

SELEKSI DAN PENGUJIAN ISOLAT BAKTERI MANGROVE PADA FERMENTASI TERENDAM JERAMI DAN SEKAM PADI

Nana Mulyana^{1,2)}, Tri Retno Dyah Larasati¹⁾, Ernawati Sinaga²⁾, Tarso Rudiana³⁾, dan Dwi Aufa³⁾

¹⁾ Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jl. Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta 12440, pair@batan.go.id

²⁾ Program Pascasarjana Biologi, Sekolah Pascasarjana Universitas Nasional, Jl. Harsono RM No.1, Ragunan, Pasar Minggu, Jakarta 12550, info@unas.ac.id

³⁾ Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah, Jl. Ir. H. Juanda No. 95 Ciputat, Kota Tangerang Selatan, Banten 15412, kimia@uinjkt.ac.id

Article history

Received : 23 Juli 2021

Revised : 14 Oktober 2021

Accepted : 4 Desember 2021

*Corresponding author

Nana Mulyana

Email : nanamulyana@batan.go.id

Abstrak

Pengembalian residu biomassa tanaman ke lahan pertanian memerlukan upaya yang dapat meningkatkan ketersediaan nitrogen dan fosfor terlarut untuk pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri rizosfer mangrove yang sesuai untuk meningkatkan NH_4^+ dan P terlarut dalam medium fermentasi terendam jerami dan sekam padi. Pada isolasi dan seleksi bakteri rizosfer *Sonneratia alba* dan *Rhizopora stylosa* diperoleh 2 isolat bakteri (SB33, SB36) pemfiksasi N dan pelarut P. Hasil menunjukkan bahwa isolat bakteri SB33 dan SB36 dapat digunakan untuk meningkatkan NH_4^+ dan P terlarut di dalam medium fermentasi terendam jerami dan sekam padi. Setelah 2 hari fermentasi terendam, isolat SB33 dan SB36 mampu mengakumulasi NH_4^+ sekitar 2200 dan 2036 $\mu\text{g/ml}$ di dalam medium jerami padi dan sekitar 3273 dan 2091 $\mu\text{g/ml}$ di dalam medium sekam padi. Akumulasi P larut yang optimum di dalam medium jerami padi sekitar 1136 dan 889 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan di dalam medium sekam padi sekitar 1076 dan 465 $\mu\text{g/ml}$ diperoleh pada 4 hari setelah fermentasi terendam dengan isolat SB33 dan SB36. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi solusi dalam penyediaan nutrisi N dan P berbasis jerami dan sekam padi untuk mendukung pertanian berkelanjutan di daerah pesisir.

Kata Kunci : isolat bakteri; mangrove; fermentasi terendam; jerami dan sekam padi

Abstract

*Returning plant biomass residues to agricultural land requires efforts that can increase the availability of dissolved nitrogen and phosphorus for plant growth. This study aims to obtain a suitable mangrove rhizosphere bacterial isolate to increase NH_4^+ and soluble P in medium of submerged fermentation of rice straw and husk. In the isolation and selection of rhizosphere bacteria of *Sonneratia alba* and *Rhizopora stylosa*, were obtained 2 bacterial isolates (SB33, SB36) of N-fixing and P solubilizing. The results showed that the bacterial isolates of SB33 and SB36 able to be used to increase NH_4^+ and soluble P in the medium of submerged fermentation of rice straw and husk. After 2 days of submerged fermentation, the isolates of SB33 and SB36 were able to accumulate NH_4^+ about of 2200 and 2036 $\mu\text{g/ml}$ in rice straw medium and about of 3273 and 2091 $\mu\text{g/ml}$ in rice husk medium. The optimum accumulation of soluble P in rice straw medium was about of 1136 and 889 $\mu\text{g/ml}$ while in rice husk medium about of 1076 and 465 $\mu\text{g/ml}$ were obtained at 4 days after submerged fermentation by SB33 and SB36 isolates. This research is expected to be a solution in providing N and P nutrition based on rice straw and husks to support sustainable agriculture in coastal areas.*

Keywords : bacterial isolates; mangrove; submerged fermentation; rice straw and husk

PENDAHULUAN

Mangrove merupakan bagian penting dari keragaman hayati pantai yang menempati kurang dari 1% dari permukaan dunia (Tam, 2017). Mangrove di Asia Selatan dan Tenggara membentuk sistem mangrove paling luas dan beragam yang terdiri dari sekitar 41,4% dari hutan mangrove global (Tam, 2017). Hutan mangrove tidak hanya memberikan manfaat sosial ekonomi tetapi juga memberikan perlindungan terhadap bencana alam dan memfasilitasi pembentukan tanah dengan menjebak sedimen (Tam, 2017). Hutan mangrove memiliki keragaman hayati yang berperan penting dalam siklus nutrisi termasuk bakteri pemfiksasi nitrogen dan pelarut fosfor dalam kompleksitas ekosistemnya. Di dalam ekosistem mangrove, tingginya tingkat fiksasi nitrogen terkait dengan dekomposisi seresah dan tanah rizosfer (Tam, 2017). Sumber karbon tersebut dengan unsur lainnya seperti nitrogen dan forfor melalui proses fotosintesa akan menghasilkan jaringan tumbuhan yang menjadi makanan hewan dalam ekosistem mangrove (Yahya et al., 2014). Kompleksitas ekosistem mangrove berpotensi menyimpan beragam bakteri pemfiksasi nitrogen dan pelarut fosfor yang mampu tumbuh baik dan memiliki toleransi yang tinggi terhadap faktor lingkungan (Subagiyo et al., 2017).

Nitrogen dan fosfor merupakan makro nutrisi sangat penting pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Nitrogen adalah nutrisi paling penting dan menempati posisi kebutuhan tertinggi dalam nutrisi tanaman dibandingkan nutrisi penting lain (Nosrati et al., 2014). Kekurangan nitrogen dapat membatasi peningkatan produktivitas tanaman (Kifle & Laing, 2016). Total kandungan nitrogen (N) tanah pucuk (*top soils*) sekitar 0,05 – 0,20% dan hanya sekitar 5% dari total N sebagai nitrat (NO_3^{2-}) dan amonium (NH_4^+) yang langsung tersedia untuk tanaman (Nosrati et al., 2014). Nitrogen tersedia untuk tanaman dapat ditingkatkan melalui fiksasi N_2 atmosferik oleh bakteri di daerah perakaran tanaman (rizosfer). Fosfor (P) juga merupakan nutrisi makro utama penting untuk pertumbuhan dan terlibat dalam

proses metabolisme tanaman seperti transfer energi dan fotosintesis (Joe et al., 2018). Total kandungan fosfor tanah pucuk sekitar 400 – 1200 mg/g tetapi sebagian besar terkekang dalam bentuk senyawa organik dan anorganik sehingga hanya sekitar 1 mg/kg P dalam bentuk fosfat terlarut HPO_4^{2-} atau H_2PO_4^- yang tersedia untuk pertumbuhan tanaman (Nosrati et al., 2014). Bakteri pelarut fosfor memainkan peran penting dalam melepaskan P anorganik dan organik dari tanah melalui pelarutan dan mineralisasi (Sanjotha & Manawadi, 2016). Penggunaan mikroorganisme tanah yang mampu memfiksasi nitrogen atmosfer, melarutkan fosfor dan mensintesa zat pemacu pertumbuhan tanaman dapat menjadi pendekatan lingkungan yang baik untuk pengelolaan nutrisi dan fungsi ekosistem (Yu et al., 2017; Hindersah et al., 2018).

Pendekatan lingkungan juga dapat dilakukan melalui pengelolaan residu biomassa tanaman seperti jerami dan sekam padi. Di negara-negara Asia, padi merupakan salah satu tanaman serealia yang paling banyak ditanam dengan tingkat produksi sangat besar yang menyebabkan banyaknya limbah lignoselulosa sekam dan jerami padi (Wu et al., 2018; Omidvar et al., 2016). Hanya sekitar 20% dari jerami padi yang digunakan untuk keperluan industri (etanol, kertas, pupuk) dan domestik (pakan ternak) (Oladosu et al, 2016). Sebagian besar jerami padi tersisa digunakan sebagai mulsa, dibajak untuk menambah nutrisi dalam tanah atau bakar (Oladosu et al, 2016). Sekam padi sering digunakan sebagai sumber panas untuk pembangkit listrik, pembuatan batu bata atau bahan bakar industri yang lain. Pembakaran jerami dan sekam padi dapat menyebabkan pencemaran lingkungan karena emisi CO_2 ke udara (Nachaiwieng et al, 2015; Oladosu et al, 2016).

Pengembalian residu biomassa tanaman ke lahan pertanian memerlukan upaya yang dapat meningkatkan ketersediaan nitrogen dan fosfor terlarut untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pada penelitian ini, peningkatan ketersediaan nitrogen dan fosfor terlarut dari substrat jerami dan sekam padi dilakukan melalui fermentasi terendam dengan isolat

bakteri rizosfer mangrove. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi solusi alternatif dalam memanfaatkan jerami dan sekam padi untuk mengurangi emisi CO₂ karena pembakaran dan berpotensi mendukung pengembangan pertanian berkelanjutan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat mikroorganisme rizosfer mangrove yang secara alamiah mampu beradaptasi di lahan pesisir. Isolasi dan seleksi mikroorganisme rizosfer mangrove difokuskan untuk memperoleh bakteri rizosfer dengan kemampuan fiksasi N dan pelarut fosfor yang baik. Isolat bakteri mangrove yang diperoleh diharapkan dapat digunakan pada penyediaan nutrisi N dan P berbasis jerami dan sekam padi untuk mendukung pertanian berkelanjutan di daerah pesisir.

METODE

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan meliputi sampel sedimen rizosfer *Sonneratia alba* dan *Rhizopora stylosa* dari Teluk Hurun (Pesawaran, Lampung), jerami dan sekam padi varietas Ciherang dari lahan pembibitan padi unggul di Patrol (Indramayu, Jawa Barat), strain kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma reesei* dari kultur koleksi di Kelompok Lingkungan Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR-BATAN), *potatoes dextrose broth* (PDB), *potatoes dextrose agar* (PDA), *yeast extract*, *bacterial peptone*, NaCl, HCl, HNO₃, NaOH, *dinitrosalisilic acids* (DNS), larutan Nesler, ammonium molybdat, ammonium meta vanadat, etanol, buffer Tris-EDTA, yeast extract, glukosa, KH₂PO₄, NaCl, K₂HPO₄, Na₂SO₄, CaCl₂, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄, ZnSO₄, NH₄Cl, Fe₂SO₄.7H₂O, NaMo₄.2H₂O, MgCl₂, Ca₃(PO₄)₂, KCl, 0,1 (NH₄)₂SO₄, manitol, K₂SO₄, CaCO₃, agar, molase dan akuades.

Peralatan yang digunakan terdiri dari mesin pencacah (*chopper*), mesin penepung (*cutting mill*), timbangan analitik (Acculab), inkubator (Heraeus), *air bath* (Adams), Heraeus oven (*Fisher Isotemp Oven*), autoclave (Wiseclave), pH meter (Pcstestr 35), *sentrifuge* (Hitachi

Himac CR 21G II), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi), laminar air flow (LK 180), GC-FID (Shimatzu), oven, tanur, shaker mekanis (Edmund Buhler SM 25), kertas saring Whatman, *hot plate*, *micropipette*, *microtube*, cawan petri, bunsen, cawan porselein dan peralatan gelas.

Pengambilan Sampel

Sampel sedimen yang mengikuti sistem akar dikumpulkan dari rizosfer *Sonneratia alba* dan *Rhizopora stylosa* yang di sekitar Teluk Hurun (S 05°30.950, E 105°15.048) di Lampung, Indonesia (Gambar 1). Pengambilan sampel tanah rizosfer ini dilakukan pada 5 Maret 2019. Sampel tanah rizosfer dikumpulkan dengan spatula steril dan disimpan dalam kantong plastik steril (Tam, 2017; Sanjotha & Manawadi, 2016).



Gambar 1. Lokasi Isolasi Mikroorganisme Rizosfer Mangrove di Teluk Hurun, Lampung

Isolasi dan Penapisan Bakteri Rizosfer

Sampel tanah rizosfer sebanyak 10 g ditimbang secara aseptik dan dipindahkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml larutan 2% NaCl steril kemudian dikocok dalam shaker mekanis pada 100 rpm selama 60 menit (Tam, 2017; Sanjotha & Manawadi, 2016; Dewi et al., 2017). Sebanyak 100 µl diencerkan sampai 10⁻⁷ dan semua hasil pengenceran dituang-sebarkan pada permukaan medium agar Burk's (N free) untuk isolasi bakteri pemfiksasi nitrogen dan medium agar NBRIP (*National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium*) untuk isolasi bakteri pelarut fosfor [1,7]. Medium agar Burk's mengandung 10 g/l glukosa, 0,41 g/l KH₂PO₄, 0,52 g/l K₂HPO₄, 0,05 g/l Na₂SO₄, 0,2 g CaCl₂, 0,1 g/l MgSO₄.7H₂O, 0,05 Fe₂SO₄.7H₂O, 0,0025 g/l NaMo₄.2H₂O dan 20 g/l agar. Medium agar NBRIP mengandung 10 g/l glukosa, 5 g/l MgCl₂,

5 g/l $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 0,25 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g/l KCl, 0,1 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan 20 g/l agar. Kultur tuang-sebar diinkubasi pada 30 °C selama 3-4 hari. Metode tuang-sebar pada kedua jenis medium agar tersebut terus dilakukan sampai diperoleh koloni tunggal kemudian dipindahkan ke medium agar baru untuk pengujian dan penyimpanan.

Isolat bakteri pemfiksasi nitrogen diuji secara kualitatif dalam medium *N-free semi-solids* Dobreiner (Kifle & Laing, 2016). Satu ose koloni tunggal isolat dipindahkan ke permukaan medium Dobreiner yang mengandung 20 g/l manitol, 0,2 g/l K_2HPO_4 , 0,2 g/l NaCl, 0,2 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,1 g/l K_2SO_4 , 5 g/l CaCO_3 dan 5 g/l agar kemudian diinkubasi pada 30° C selama 4 hari. Pada uji kuantitatif fiksasi nitrogen, 1 ose koloni tunggal isolat diinokulasikan ke dalam 25 ml medium cair Burk's dan diinkubasi dalam shaker 100 rpm pada 28-32 °C selama 72 jam. Akumulasi NH_4^+ di dalam medium Burk's mengindikasikan kemampuan isolat bakteri dalam memfiksasi nitrogen.

Isolat bakteri pelarut fosfor diuji secara kualitatif dan kuantitatif dalam medium agar dan cair NBRP. Satu ose koloni tunggal isolat dipindahkan ke permukaan medium agar NBRIP kemudian diinkubasi pada 30° C selama 4 hari. Pada uji kuantitatif pelarut fosfor, 1 ose koloni tunggal isolat diinokulasikan ke dalam 25 ml medium cair NBRIP dan diinkubasi dalam shaker 100 rpm pada 28-32 °C selama 72 jam. Akumulasi fosfor (P) terlarut di dalam medium NBRIP mengindikasikan kemampuan isolat bakteri dalam melarutkan fosfor dari $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Preparasi Jerami dan Sekam Padi

Jerami dan sekam padi dipotong-potong dengan mesin pencacah (*chopper*) dan dihaluskan dengan mesin penepung (*cutting mill*) kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 72 jam. Substrat dibagi ke dalam empat perlakuan awal yang berbeda, terdiri dari A = penambahan akuades (kontrol), B = penambahan larutan 1 N NaOH, C = penambahan larutan 1N NaOH dan fermentasi padat dengan kapang *P.chrysosporium*, dan D

= penambahan larutan 1N NaOH dan fermentasi padat dengan kapang *T.reesei*. Kultur cair kapang *P.chrysosporium* atau *T.reesei* yang diinokulasikan ke dalam medium sekitar 2% (v/b) dengan kerapatan masing-masing sekitar 10^7 cfu/ml. Fermentasi padat dilakukan pada pH sekitar 7, suhu ruang sekitar 28-32 °C selama 7 hari. Semua substrat dikeringkan kembali dalam oven pada 60 °C selama 72 jam.

Orientasi Medium Fermentasi Terendam

Komposisi larutan nutrisi garam mineral untuk fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi dimodifikasi dari medium Burk's (M1) dan NBRIP (M2) yang terdiri dari M3, M4 dan M5. Medium M3 mengandung 10 g/l glukosa, 0,41 g/l KH_2PO_4 , 0,52 g/l K_2HPO_4 dan 0,25 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Medium M4 = M3 tanpa glukosa sedangkan medium M5 = M4 mengandung 20 g/l molase. Ke dalam medium cair M1, M2, M3, M4 dan M5, ditambahkan 50 g/l substrat jerami dan sekam padi tanpa perlakuan awal (A) kemudian dilakukan pengaturan pH 7 dengan larutan 1N NaOH atau 1N HCl. Semua medium disterilkan dengan *autoclave* pada 121 °C selama 15 menit dan didinginkan. Sebanyak 500 µl kultur cair isolat bakteri terpilih (SB33, SB36) diinokulasikan ke dalam medium fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi kemudian diinkubasi dalam shaker pada 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32 °C selama 72 jam. Medium cair yang terpilih digunakan pada fermentasi terendam 50 g/l substrat jerami dan sekam padi hasil perlakuan awal secara kimia dan biologi (substrat A, B, C, D). Setelah 72 jam fermentasi terendam, dapat diketahui perlakuan awal substrat dengan akumulasi NH_4^+ dan P terlarut yang optimum. Substrat dengan perlakuan awal terbaik digunakan pada orientasi jumlah substrat dan waktu fermentasi terendam. Orientasi jumlah substrat terdiri dari 25, 50, 75 dan 100 g/l medium cair dengan waktu fermentasi terendam selama 72 jam. Perlakuan jumlah substrat dengan akumulasi NH_4^+ dan P terlarut yang optimum, digunakan pada penentuan waktu fermentasi terendam dengan variasi 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 hari.

Analisis Sampel dan Data Statistik

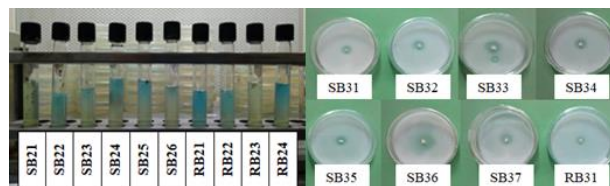
Parameter pengamatan sampel meliputi pH, viabilitas kapang, kadar air dan bahan organik, kadar glukosa, NH_4^+ dan P terlarut. Nilai pH sampel ditentukan dengan pH meter digital. Viabilitas kapang ditentukan dengan metode tuang sebar. Ke dalam 1 g sampel ditambahkan 10 ml larutan 0,85% NaCl dan dikocok dalam shaker pada 100 rpm selama 60 menit. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^7 kali dengan larutan 0,85% NaCl kemudian dituang-sebarkan pada permukaan medium *Potatoes Dextrose Agar (PDA)* dan diinkubasi pada 30 °C selama 2-4 hari. Kadar air dan bahan organik ditentukan secara gravimetri pada suhu 105 °C dan 575-650 °C. Kadar glukosa ditentukan dengan metode DNS (Miller, 1959). Ke dalam 1 g sampel ditambahkan 10 ml akuades dan dikocok dengan shaker pada 100 rpm selama 60 menit. Sebanyak 1 ml supernatan dipindahkan ke dalam mikrotube dan disentrifugasi pada 12000 rpm selama 10 menit. Ke dalam 500 μl supernatant jernih ditambahkan 500 μl larutan DNS dan dipanaskan pada 100 °C selama 3-5 menit, didinginkan dan ditambahkan 3 ml akuades kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa dengan spektrofotometer pada $\lambda = 540 \text{ nm}$. Kadar NH_4^+ ditentukan dengan metode Nesler (1956). Sebanyak 250 μl supernatan sampel dan 750 μl akuades dimasukkan kedalam *microtube* kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 12000 rpm. Sebanyak 500 μl supernatan jernih dan 50 μl larutan Nesler ke dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan ditambahkan 4,5 ml akuades. Pengukuran kadar NH_4^+ dengan spektrofotometer pada $\lambda = 425 \text{ nm}$. Kadar P terlarut ditentukan dengan metode yang dikembangkan oleh Subha Rao (1993). Sebanyak 500 μl supernatan sampel dan 500 μl dimasukkan kedalam *microtube* disentrifugasi pada 12000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 500 μl supernatant jernih dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan 1 ml 2N HNO_3 kemudian ditambahkan 500 μl larutan AB (ammonium molybdat dan ammonium meta vanadat dengan perbandingan 1:1) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.

Setelah diinkubasi, kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 ml akuades dan dilakukan pengukuran kadar P terlarut menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 430$. Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pada SPSS versi 20.0 dengan batas kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Seleksi Mikroba Mangrove

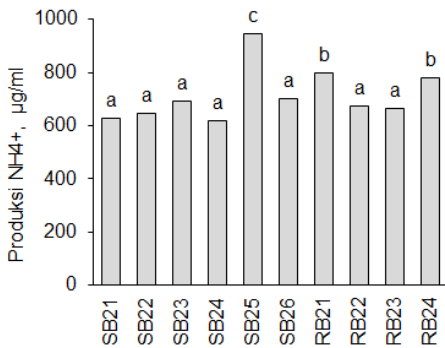
Pada isolasi dan penapisan bakteri rizosfer *Sonneratia alba* (SB) dan *Rhizopora stylosa* (RB) dengan medium Burk's diperoleh 10 koloni tunggal terdiri dari SB21, SB22, SB23, SB24, SB25, SB26, RB21, RB22, RB23 dan RB24. Koloni bakteri tunggal yang diperoleh pada isolasi dan penapisan dengan medium NBRIP sebanyak 8 isolat terdiri dari SB31, SB32, SB33, SB34, SB35, SB36, SB37 dan RB31 seperti disajikan pada Gambar 2.



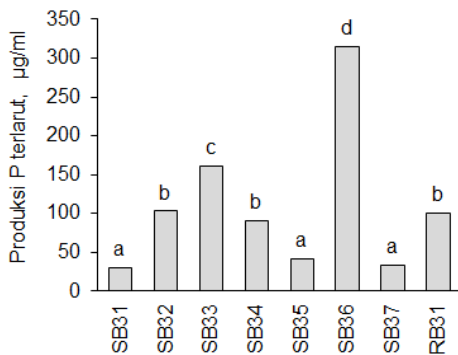
Gambar 2. Uji Kualitatif Isolat Bakteri Pemfiksasi N dalam Medium Dobreiners dan Pelarut P dalam Medium NBRIP

Kemampuan 10 isolat bakteri hasil uji kualitatif fiksasi N (medium Dobreiner) dan 8 isolat bakteri pelarut fosfor (medium agar NBRIP) dipindahkan kedalam medium TSA (*Tryptone Soya Agar*) dan NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi pada 30 °C selama 3-4 hari. Semua kultur isolat digunakan pada pengujian kuantitatif fiksasi N dalam medium cair Burk's dan NBRIP. Pengujian dilakukan dalam shaker 100 rpm pada 28-32 °C selama 72 jam. Kemampuan setiap isolat pemfiksasi N terindikasi dari akumulasi/produksi amonium (NH_4^+) di dalam medium Burk's (N-free medium) sedangkan pelarut fosfor terindikasi dari akumulasi/produksi P terlarut dalam medium NBRIP seperti disajikan pada Gambar 3 dan 4. Produksi amonium (NH_4^+) optimum

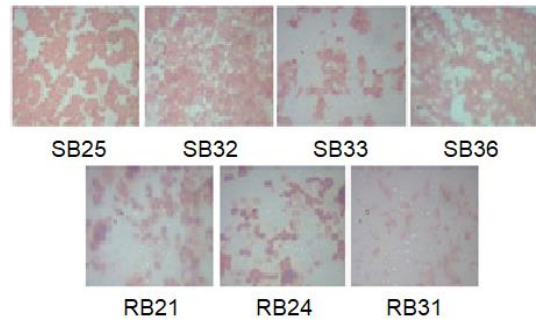
diperoleh pada medium dengan isolat RB24, RB21 dan SB25 masing-masing sebesar 782, 800 dan 945 µg/ml. Produksi P terlarut yang optimum diperoleh pada medium dengan isolat RB31, SB32, SB33 dan SB36 masing-masing sebesar 100, 103, 161 dan 315 µg/ml. Tampilan visual dari 3 isolat bakteri pemfiksasi N dan 4 isolat bakteri pelarut P disajikan pada Gambar 5.



Gambar 3. Kemampuan Isolat Bakteri Rizosfer Tanaman *Sonneratia alba* (SB) dan *Rhizopora stylosa* (RB) dalam Medium Burk's



Gambar 4. Kemampuan Isolat Bakteri Rizosfer Tanaman *Sonneratia alba* (SB) dan *Rhizopora stylosa* (RB) dalam medium NBRIP



Gambar 5. Tampak Visual Isolat Bakteri Rizosfer Tanaman *Sonneratia alba* (SB) dan *Rhizopora stylosa* (RB) hasil seleksi dalam medium Burk's (N Free) dan NBRIP (Perbesaran 400x)

Ketujuh isolat yang terdiri dari 3 (tiga) isolat hasil uji kuantitatif fiksasi N dan 4 (empat) hasil uji kuantitatif pelarut P diuji kembali di dalam campuran medium Burk's dan NBRIP tanpa (NH₄)₂SO₄ untuk memilih isolat bakteri dengan kemampuan ganda. Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat SB33 dan SB36 memiliki kemampuan ganda yang optimum dalam memfiksasi N dan melarutkan fosfor. Isolat SB33 mampu memproduksi amonium (NH₄⁺) 1809,09 µg/ml dan P terlarut 242,42 µg/ml sedangkan isolat SB36 mampu memproduksi amonium (NH₄⁺) 1190,91 µg/ml dan P terlarut 454,55 µg/ml. Dengan demikian, isolat SB33 dan SB36 dipilih sebagai kandidat bakteri rizosfer mangrove dengan kemampuan ganda sebagai pemfiksasi N dan pelarut P yang potensial.

Tabel 1. Produksi NH₄⁺ dan P terlarut oleh beberapa isolat bakteri mangrove di dalam campuran medium Burk's dan NBRIP tanpa (NH₄)₂SO₄

No	Isolat	Produksi NH ₄ ⁺	Produksi P terlarut
		µg/ml	
1	SB25	1163,64 ^c	181,82 ^c
2	SB32	400,00 ^a	90,91 ^b
3	SB33	1809,09 ^d	242,42 ^d
4	SB36	1190,91 ^c	454,55 ^e
5	RB21	854,55 ^b	106,06 ^b
6	RB24	381,82 ^a	30,30 ^a
7	RB31	563,64 ^a	181,82 ^c

Potensi isolat bakteri rizosfer mangrove terseleksi SB33 dan SB36 dievaluasi dalam medium fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi untuk produksi amonium (NH_4^+) dan P terlarut. Medium Burk's (M1) dan NBRIP (M2) digunakan sebagai kontrol pemanfaatan substrat lignoselulosa. Tabel 2 dan 3 menunjukkan bahwa jenis medium berpengaruh terhadap kemampuan isolat bakteri rizosfer mangrove SB33 dan SB36 dalam mengakumulasi amonium (NH_4^+) dan P terlarut. Produksi amonium (NH_4^+) oleh isolat SB33 dan SB36 yang optimum diperoleh dalam medium M5J sekitar 1827,27 dan 1281,82 $\mu\text{g/ml}$ serta dalam medium M5S sekitar 972,73 dan 1254,55 $\mu\text{g/ml}$. Produksi P terlarut oleh isolat SB33 yang optimum diperoleh dalam medium M5J dan M5S sekitar 90,91 dan 75,76 $\mu\text{g/ml}$. Produksi P terlarut oleh isolat SB36 yang optimum diperoleh dalam medium M2, M3J, M5J dan M5S sekitar 303,03, 166,67, 128,79 dan 128,79 $\mu\text{g/ml}$. Dengan demikian, M5J dan M5S dipilih sebagai medium untuk produksi NH_4^+ dan P terlarut.

Tabel 2. Produksi NH_4^+ pada optimasi medium fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi dengan kandidat bakteri rizosfer mangrove SB33 dan SB36

No	Medium	SB33	SB36
1	M1	281,82 ^{bc}	945,45 ^c
2	M2	245,45 ^b	263,64 ^b
3	M3J	572,73 ^d	200,00 ^{ab}
4	M3S	409,09 ^c	1018,18 ^c
5	M4J	63,64 ^a	145,45 ^b
6	M4S	9,09 ^a	72,73 ^a
7	M5J	1827,27 ^f	1281,82 ^d
8	M5S	972,73 ^e	1254,55 ^d

Keterangan : M1 = medium Burk's, M2 = medium NBRIP, M3 = M1 + M2 (tanpa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), M4 = M3 tanpa $\text{Ca}_3(\text{HPO})_4$, MgCl , glukosa, *trace element*, M5 = M4 + molase (20 g/l), J = substrat jerami padi dan S = substrat sekam padi

Tabel 3. Produksi P terlarut pada optimasi medium fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi

dengan kandidat bakteri rizosfer mangrove SB33 dan SB36

No	Medium	SB33	SB36
1	M1	45,45 ^b	60,61 ^{ab}
2	M2	60,61 ^{bc}	303,03 ^e
3	M3J	7,58 ^a	166,67 ^d
4	M3S	7,58 ^a	106,06 ^{bc}
5	M4J	53,03 ^{bc}	30,30 ^a
6	M4S	45,45 ^b	60,61 ^{ab}
7	M5J	90,91 ^d	128,79 ^{cd}
8	M5S	75,76 ^{cd}	128,79 ^{cd}

Keterangan : M1 = medium Burk's, M2 = medium NBRIP, M3 = M1 + M2 (tanpa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), M4 = M3 tanpa $\text{Ca}_3(\text{HPO})_4$, MgCl , glukosa, *trace element*, M5 = M4 + molase (20 g/l), J = substrat jerami padi dan S = substrat sekam padi

Preparasi awal substrat jerami dan sekam padi dimaksudkan untuk meningkatkan potensi produksi NH_4^+ dan P terlarut oleh isolat bakteri rizosfer mangrove SB33 dan SB36. Perlakuan awal berpengaruh terhadap beberapa parameter kualitas substrat jerami dan sekam padi seperti disajikan pada Tabel 4 dan 5. Perlakuan awal substrat jerami dan sekam padi dengan larutan 1 N NaOH berpengaruh nyata terhadap peningkatan kandungan P terlarut tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan kandungan NH_4^+ . Perlakuan awal substrat dengan larutan 1 N NaOH yang dilanjutkan dengan fermentasi padat dengan kapang *P.chrysosporium* dan *T.reesei* selama 7 hari berpengaruh nyata terhadap peningkatan kandungan NH_4^+ dan P terlarut. Hasil preparasi awal ini digunakan substrat medium fermentasi terendam untuk menentukan kesesuaian substrat sebagai medium tumbuh isolat bakteri rizosfer mangrove SB33 dan SB36.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan awal dengan NaOH dan kapang terhadap beberapa parameter kualitas substrat jerami dan sekam padi

No	Substrat dan perlakuan awal	Bahan organik, %	Glukosa, mg/g
Jerami padi :			
1	Kontrol (akuades)	74,60 ^d	6,37 ^a
2	NaOH	65,06 ^c	6,88 ^a

3	NaOH+PC	62,90 ^a	8,39 ^a
4	NaOH+TR	63,98 ^b	8,55 ^a
Sekam padi :			
5	Kontrol (akuades)	77,46 ^b	0,25 ^a
6	NaOH	65,71 ^a	0,99 ^b
7	NaOH+PC	65,37 ^a	2,81 ^c
8	NaOH+TR	65,50 ^a	6,97 ^d

Keterangan : NaOH = larutan 1N NaOH, PC = *P.chrysosporium* dan TR = *T.reesei*

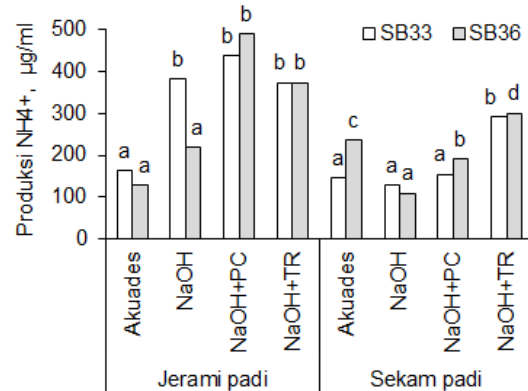
Tabel 5. Pengaruh perlakuan awal dengan NaOH dan kapang terhadap beberapa parameter kualitas substrat jerami dan sekam padi

No	Substrat dan perlakuan awal	NH ₄ ⁺ , mg/g	P terlarut, mg/g
Jerami padi :			
1	Kontrol (akuades)	2,25 ^a	1,48 ^a
2	NaOH	3,57 ^{ab}	6,53 ^d
3	NaOH+PC	3,65 ^c	5,71 ^c
4	NaOH+TR	6,08 ^d	4,73 ^b
Sekam padi :			
5	Kontrol (akuades)	0,74 ^a	0,46 ^a
6	NaOH	1,04 ^a	2,43 ^b
7	NaOH+PC	2,89 ^b	3,45 ^b
8	NaOH+TR	4,10 ^c	2,39 ^b

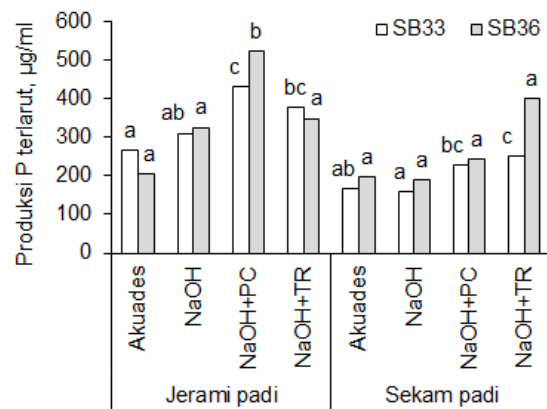
Keterangan : NaOH = larutan 1N NaOH, PC = *P.chrysosporium* dan TR = *T.reesei*

Gambar 6 dan 7 menunjukkan bahwa beberapa perlakuan awal substrat jerami dan sekam padi berpengaruh nyata terhadap peningkatan produksi NH₄⁺ dan P terlarut oleh kedua kandidat isolat bakteri rizosfer mangrove (SB33, SB36). Perlakuan awal substrat jerami padi dengan larutan 1N NaOH dan fermentasi padat dengan kapang *P.chrysosporium* sesuai untuk produksi NH₄⁺ dan P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36. Penggunaan 50 g/l substrat hasil preparasi awal tersebut sesuai untuk mengoptimalkan produksi NH₄⁺ oleh isolat SB33 dan SB36 sekitar 436,36 dan 490,91 µg/ml serta mengoptimalkan produksi P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36 sekitar 431,82 dan 522,73 µg/ml. Perlakuan awal substrat sekam padi dengan larutan 1N NaOH dan fermentasi padat dengan kapang *T.reesei* sesuai untuk produksi NH₄⁺ dan P terlarut oleh

isolat SB33 dan SB36. Penggunaan 50 g/l substrat hasil perlakuan awal tersebut sesuai untuk mengoptimalkan produksi NH₄⁺ oleh isolat SB33 dan SB36 sekitar 290,91 dan 300,00 µg/ml serta mengoptimalkan produksi P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36 sekitar 250,01 dan 401,52 µg/ml.



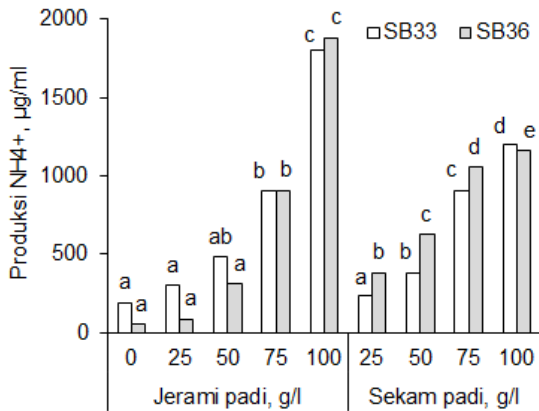
Gambar 6. Preparasi substrat yang sesuai untuk meningkatkan produksi NH₄⁺ oleh isolat SB33 dan SB36



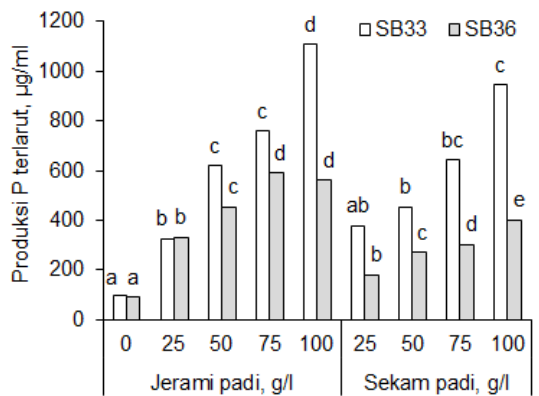
Gambar 7. Preparasi substrat yang sesuai untuk meningkatkan produksi P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36

Peningkatan jumlah substrat berpengaruh nyata terhadap produksi NH₄⁺ dan P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36 di dalam medium fermentasi terendam seperti disajikan pada Gambar 8 dan 9. Produksi NH₄⁺ dan P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36 diperoleh dalam medium fermentasi terendam dengan jumlah substrat jerami dan sekam padi sekitar 100 g/l. Fermentasi terendam 100 g/l substrat jerami

padi dengan isolat SB33 dan SB36 selama 72 jam dapat menghasilkan NH_4^+ sekitar 1799,01 dan 1880,83 $\mu\text{g/ml}$ serta menghasilkan P terlarut sekitar 1106,06 dan 560,61 $\mu\text{g/ml}$. Fermentasi terendam 100 g/l substrat sekam padi dengan isolat SB33 dan SB36 selama 72 jam dapat menghasilkan NH_4^+ sekitar 1198,89 dan 1162,53 $\mu\text{g/ml}$ serta menghasilkan P terlarut sekitar 946,97 dan 401,52 $\mu\text{g/ml}$.



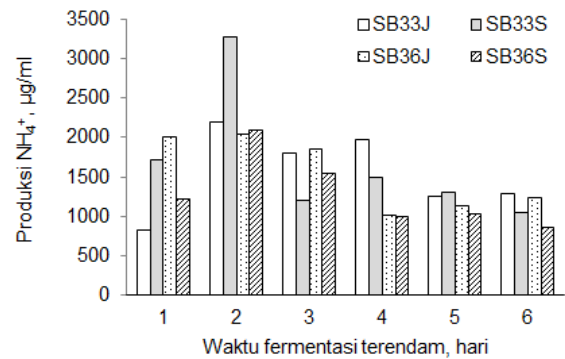
Gambar 8. Optimalisasi jumlah substrat yang sesuai untuk meningkatkan produksi NH_4^+ oleh isolat SB33 dan SB36



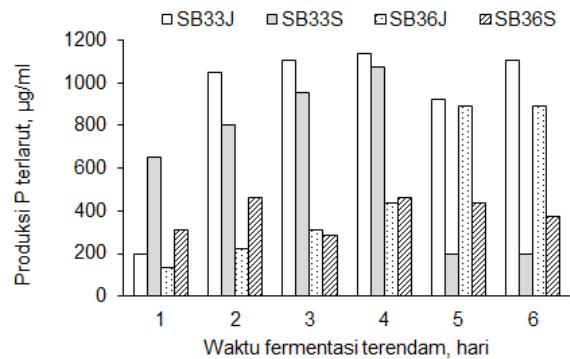
Gambar 9. Optimalisasi jumlah substrat yang sesuai untuk meningkatkan produksi P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36

Pada penggunaan substrat jerami padi (hasil preparasi awal dengan larutan $\text{NaOH} + P.chrysosporium$) atau sekam padi (hasil preparasi awal dengan larutan $\text{NaOH} + T.reesei$) sebagai medium fermentasi terendam dengan isolat bakteri rizosfer mangrove SB33 dan

SB36 diperoleh waktu optimum produksi NH_4^+ sekitar 2 hari sedangkan waktu optimum produksi P terlarut sekitar 4-5 hari seperti disajikan pada Gambar 10 dan 11. Pada 2 hari fermentasi terendam substrat jerami padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi NH_4^+ sekitar 2200 dan 2036 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan pada fermentasi terendam substrat sekam padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi NH_4^+ sekitar 3273 dan 2091 $\mu\text{g/ml}$. Pada 4 hari fermentasi terendam substrat jerami padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh P terlarut NH_4^+ sekitar 1136 dan 889 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan pada fermentasi terendam substrat sekam padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi P terlarut sekitar 1076 dan 465 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 10. Optimalisasi waktu fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi untuk produksi NH_4^+ oleh isolat SB33 dan SB36



Gambar 11. Optimalisasi waktu fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi untuk produksi P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36

Isolat SB33 dan SB36 hasil isolasi dan seleksi dari rizosfer *Sonneratia alba* sesuai untuk meningkatkan NH_4^+ dan P terlarut di dalam medium fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi. Perlakuan awal substrat dengan 1N NaOH dan fermentasi padat dengan kapang *P.chrysosporium* untuk jerami padi, dan *T.reesei* untuk sekam padi dapat mengoptimalkan kemampuan isolat SB33 dan SB36 dalam produksi NH_4^+ dan P terlarut selama 72 jam fermentasi terendam. Perbedaan jumlah substrat dari 25, 50, 75 dan 100 g/l berpengaruh terhadap peningkatan produksi NH_4^+ dan P terlarut di dalam medium fermentasi terendam. Produksi NH_4^+ yang optimum diperoleh pada 2 hari fermentasi terendam, sedangkan produksi P terlarut yang optimum diperoleh pada 4 hari fermentasi terendam oleh isolat SB33 dan SB36.

KESIMPULAN

Isolasi dan seleksi mikroorganisme asal mangrove memperoleh 2 (dua) isolat bakteri rizosfer *Sonneratia alba* (SB33, SB36) yang potensial sebagai pemfiksasi N dan pelarut P. Kedua isolat bakteri rizosfer mangrove ini berpotensi untuk digunakan pada produksi amonium (NH_4^+) dan P terlarut melalui fermentasi terendam substrat jerami dan sekam padi. Preparasi awal terbaik untuk substrat jerami padi adalah melalui pemberian larutan 1N NaOH yang dilanjutkan fermentasi padat dengan kapang *P.chrysosporium*. Preparasi awal terbaik untuk substrat sekam padi adalah melalui pemberian larutan 1N NaOH yang dilanjutkan fermentasi padat dengan kapang *T.reesei*. Kedua perlakuan ini sesuai untuk produksi NH_4^+ dan P terlarut oleh isolat SB33 dan SB36 dalam fermentasi terendam. Pada 2 hari fermentasi terendam substrat jerami padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi NH_4^+ sekitar 2200 dan 2036 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan pada fermentasi terendam substrat sekam padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi NH_4^+ sekitar 3273 dan 2091 $\mu\text{g/ml}$. Pada 4 hari fermentasi terendam substrat jerami padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi NH_4^+ sekitar 1136 dan 889 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan pada fermentasi

terendam substrat sekam padi dengan isolat SB33 dan SB36 diperoleh akumulasi NH_4^+ sekitar 1076 dan 465 $\mu\text{g/ml}$. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan pada penyediaan nutrisi N dan P berbasis jerami dan sekam padi untuk mendukung pertanian berkelanjutan di daerah pesisir.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami menghaturkan banyak terima kasih kepada Ibu Muawanah, M.Si. dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) di Lampung, atas pendampingan dan dukungan fasilitasnya selama kegiatan survei dan pengambilan sampel sedimen rizosfer *Sonneratia alba* dan *Rhizopora stylosa* di Teluk Hurun, Lampung.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, A.K., Meylina, L., dan Rusli, R. (2017). Isolasi Bakteri dari Tanah Mangrove *Rhizopora sp.* di Kota Bontang. *Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, Halaman 59-68.
- Hindersah, R., Kalay, M., Talahaturuson, A. dan Lakburlawal, Y. (2018). Bakteri Pemfiksasi Nitrogen Azotobacter sebagai Pupuk Hayati dan Pengendali Penyakit pada Tanaman Kacang Panjang. *Agric 30(1)* : 25 – 32.
- Joe, M.M., Devaraj, S., Benson, A., Henry A.J. and Narendrakumar, G.(2018). Soil extract calcium phosphate media for screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Agriculture and Natural Resources 52*: 305-308.
- Kifle, M.H. and Laing, M.D. (2016). Isolation and Screening of Bacteria for Their Diazotrophic Potential and Their Influence on Growth Promotion of Maize Seedlings in Greenhouses. *Frontiers in Plant Science 6* (1225) : 1-8.
- Miller, G.L., (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal.Chem.* 31(3): 426-428.

- Nachaiwieng, W., Lumyong, S., Pratanaphon, R., Yoshioka, K. and Khanongnuch, C. (2015). Potential in bioethanol production from various ethanol fermenting microorganisms using rice husk as substrate. *Biodiversitas* 16(2): 320-326.
- Nosrati, R., Owlia, P., Saderi, H., Rasooli, I. and Malboobu, M.A. (2014). Phosphate solubilization characteristics of efficient nitrogen fixing soil *Azotobacter* strains. *Iran. J. Microbiol* 6(4) : 285-295.
- Oladosu, Y., Rafii, M.Y., Abdullah, N., Magaji, U., Hussin, G., Ramli, A. and Miah, G. (2016). Fermentation Quality and Additives: A Case of Rice Straw Silage. *BioMed Research International* Volume 2016, Article ID 7985167, 14 pages.
- Omidvar, M., Karimi, K. and Mohammadi, M. (2016). Enhanced Ethanol and Glucosamine Production from Rice Husk by NaOH Pretreatment and Fermentation by Fungus *Mucor hiemalis*. *Biofuel Research Journal* 11: 475-481.
- Sanjotha, G. and Manawadi, S. (2016). Isolation, Screening and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Karwar Coastal Region. *International Journal of Research Studies in Microbiology and Biotechnology (IJRSMB)* 2(2) : 1-6.
- Subagiyo, M.S.R. Djarod dan Setyati, W.A. (2017). Potensi Ekosistem Mangrove Sebagai Sumber Bakteri Untuk Produksi Protease, Amilase Dan Selulase. *Jurnal Kelautan Tropis* November 20(2):106–111.
- Tam, H.T. (2017). Isolation and Characterization of Bacteria of Mangrove Rhizosphere in the Mekong Delta, Vietnam. *International Journal of Innovations in Engineering and Technology (IJIET)* 9 (1) : 68-79.
- Wu, J., Elliston, A., Legall, G., Colquhoun, I.J., Collins, S.R.A., Wood, I.P., Dicks, J., Roberts, I.N. and Waldron, K.W. (2018). Optimising conditions for bioethanol production from rice husk and rice straw: effects of pre-treatment on liquor composition and fermentation inhibitors. *Biotechnol Biofuels* 11(62): 1-13.
- Yahya, Nursyam, H., Risjani, Y. dan Soemarno. (2014). Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan* 19(1):35-42.
- Yu, S.S., Kyaw, E.P., Lynn, T., Latt, Z.K., Aung, A., Sev, T.M., Nwe M.T. and Mon, W.W. (2017). The correlation of carbon source and ammonium accumulation in culture broth by nitrogen-fixing bacterial isolates. *Journal of Scientific and Innovative Research* 6(2): 63-67.