40i1.12456>
- Israwan, R. F., Ardyati, T., & Suharjono. (2015). Exploration Non-Symbiotic Nitrogen Fixing Bacteria Produced IAA (Indole Acetic Acid) and Phosphate Solubilization from Apple™ S Tree Rhizosphere in Batu, East Java. *Biotropika : Journal of Tropical Biology*, 3(2), 55-59.
- Istiqomah., Aini, L. Q., & Abadi, A. L. (2017). Kemampuan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* dalam Melarutkan Fosfat dan Memproduksi Hormon IAA (Indole Acetic Acid) untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Tomat. *Buana Sains*, 17(1), 75-84.
<https://doi.org/10.33366/bs.v17i1.580>
- Karpagam, T., & Nagalakshmi, P. K. (2014). Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural Soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 601-614.
- Maatoke, C. D., & Oktovianus. (2023). Potensi Rhizobakteri Tanaman Jahe Merah (*Zingiber officinale* Linn. Var Rubrum) di Kabupaten Halmahera Utara sebagai Agen Pemacu Pertumbuhan Tanaman. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 145-161.
<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i1.7047>
- Ningsih, Y., Zulkifli, L., & Mahrus, M. (2022). Isolation of Endophytic Bacteria from Cashew Root and its Ability as Phosphate Solubilizing and IAA-Producing Bacteria. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(3), 732-739.
<https://doi.org/10.29303/jbt.v22i3.3652>
- Oktavia, N., & Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*, 1(1), 6-12.
- Paul, D., & Sinha, S. N. (2017). Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with Antibacterial Potential from River Ganga, India. *Annals of Agrarian Science*, 15(1), 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2016.10.001>
- Rahim, S., & Baderan, D. W. (2017). *Hutan Mangrove dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta: Deepublish.
- Rau, C. H. (2018). Isolasi, Identifikasi secara Molekuler Menggunakan Gen 16s rRNA, dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Simbion Endofit yang Diisolasi dari Alga *Halimeda opuntia*. *Pharmakon*, 7(2), 53-61.
<https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.19509>
- Rosmania., & Yanti, F. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86.
<https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.564>
- Sari, H. P., Warnita., & Dwipa, I. (2020). Peran Isolat Rhizobakteria dan Zat Penghambat Tumbuh dalam Pembentukan dan Pertumbuhan Akar



-
- Tanaman Kentang. *Ekasakti : Jurnal Penelitian & Pengabdian*, 1(1), 85-96. <https://doi.org/10.31933/ejpp.v1i1.170>
- Sudrajat, D., Mulyana, N., & Adhari, A. (2014). Seleksi Mikroba Rizosfer Lokal untuk Bahan Bioaktif pada Inokulan Berbasis Kompos Iradiasi. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 10(1), 23-34. <http://dx.doi.org/10.17146/jair.2014.10.1.2730>
- Wijoyo, K. A. (2022). Penyuluhan Aplikasi PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Akar Bambu pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) di Desa Rambipuji Kecamatan Rambipuji Kabupaten Jember. *Disertasi*. Politeknik Pembangunan Pertanian Malang.
- Yuniawati, R., & Akhdiya, A. (2021). Karakterisasi Isolat Bakteri Endofit Nilam (*Pogostemon cablin* B.) sebagai Kandidat Biostimulan Pertumbuhan Tanaman. *Buletin Plasma Nutfah*, 27(1), 21-28. <https://doi.org/10.21082/blpn.v27n1.2021.p21-28>
- Zulkifli, L., Sedijani, P., Rasmi, D. A. C., & Amrullah, L. W. Z. (2020). Screening and Molecular Identification of Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria from Mangrove Ecosystem of the Lombok Island. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(3), 475-484. <https://doi.org/10.29303/jbt.v20i3.1730>