

INTISARI

Seng (Zn) merupakan salah satu unsur hara mikro yang penting bagi pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Defisiensi Zn dapat mengganggu metabolisme, yang berujung pada terhambatnya pertumbuhan. Ketersediaan Zn yang rendah di tanah tidak hanya disebabkan oleh rendahnya konsentrasi total Zn, melainkan karena kelarutannya yang rendah. Oleh karena itu, untuk meningkatkan ketersediaan Zn bagi tanaman, dapat memanfaatkan mikroorganisme tanah, terutama bakteri, yang memiliki kemampuan mengubah Zn yang tidak larut menjadi bentuk yang mudah diserap oleh tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, serta mengidentifikasi bakteri pelarut Zn (ZSB) dari rhizosfer padi dan mengkaji pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman. Sampel diperoleh dari lahan sawah sedimen rawa di Kroya, Cilacap, dan sawah irigasi di Jatilawang, Banyumas, Jawa Tengah. Dari 20 isolat yang diperoleh, hanya tiga yang mampu melarutkan Zn tidak larut dari ZnO, ZnCO₃, dan ZnS dalam medium *Mineral Salt Medium* (MSM). Aktivitas pelarutan tertinggi (202,28 mg/L) ditunjukkan isolat K2O1 pada medium ZnO, sedangkan pelarutan terendah (<0,004 mg/L) terjadi pada medium ZnS. Ketiga isolat juga memiliki sifat pemacu pertumbuhan tanaman (PGP) berupa produksi IAA (0,15–0,69 mg/L), penambatan nitrogen (1,69–3,38 mg/L), dan pelarutan fosfat (4,6–11,21 mg/L). Uji pot menunjukkan bahwa isolat K2O1 dan J1O5 menunjukkan pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan padi dan meningkatkan serapan Zn hingga 57,22 mg/tanaman dan 53,10 mg/tanaman. Tiga isolat ZSB potensial berdasarkan analisis sekuen 16RS rDNA menunjukkan bahwa isolat K2O1 merupakan anggota spesies *P. aeruginosa*. Isolat J1O5 dan J1O7 termasuk anggota spesies *Metapseudomonas otitidis*. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga isolat berpotensi sebagai kandidat bioinokulan untuk mengatasi defisiensi Zn dan mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia.

Kata kunci : *Bakteri pelarut Zn, identifikasi, isolasi, pelarutan Zn, pertumbuhan tanaman padi*

ABSTRAK

Zinc (Zn) is one of the micro nutrients that is important for plant growth and productivity. Zn deficiency can disrupt metabolism, resulting in stunted growth. Low Zn availability in the soil is not only caused by low total Zn concentration, but also due to its low solubility. Therefore, to increase Zn availability for plants, soil microorganisms, especially bacteria, can be utilized for their ability to convert insoluble Zn into a form that is easily absorbed by plants. This study aimed to isolate, characterize, and identify zinc-solubilizing bacteria (ZSB) from the rice rhizosphere and to evaluate their effects on plant growth. Samples were collected from paddy fields in the swampy sediments of Kroya, Cilacap, and irrigated rice fields in Jatilawang, Banyumas, Central Java. Out of 20 isolates obtained, only three were able to solubilize insoluble Zn from ZnO, ZnCO₃, and ZnS in Mineral Salt Medium (MSM). The highest solubilization activity (202.28 mg/L) was observed in isolate K2O1 grown in ZnO medium, while the lowest (<0.004 mg/L) occurred in ZnS medium. In addition, the three isolates also exhibited plant growth-promoting (PGP) traits, including the production of IAA (0.15–0.69 mg/L), nitrogen fixation (1.69–3.38 mg/L), and phosphate solubilization (4.6–11.21 mg/L). Pot experiments demonstrated that isolates K2O1 and J1O5 had a significant effect on rice growth and enhanced Zn uptake up to 57.22 mg/plant and 53.10 mg/plant, respectively. Based on 16S rDNA sequence analysis, isolate K2O1 was identified as a member of *Pseudomonas aeruginosa*, while isolates J1O5 and J1O7 were classified as *Metapseudomonas otitidis*. These findings indicate that the three isolates have strong potential as bioinoculant candidates to alleviate Zn deficiency and reduce dependence on chemical fertilizers.

Keywords: *Identification, isolation, rice plant growth, Zn solubilization, Zn-solubilizing bacteria,*

RINGKASAN

Seng (Zn) merupakan salah satu unsur hara mikro esensial yang berperan penting dalam pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Defisiensi Zn dapat mengganggu metabolisme tanaman sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan. Kendala ketersediaan Zn pada tanaman tidak hanya disebabkan oleh rendahnya konsentrasi total Zn, melainkan karena rendahnya kelarutan Zn di dalam tanah. Oleh karena itu, salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan mikroorganisme tanah, terutama bakteri, untuk mengubah bentuk Zn yang tidak larut menjadi Zn yang larut, sehingga meningkatkan ketersediaan dan kemampuan tanaman untuk menyerapnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi kemampuan pelarutan Zn, produksi IAA, penambatan Nitrogen, pelarutan fosfat, dan mengidentifikasi bakteri pelarut Zn (ZSB) dari rhizosfer tanaman padi serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman padi.

Penelitian ini terdiri dari tiga sub penelitian. Sub penelitian pertama meliputi isolasi dan uji kemampuan bakteri pelarut Zn yang dilakukan menggunakan metode survey. Sampel diperoleh dari tanah rhizosfer padi di Jatilawang (Banyumas) dan Kroya (Cilacap) secara *purposive random sampling*. Isolasi bakteri dilakukan melalui pengenceran berseri dan pour plate pada medium MSM termodifikasi, dilanjutkan dengan uji pelarutan Zn, produksi IAA, penambatan nitrogen, dan pelarutan fosfat. Sub penelitian kedua pengujian isolat bakteri terpilih terhadap pertumbuhan bibit padi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal, terdiri atas 8 perlakuan (1 kontrol dan 7 isolat) dengan 4 ulangan, total 32 unit percobaan. Sub penelitian ke tiga identifikasi isolat bakteri pelarut Zn terpilih menggunakan metode fenotip dan molekuler. Metode fenotip meliputi karakterisasi morfologi, biokimia dan fisiologis dari isolat bakteri serta identifikasi secara molekuler menggunakan metode sequencing gen 16S rRNA.

Hasil isolasi bakteri kandidat bakteri pelarut Zn (*Zinc Solubilizing Bacteria* /ZSB) dari rhizosfer padi menggunakan medium selektif MSM (*Mineral salt medium*) dengan modifikasi Zn didapatkan 20 isolat bakteri. Dari 20 isolat bakteri

pelarut Zn yang diisolasi, hanya tiga isolat (K2O1, J1O5, J1O7) mampu melarutkan ketiga bentuk Zn (ZnO , ZnCO_3 , ZnS) pada medium MSM termodifikasi. Uji kualitatif dengan *plate assay* menunjukkan pembentukan zona bening, sedangkan uji kuantitatif pada medium cair menunjukkan bahwa pelarutan Zn tertinggi untuk ZnO (202,28 mg/L) dan ZnCO_3 (34,41 mg/L) diperoleh dari isolat K2O1, sedangkan untuk ZnS tertinggi pada isolat J1O5 (2,83 mg/L). Pelarutan disertai penurunan pH (terendah 3,2) hal ini mengindikasikan peran produksi asam organik dan ekstrusi proton dalam proses pelarutan. Mekanisme utama pelarutan melibatkan produksi berbagai asam organik (asam glukonat, 2-ketoglukonat, 5-ketoglukonat, pentanoat) yang meningkatkan ketersediaan hayati Zn di lingkungan (Bapiri *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2020; Othman *et al.*, 2022).

Bakteri pelarut Zn terpilih (isolat K2O1, J1O5, dan J1O7) pada penelitian ini tidak hanya memiliki kemampuan melarutkan Zn, tetapi juga menunjukkan karakteristik penting sebagai *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR) melalui tiga mekanisme fisiologis utama, yaitu produksi IAA, penambatan nitrogen, dan pelarutan fosfat. Kemampuan menghasilkan IAA pada ketiga isolat berkisar antara 0,15–0,69 mg/L, dengan isolat J1O5 menunjukkan produksi tertinggi. IAA berperan merangsang pembelahan dan pemanjangan sel, terutama pada jaringan akar, sehingga meningkatkan luas permukaan akar dan kapasitas penyerapan hara (Patil, 2011; Nuraini *et al.*, 2020). Variasi kemampuan produksi IAA antar isolat diduga disebabkan oleh perbedaan spesies, kondisi fisiologis bakteri, serta ketersediaan prekursor L-triptofan (Wulandari *et al.*, 2020).

Ketiga isolat mampu menambat nitrogen bebas, ditunjukkan dengan perubahan warna medium NFB dari hijau menjadi biru akibat aktivitas enzim nitrogenase (Baldani *et al.*, 2014). Penambatan nitrogen menghasilkan amonium (NH_4^+) yang dapat langsung dimanfaatkan oleh tanaman. Isolat J1O7 memiliki kemampuan penambatan tertinggi (3,38 mg/L), sedangkan isolat K2O1 dan J1O5 relatif sama (1,69 mg/L). Perbedaan kemampuan ini dipengaruhi oleh kapasitas enzim nitrogenase, laju pertumbuhan, dan adaptasi terhadap kondisi lingkungan (Yin *et al.*, 2015). Nitrogen yang tersedia dari aktivitas bakteri sangat penting dalam merangsang pertumbuhan vegetatif, sintesis protein, dan pembentukan klorofil

tanaman (Maatoke dan Oktovianus, 2023). Ketiga isolat juga menunjukkan kemampuan melarutkan fosfat tidak larut. Isolat K2O1 menempati posisi tertinggi baik secara kualitatif (Indeks Pelarutan/IP 4,77) maupun kuantitatif (11,21 mg/L fosfat terlarut), diikuti J1O7, sedangkan J1O5 terendah. Pelarutan fosfat umumnya dipengaruhi oleh kemampuan bakteri menghasilkan asam organik yang dapat mengkelat kation pengikat fosfat seperti Ca^{2+} , sehingga melepaskan fosfat menjadi bentuk yang dapat diserap tanaman (Chen dan Liu, 2019).

Uji hipersensitivitas menggunakan daun tembakau menunjukkan bahwa isolat K2O1, J1O5, dan J1O7 tidak menimbulkan gejala nekrosis setelah 48 jam, sehingga dikategorikan bukan bakteri patogen dan aman digunakan sebagai inokulan. Uji sinergisme yang dilakukan untuk melihat interaksi antar isolat menunjukkan bahwa ketiga isolat tidak membentuk zona hambat, menandakan adanya interaksi positif. Ketiga isolat dapat digunakan secara bersama dalam bentuk konsorsium untuk perlakuan bioassay.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi isolat bakteri pelarut seng (Zn) asal rhizosfer padi berpengaruh nyata terhadap beberapa parameter pertumbuhan tanaman, meliputi berat kering tanaman, kandungan klorofil daun, serapan Zn, dan kolonisasi bakteri pada akar, namun tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap tinggi tanaman dan panjang akar. Pada parameter tinggi tanaman dan panjang akar, hasil analisis ANOVA menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan. Tinggi tanaman tertinggi diperoleh pada perlakuan kombinasi isolat K2O1, J1O5, dan J1O7 (T7), namun perbedaannya tidak signifikan. Hal ini disebabkan oleh keterbatasan ketersediaan unsur hara makro, khususnya nitrogen, selama percobaan, sehingga meskipun bakteri berpotensi meningkatkan ketersediaan Zn dan menghasilkan fitohormon, pertumbuhan batang dan akar tetap dipengaruhi oleh faktor nutrisi (Rahmi dan Jumiati, 2007; Nizar *et al.*, 2021).

Kandungan klorofil daun tanaman padi meningkat signifikan pada perlakuan bakteri pelarut Zn, dengan nilai tertinggi dicapai pada konsorsium isolat J1O5 + J1O7 (T6) sebesar 41,61 mg/L. Peningkatan ini dikaitkan dengan peran Zn sebagai kofaktor enzim ALA-dehidratase dalam jalur biosintesis tetrapirrol, prekursor utama klorofil (Waghmare dan Gadre, 2018). Peningkatan kadar klorofil selaras

dengan peningkatan berat kering tanaman. Perlakuan dengan isolat K2O1 (T1) menghasilkan berat kering tanaman tertinggi 5,27 g, diikuti kombinasi isolat K2O1 + J1O5 (T4) sebesar 5,0 g. Serapan Zn tertinggi diperoleh pada perlakuan T1 (57,22 mg/tanaman) dan T2 (53,10 mg/tanaman). Kedua perlakuan juga menunjukkan kolonisasi akar yang tinggi, mengindikasikan adanya hubungan erat antara keberhasilan kolonisasi dan efisiensi penyerapan hara. Perlakuan dengan isolat J1O5 (T2) menghasilkan kolonisasi tertinggi, yaitu $7,40 \times 10^7$ CFU/g akar. Tingginya populasi bakteri di zona perakaran dapat meningkatkan interaksi rhizosfer yang mendukung penyerapan hara, termasuk Zn (Hänsch dan Mendel, 2009).

Berdasarkan hasil karakterisasi secara fenotip menunjukkan bahwa isolat K2O1 memiliki kemiripan karakteristik dengan spesies *Pseudomonas aeruginosa* (Holt, 1977), serta isolat J1O5 dan J1O7 memiliki kemiripan karakteristik dengan spesies *Pseudomonas otitidis* (Clark *et al.*, 2006). Rudra dan Gupta, (2023) menyatakan bahwa terdapat perubahan nomenklatur dari *Pseudomonas otitidis* menjadi *Metapseudomonas otitidis*. Hasil analisis filogenetik Jarak genetik antara isolat K2O1 dengan *Pseudomonas aeruginosa*, yaitu 100. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat K2O1 merupakan anggota spesies *P. aeruginosa*. Isolat J1O5 dan J1O7 termasuk anggota spesies *Metapseudomonas otitidis* karena memiliki jarak genetik 100.

Sebanyak 20 isolat bakteri pelarut Zn dapat diisolasi, hanya tiga isolat (K2O1, J1O5, J1O7) mampu melarutkan ketiga bentuk Zn (ZnO , ZnCO_3 , ZnS) pada medium MSM termodifikasi. Pelarutan Zn tertinggi isolat K2O1 pada medium yang mengandung ZnO , sedangkan pada ZnS menunjukkan pelarutan Zn terendah. Ketiga isolat bakteri pelarut Zn terpilih memiliki sifat-sifat pemacu pertumbuhan tanaman, termasuk kemampuan fiksasi nitrogen, produksi asam asetat indol (IAA), dan pelarutan fosfat. Inokulasi dengan isolat bakteri pelarut Zn secara tunggal maupun kombinasi meningkatkan pertumbuhan bibit padi dan meningkatkan populasi bakteri di rhizosfer padi. Identitas isolat bakteri pelarut Zn potensial berdasarkan analisis sekuen 16S rRNA diidentifikasi sebagai *Pseudomonas aeruginosa* strain ECAe24 dan *Metapseudomonas otitidis* strain FG413.