

## Keanekaragaman dan Potensi Bakteri Rhizosfer Penambat Nitrogen pada Tanaman Jewawut (*Setaria italica* L.) sebagai Kandidat Biofertilizer dalam Pertanian Berkelanjutan

(Diversity and Potential of Nitrogen-Fixing Rhizosphere Bacteria Associated with Foxtail Millet (*Setaria italica* L.) as Candidates for Biofertilizers in Sustainable Agriculture)

Yusril<sup>1\*</sup>, Nurmuliayanti Muis<sup>2</sup>, Masyitha Wahid<sup>3</sup>, Arlinda Puspita Sari<sup>4</sup>

<sup>1\*</sup>Mahasiswa Prodi Pendidikan Biologi, Universitas Sulaewesi Barat, Indonesia

<sup>2,3</sup>Prodi Pendidikan Biologi, Universitas Sulaewesi Barat, Indonesia

<sup>4</sup>Prodi Bioteknologi, Universitas Sulaewesi Barat, Indonesia

### ARTICLE INFO

Article history:

Received August 1, 2024;

Revision in revised from September 1, 2024;

Accepted September 10, 2024;

Available Online September 30, 2024.

### KEYWORDS :

Rhizosphere bacteria;

Nitrogen fixation;

*Setaria italica*;

Biofertilizer;

16S rRNA gene.

### ABSTRACT

Foxtail millet (*Setaria italica* L.) is a potential cereal crop that can be developed as an alternative food source. Rhizosphere microorganisms, particularly nitrogen-fixing bacteria, play an important role in improving soil fertility through nitrogen fixation and the production of plant growth hormones. However, information regarding the potential of rhizosphere bacteria associated with foxtail millet in West Sulawesi remains limited. This study aimed to isolate, select, and identify nitrogen-fixing rhizosphere bacteria associated with foxtail millet and to evaluate their potential as biofertilizer candidates. Bacterial isolation was conducted using a serial dilution method on selective Jensen medium, followed by colony morphology characterization and Gram staining. Selected isolates were further tested for their nitrogen-fixing ability and their capacity to produce plant growth hormones, including indole-3-acetic acid (IAA) and gibberellin (GA<sub>3</sub>). Molecular identification was performed using 16S rRNA gene analysis. The results showed that 31 bacterial isolates were successfully obtained from the rhizosphere of foxtail millet, of which 10 isolates were selected based on morphological characteristics. Five isolates demonstrated nitrogen-fixing ability, while three of the best isolates were capable of producing both IAA and gibberellin. Molecular analysis revealed that the best-performing isolates showed high similarity to *Bacillus toyonensis* and *Bacillus cereus*. These findings indicate that rhizosphere bacteria associated with foxtail millet have significant potential as biofertilizer candidates to support sustainable agriculture.



Copyright (c) 2024 @author(s).

## 1. PENDAHULUAN

Jewawut (*Setaria italica* L.) merupakan salah satu tanaman serealia yang termasuk dalam kelompok rumput-rumputan dan mampu tumbuh baik pada berbagai kondisi lingkungan, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi. Tanaman ini telah lama dibudidayakan di berbagai negara, khususnya di wilayah Afrika dan beberapa negara di Asia. Di Indonesia, jewawut memiliki keanekaragaman dan sebaran yang cukup luas dengan berbagai varietas lokal yang berkembang di beberapa daerah (Ramadhani, 2023). Beberapa wilayah yang diketahui menjadikan jewawut sebagai sumber pangan lokal antara lain Kabupaten Enrekang, Pulau Rote, Pulau Sumba, serta Kabupaten Polewali Mandar di Provinsi Sulawesi Barat. Selain sebagai sumber karbohidrat, jewawut juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan, kaya vitamin dan mineral, serta mengandung serat yang tinggi sehingga memberikan manfaat bagi kesehatan manusia (Cahyanti et al., 2021).

Ketersediaan pangan merupakan salah satu tantangan global yang dihadapi banyak negara berkembang, termasuk Indonesia. Pertumbuhan populasi penduduk yang semakin meningkat tidak selalu diimbangi dengan peningkatan produksi pangan, sehingga memunculkan risiko ketahanan pangan. Dalam konteks ini, pengembangan sumber pangan alternatif non-beras menjadi penting untuk mendukung diversifikasi pangan nasional. Jewawut merupakan salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan karena memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap kondisi lingkungan yang relatif kering serta membutuhkan input

budidaya yang relatif rendah (Nurmala, 2011). Tanaman ini diketahui mampu tumbuh pada kondisi tanah dengan tingkat kesuburan yang bervariasi dan tidak memerlukan pemupukan intensif, sehingga dapat menjadi komoditas yang berpotensi dikembangkan dalam sistem pertanian berkelanjutan (Juhaeti et al., 2019).

Dalam praktik budidaya tanaman, penggunaan pupuk menjadi faktor penting dalam meningkatkan produktivitas tanaman. Secara umum pupuk dapat dibedakan menjadi pupuk organik dan pupuk anorganik. Pupuk anorganik merupakan pupuk yang dihasilkan melalui proses industri dengan teknik kimia, fisika, maupun biologis. Sementara itu, pupuk organik berasal dari bahan alami seperti sisa tumbuhan atau hewan yang telah mengalami proses dekomposisi sehingga dapat meningkatkan kandungan bahan organik tanah serta memperbaiki sifat fisik, kimia, dan biologi tanah (Dewanto et al., 2017).

Penggunaan pupuk anorganik secara terus-menerus dalam jangka panjang diketahui dapat menimbulkan berbagai dampak negatif terhadap kualitas tanah dan lingkungan. Penggunaan pupuk kimia yang berlebihan dapat menyebabkan penurunan kandungan bahan organik tanah, kerusakan struktur tanah, serta meningkatkan risiko pencemaran lingkungan. Kondisi tersebut dapat mengganggu keseimbangan ekosistem tanah dan menurunkan produktivitas lahan dalam jangka panjang. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pemupukan yang lebih ramah lingkungan, salah satunya melalui pemanfaatan pupuk hayati atau biofertilizer (Simanjuntak, 2013).

Biofertilizer merupakan pupuk yang mengandung mikroorganisme hidup yang berperan dalam meningkatkan ketersediaan unsur hara bagi tanaman. Mikroorganisme tersebut dapat berupa satu jenis mikroba maupun konsorsium beberapa mikroorganisme yang bekerja secara sinergis dalam mendukung pertumbuhan tanaman (Kalay et al., 2020). Beberapa kelompok mikroorganisme yang umum digunakan dalam biofertilizer antara lain *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, mikoriza, dan *Trichoderma* (Sudiarti, 2017).

Sebagian besar mikroorganisme tersebut hidup di sekitar perakaran tanaman atau dikenal sebagai rhizosfer. Rhizosfer merupakan zona tanah yang dipengaruhi secara langsung oleh aktivitas akar tanaman serta sekresi senyawa organik yang dikeluarkan oleh akar. Senyawa-senyawa tersebut berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi berbagai mikroorganisme tanah sehingga menjadikan rhizosfer sebagai habitat yang sangat dinamis dan kaya akan keanekaragaman mikroba. Aktivitas mikroorganisme di rhizosfer berperan penting dalam berbagai proses ekologis, seperti siklus nutrisi, pembentukan struktur tanah, peningkatan pertumbuhan tanaman, serta pengendalian hayati terhadap patogen akar (Wulandari et al., 2023).

Salah satu kelompok mikroorganisme yang memiliki peran penting dalam ekosistem tanah adalah bakteri penambat nitrogen. Bakteri penambat nitrogen merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk mengikat nitrogen bebas dari atmosfer dan mengubahnya menjadi bentuk yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Proses ini

dapat berlangsung melalui hubungan simbiosis, seperti pada bakteri *Rhizobium*, maupun secara non-simbiosis oleh bakteri yang hidup bebas di tanah atau di rhizosfer tanaman (Masyitah et al., 2023).

Nitrogen merupakan unsur hara esensial bagi tanaman karena berperan dalam pembentukan berbagai senyawa penting seperti protein, asam nukleat, serta klorofil yang terlibat dalam proses fotosintesis. Meskipun nitrogen tersedia melimpah di atmosfer dalam bentuk gas  $N_2$ , sebagian besar tanaman tidak dapat memanfaatkannya secara langsung. Oleh karena itu, keberadaan bakteri penambat nitrogen menjadi sangat penting dalam menyediakan nitrogen dalam bentuk yang tersedia bagi tanaman, seperti amonia atau nitrat (Saputri et al., 2021).

Beberapa bakteri rhizosfer juga dikenal sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)* yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme. Mekanisme tersebut meliputi fiksasi nitrogen, produksi hormon pertumbuhan tanaman seperti indole acetic acid (IAA), pelarutan fosfat, serta kemampuan dalam menekan perkembangan patogen tanah melalui kompetisi maupun produksi senyawa antibiotik (Tarigan et al., 2013). Oleh karena itu, eksplorasi dan identifikasi bakteri rhizosfer yang memiliki potensi sebagai penambat nitrogen dan pemacu pertumbuhan tanaman menjadi penting dalam mendukung pengembangan biofertilizer berbasis mikroba.

Hingga saat ini, informasi ilmiah mengenai keanekaragaman dan potensi bakteri rhizosfer penambat nitrogen yang berasosiasi dengan tanaman jiwawut di wilayah Sulawesi Barat masih

sangat terbatas, khususnya di Kabupaten Polewali Mandar. Padahal, rhizosfer tanaman lokal berpotensi menjadi sumber mikroorganisme fungsional yang dapat dimanfaatkan sebagai biofertilizer untuk mendukung sistem pertanian yang lebih ramah lingkungan. Oleh karena itu, penelitian mengenai isolasi, skrining, dan identifikasi bakteri rhizosfer penambat nitrogen pada tanaman jiwawut menjadi penting untuk dilakukan guna mengetahui potensi mikroorganisme tersebut dalam meningkatkan kesuburan tanah dan mendukung produktivitas tanaman dalam sistem pertanian berkelanjutan.

## 2. BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2024. Pengambilan sampel tanah rhizosfer dilakukan pada lahan pertanian tanaman jiwawut di Desa Galung Lego, Kecamatan Balanipa, Kabupaten Polewali Mandar, Sulawesi Barat. Analisis mikrobiologi dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, UPT Laboratorium Terpadu Universitas Sulawesi Barat.

#### Pengambilan Sampel Rhizosfer

Sampel tanah rhizosfer diambil dari tanaman jiwawut (*Setaria italica* L.) yang tumbuh pada lahan pertanian masyarakat. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode purposive sampling dengan mempertimbangkan kondisi tanaman dan lokasi perakaran. Tanah yang menempel pada akar tanaman diambil secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dan disimpan dalam kondisi dingin sebelum

dibawa ke laboratorium untuk analisis lebih lanjut.

### Isolasi Bakteri Rhizosfer

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Sebanyak  $\pm 1$  g tanah rhizosfer dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril dan dihomogenkan menggunakan vortex untuk memperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-1}$ . Suspensi kemudian diencerkan secara bertingkat hingga pengenceran  $10^{-8}$ .

Sebanyak 50  $\mu$ L suspensi dari pengenceran  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ , dan  $10^{-8}$  diinokulasikan pada media Jensen agar menggunakan metode sebar (spread plate) dengan dua ulangan. Cawan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 5 hari dan diamati setiap 24 jam untuk melihat pertumbuhan koloni bakteri (Lisa, 2020).

Koloni yang tumbuh pada media Jensen kemudian dimurnikan menggunakan metode gores kuadran pada media Nutrient Agar (NA) untuk memperoleh isolat tunggal. Isolat yang diperoleh diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  sebelum dilakukan karakterisasi lebih lanjut (Nuraeni et al., 2020).

### Karakterisasi Morfologi dan Pewarnaan Gram

Karakterisasi morfologi koloni dilakukan secara makroskopis dengan mengamati bentuk koloni, warna, tepi koloni, elevasi, serta ukuran koloni. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram untuk menentukan karakteristik dinding sel bakteri.

Preparat apusan bakteri dibuat pada kaca objek secara aseptik, kemudian difiksasi dengan pemanasan.

Preparat ditetesi kristal violet selama 1 menit, dibilas dengan air, kemudian ditambahkan larutan lugol selama 1 menit. Setelah itu preparat dicuci dengan alkohol sebagai peluntur selama  $\pm 30$  detik dan diberi pewarna penutup safranin selama 1 menit. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran  $1000\times$  dengan minyak emersi. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah (Sabdaningsih et al., 2013).

### **Uji Kemampuan Penambatan Nitrogen**

Isolat bakteri yang telah dimurnikan diinokulasikan pada media NA semi padat untuk menguji kemampuan penambatan nitrogen. Media kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Isolat yang mampu menambat nitrogen ditandai dengan terbentuknya pelikel atau cincin putih pada permukaan media. Terbentuknya pelikel menunjukkan adanya aktivitas bakteri dalam memanfaatkan nitrogen bebas dari atmosfer (Saputri et al., 2021).

### **Uji Produksi IAA**

Produksi hormon indole acetic acid (IAA) diuji dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media Nutrient Broth (NB) yang diperkaya dengan triptofan 200 ppm. Kultur diinkubasi selama 7 hari pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$ . Setelah inkubasi, sebanyak 10 mL kultur disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 10 menit.

Sebanyak 1 mL supernatan dicampurkan dengan 4 mL pereaksi Salkowski, kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap selama 30 menit. Intensitas warna yang terbentuk diukur menggunakan spektrofotometer pada

panjang gelombang 535 nm untuk menentukan konsentrasi IAA yang dihasilkan (Rini et al., 2020).

### **Uji Produksi Giberelin**

Pengujian produksi giberelin dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media NB dan diinkubasi selama 7 hari. Sebanyak 10 mL kultur disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian direaksikan dengan larutan HCl 30% dan diinkubasi selama 75 menit pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$ . Serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm untuk menentukan produksi giberelin oleh isolat bakteri (Rahim et al., 2019).

### **Identifikasi Molekuler Bakteri**

Isolat bakteri yang menunjukkan potensi sebagai penambat nitrogen serta menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman kemudian diidentifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA.

DNA genom bakteri diekstraksi menggunakan Presto™ Mini gDNA Kit (Geneaid) sesuai dengan prosedur pabrik. Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur menggunakan spektrofotometer NanoDrop. Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan menggunakan metode PCR dengan primer universal 27F (5'-TCCTCCGCTTATTGATTATGC-3') dan 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3').

Reaksi PCR terdiri atas campuran 12,5  $\mu\text{L}$  KAPA Taq ReadyMix PCR, 8,5  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O, 1  $\mu\text{L}$  primer forward, 1  $\mu\text{L}$  primer reverse, dan 2  $\mu\text{L}$  DNA template. Program PCR meliputi pre-denaturasi pada  $95^{\circ}\text{C}$  selama 3 menit, diikuti 35 siklus denaturasi pada  $95^{\circ}\text{C}$  selama 15 detik, annealing pada  $55^{\circ}\text{C}$  selama 30

detik, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit, serta ekstensi akhir pada 72°C selama 3 menit.

Produk PCR kemudian divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarosa pada tegangan 110 V selama 50 menit. Pita DNA yang terbentuk diamati menggunakan UV transilluminator. Produk PCR selanjutnya dikirim ke laboratorium sekuensing untuk analisis sekuens DNA. Hasil sekuens dibandingkan dengan database NCBI GenBank menggunakan program BLASTN untuk menentukan identitas spesies bakteri (Mirsam et al., 2022).

### Analisis Data

Data hasil isolasi, karakterisasi morfologi, uji penambatan nitrogen, serta produksi hormon pertumbuhan tanaman dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Identitas bakteri ditentukan berdasarkan tingkat kesamaan sekuens gen 16S rRNA dengan database NCBI.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri Rhizosfer Penambat Nitrogen

Bakteri rhizosfer yang berasosiasi dengan tanaman jiwawut (*Setaria italica* L.) diisolasi dari tanah yang melekat pada akar tanaman yang berasal dari lahan pertanian masyarakat di Desa Galung Lego, Kecamatan Balanipa, Kabupaten Polewali Mandar, Sulawesi Barat. Pengambilan sampel dilakukan dengan mempertimbangkan usia tanaman dan posisi tanaman pada lahan pertanian. Sampel kemudian diberi kode JMPR (jiwawut muda pinggir rhizosfer), JMTR (jiwawut muda tengah rhizosfer), dan JTR (jiwawut tua rhizosfer).

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat dan ditumbuhkan pada media selektif Jensen yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri penambat nitrogen. Hasil isolasi menunjukkan bahwa koloni bakteri hanya tumbuh pada sampel JMPR, sedangkan pada sampel JMTR dan JTR tidak ditemukan pertumbuhan koloni pada media Jensen (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah koloni bakteri rhizosfer pada media Jensen

Kode isolat	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
JMPR	122	68	14
JMTR	0	0	0
JTR	0	0	0

Jumlah koloni tertinggi ditemukan pada pengenceran 10<sup>-6</sup> dengan 122 koloni, sedangkan jumlah koloni terendah terdapat pada pengenceran 10<sup>-8</sup> yaitu 14 koloni. Penurunan jumlah koloni seiring dengan meningkatnya tingkat pengenceran merupakan fenomena yang umum terjadi dalam teknik isolasi mikroba. Semakin tinggi faktor pengenceran, semakin rendah jumlah mikroorganisme yang terdeteksi pada media kultur (Azzahra et al., 2021). Media Jensen merupakan media selektif yang dirancang untuk mendeteksi bakteri penambat nitrogen karena tidak mengandung sumber nitrogen tersedia. Oleh karena itu, hanya bakteri yang mampu melakukan fiksasi nitrogen yang dapat tumbuh pada media ini. Komponen seperti sukrosa berfungsi sebagai sumber karbon, sedangkan sodium molibdat berperan dalam meningkatkan aktivitas enzim

nitrogenase yang terlibat dalam proses fiksasi nitrogen (Philippot et al., 2013).

Dari total 204 koloni yang diperoleh dari sampel JMPR, dilakukan seleksi berdasarkan perbedaan morfologi koloni dan diperoleh 31 isolat bakteri yang kemudian diberi kode JMPR1 hingga JMPR31.

### Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri

Sebanyak 31 isolat yang diperoleh kemudian dimurnikan kembali pada media Jensen dan diseleksi berdasarkan karakter morfologi koloni. Dari proses seleksi tersebut diperoleh 10 isolat bakteri yang memiliki karakter morfologi yang berbeda.

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni bakteri rhizosfer

Kode isolat	Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna
JMPR2	Circular	Convex	Undulate	Putih susu
JMPR8	Circular	Convex	Entire	Putih susu
JMPR11	Circular	Convex	Entire	Putih susu
JMPR16	Punctiform	Convex	Entire	Putih susu
JMPR17	Circular	Convex	Undulate	Putih susu
JMPR19	Circular	Convex	Entire	Putih susu
JMPR22	Circular	Raised	Entire	Putih susu
JMPR28	Irregular	Flat	Undulate	Putih susu
JMPR29	Circular	Convex	Entire	Putih susu
JMPR31	Filamentous	Convex	Lobate	Putih susu

Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa sebagian besar koloni memiliki

bentuk *circular*, elevasi *convex*, dan tepi koloni *entire*, dengan warna koloni putih susu. Variasi morfologi koloni ini menunjukkan adanya keragaman bakteri rhizosfer yang berasosiasi dengan akar tanaman jecawut.

Hasil ini sejalan dengan penelitian Dewi & Trimulyono (2023) yang melaporkan bahwa isolat bakteri rhizosfer tanaman nanas memiliki karakter morfologi koloni dominan berbentuk *circular* dengan elevasi *convex* dan warna putih susu. Keragaman morfologi koloni bakteri dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti pH tanah, ketersediaan nutrisi, suhu, serta kondisi mikrohabitat di sekitar akar tanaman (Vessey, 2003).

### Pewarnaan Gram

Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan metode pewarnaan Gram untuk mengetahui tipe dinding sel bakteri.

Tabel 3. Karakteristik pewarnaan Gram isolat bakteri

Kode isolat	Bentuk sel	Warna	Gram
JMPR2	Coccus	Merah muda	Negatif
JMPR8	Coccus	Ungu	Positif
JMPR11	Coccus	Merah muda	Negatif
JMPR16	Coccus	Merah muda	Negatif
JMPR17	Coccus	Merah muda	Negatif
JMPR19	Basil	Ungu	Positif
JMPR22	Streptococcus	Ungu	Positif
JMPR28	Basil	Ungu	Positif
JMPR29	Basil	Merah muda	Negatif

Kode isolat	Bentuk sel	Warna	Gram
JMPR31	Coccus	Ungu	Positif

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa dari 10 isolat bakteri yang diamati terdapat 5 isolat Gram positif dan 5 isolat Gram negatif. Bentuk sel yang teramati meliputi coccus, basil, dan streptococcus.

Pewarnaan Gram merupakan metode penting dalam karakterisasi awal bakteri karena mampu membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya. Bakteri Gram positif mampu mempertahankan warna kristal violet sehingga tampak berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif akan menyerap pewarna safranin sehingga tampak merah muda (Fajrin et al., 2017).

### Uji Kemampuan Penambatan Nitrogen

Dari sepuluh isolat yang diperoleh, dipilih lima isolat yang memiliki karakter morfologi berbeda untuk diuji kemampuan penambatan nitrogen.

Tabel 4. Potensi penambatan nitrogen isolat bakteri

Kode isolat	Jumlah gelembung	Cincin
JMPR19	32	Ada
JMPR22	27	Ada
JMPR28	153	Ada
JMPR29	198	Ada
JMPR31	135	Ada

Seluruh isolat yang diuji menunjukkan kemampuan menambat nitrogen yang ditandai dengan terbentuknya pelikel atau cincin putih pada permukaan media semi padat. Isolat JMPR29 menunjukkan aktivitas

tertinggi dengan jumlah gelembung sebanyak 198.

Terbentuknya pelikel pada media semi padat menunjukkan aktivitas bakteri dalam memanfaatkan nitrogen bebas di atmosfer melalui proses *biological nitrogen fixation* (BNF) (Hafni et al., 2022). Proses ini berperan penting dalam meningkatkan ketersediaan nitrogen di dalam tanah sehingga dapat mendukung pertumbuhan tanaman dan mengurangi ketergantungan terhadap pupuk anorganik.

### Produksi Hormon Pertumbuhan Tanaman

Isolat dengan aktivitas penambatan nitrogen tertinggi kemudian diuji kemampuannya dalam menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman seperti IAA dan giberelin.

Tabel 5. Produksi hormon IAA dan giberelin

Kode isolat	Konsentrasi IAA (ppm)	Konsentrasi GA3 (ppm)
JMPR28	5.889	92.976
JMPR29	281.814	95.416
JMPR31	168.074	94.465

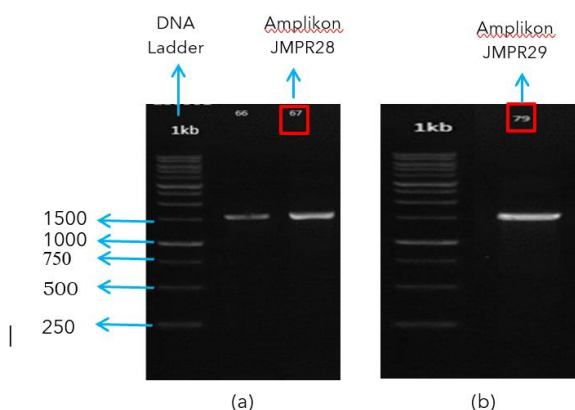
Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat JMPR29 menghasilkan IAA tertinggi yaitu 281.814 ppm, sedangkan isolat JMPR28 menghasilkan IAA terendah yaitu 5.889 ppm. Sementara itu, produksi giberelin tertinggi juga ditemukan pada isolat JMPR29.

Produksi hormon pertumbuhan oleh bakteri rhizosfer merupakan salah satu mekanisme penting dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Bakteri yang mampu menghasilkan hormon seperti IAA dan giberelin termasuk dalam kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang dapat merangsang pertumbuhan akar dan meningkatkan penyerapan unsur hara oleh tanaman (Handayani et al., 2020).

### Identifikasi Molekuler Bakteri

Identifikasi molekuler dilakukan terhadap dua isolat terbaik yaitu JMPR28 dan JMPR29 menggunakan analisis gen 16S rRNA (Gambar 1). Hasil amplifikasi PCR menunjukkan pita DNA berukuran sekitar 1500 bp yang sesuai dengan ukuran gen 16S rRNA bakteri. Hasil analisis BLAST menunjukkan tingkat kemiripan tinggi dengan genus *Bacillus* (Tabel 6).

Gambar 1. Hasil Amplifikasi PCR sampel DNA Bakteri (a) JMPR28 dan (b) JMPR29



Tabel 6. Hasil identifikasi molekuler isolat bakteri

Kode isolat	Spesies terdekat	Persentase kemiripan	Query cover
JMPR28	<i>Bacillus toyonensis</i>	98.26%	93%
JMPR29	<i>Bacillus cereus</i>	98.38%	88%

Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh termasuk dalam genus *Bacillus*, kelompok bakteri yang diketahui memiliki kemampuan sebagai bakteri penambat nitrogen serta penghasil hormon pertumbuhan tanaman.

Beberapa spesies *Bacillus* dilaporkan memiliki potensi sebagai biofertilizer karena mampu meningkatkan ketersediaan nitrogen, menghasilkan hormon pertumbuhan, serta meningkatkan produktivitas

tanaman. Misalnya, *Bacillus cereus* diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui mekanisme fiksasi nitrogen dan produksi fitohormon (Fajrin et al., 2017).

### 4. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengisolasi bakteri rhizosfer penambat nitrogen dari tanaman jiwawut (*Setaria italica* L.) yang berasal dari lahan pertanian di Desa Galung Lego, Kabupaten Polewali Mandar. Sebanyak 31 isolat bakteri berhasil diperoleh dari media selektif Jensen dan diseleksi menjadi 10 isolat berdasarkan karakter morfologi koloni. Lima isolat menunjukkan kemampuan menambat nitrogen yang ditandai dengan terbentuknya pelikel pada media semi padat. Tiga isolat terpilih (JMPR28, JMPR29, dan JMPR31) memiliki kemampuan menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman IAA dan giberelin dengan konsentrasi yang bervariasi. Hasil identifikasi molekuler berbasis gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat terbaik memiliki kedekatan dengan *Bacillus toyonensis* dan *Bacillus cereus*. Temuan ini menunjukkan bahwa bakteri rhizosfer tanaman jiwawut berpotensi sebagai kandidat biofertilizer yang dapat mendukung kesuburan tanah dan pengembangan sistem pertanian berkelanjutan.

### 5. DAFTAR PUSTAKA

Azzahra, S. C., Effendy, Y., & Slamet, S. (2021). Isolasi dan karakterisasi bakteri pemacu pertumbuhan tanaman (*Plant growth*

- promoting rhizobacteria*) asal tanah Desa Akar-Akar, Lombok Utara. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 6(2), 70-76.
- Cahyanti, E. R., Wandira, A., Jannah, M., & Ahdar, A. N. W. (2021). Budidaya dan karakterisasi hama penyakit pada tanaman jewawut (*Setaria italica*).
- Dewanto, F. G., Londok, J. J., Tuturoong, R. A., & Kaunang, W. B. (2017). Pengaruh pemupukan anorganik dan organik terhadap produksi tanaman jagung sebagai sumber pakan. *Zootec*, 32(5).
- Dewi, P. R., & Trimulyono, G. (2023). Isolasi dan karakterisasi bakteri penambat nitrogen dari rizosfer tanaman nanas di lereng Gunung Kelud Kediri. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1), 73-85.
- Fajrin, V. N., Erdiansyah, I., & Damanhuri, F. N. U. (2017). Koleksi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen pada pusat lokasi tanaman kedelai edamame (*Glycine max* (L.) Merr.) di Kabupaten Jember. *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 1(2), 143-153.
- Hafni, W., Hala, Y., & Hartono. (2022). Isolasi dan karakterisasi bakteri penambat nitrogen asal rizosfer tanaman mimba. *Prosiding Seminar Nasional Biologi FMIPA UNM*.
- Handayani, W., Munir, M., & Hidayati, I. (2020). Pengelompokan isolat bakteri penghasil hormon IAA (*Indole acetic acid*) dari tanah rizosfer bawang merah (*Allium cepa*) di Nganjuk dengan variasi wilayah berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 6(1), 183-190.
- Juhaeti, T., Widodo, W., Setyowati, N., Lestari, P., Syarif, F., Saefudin, I., Gunawan, I., Budiarjo, B., & Agung, R. H. (2019). Serealia lokal jewawut (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.): Gizi, budaya, dan kuliner. *Agrikultura*, 30(2).
- Kalay, A. M., Hindersah, R., Ngabalin, I. A., & Jamlean, M. (2020). Pemanfaatan pupuk hayati dan bahan organik terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman jagung manis (*Zea mays saccharata*). *Agric*, 32(2), 129-138.
- Lisa, M. (2020). *Isolasi dan karakterisasi bakteri nitrogen dari tanah gambut Kecamatan Trumon, Aceh Selatan* (Skripsi). UIN Ar-Raniry.
- Masyitah, L. A., Rasyidah, R., & Mayasari, U. (2023). Isolasi dan identifikasi *Azotobacter* dari rizosfer tanaman jagung (*Zea mays* L.). *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 6(2), 338-344.
- Mirsam, H., Aqil, M., Azrai, M., Efendi, R., Muliadi, A., Sembiring, H., & Azis, A. I. (2022). Molecular characterization of indigenous microbes and its potential as a biological control agent of *Fusarium verticillioides* on maize. *Heliyon*, 8(12).
- Nuraeni, N., Saida, S., Suryanti, S., & Nontji, M. (2020). Isolasi dan identifikasi bakteri rizosfer tanaman jagung pada fase vegetatif dan generatif. *AgrotekMAS Jurnal Indonesia*, 1(1), 24-30.

- Nurmala, T. (2011). Potensi dan prospek pengembangan hanjeli (*Coix lacryma-jobi* L.) sebagai pangan bergizi untuk mendukung diversifikasi pangan. *Jurnal Pangan*, 20(1), 41-48.
- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & Van der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789-799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Rahim, I., Suherman, S., & Hakzah, H. (2019). Produksi hormon giberelin dari cendawan pelapuk asal tanaman kakao. *Prosiding Seminar Nasional Sinergitas Multidisiplin Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, 2(1), 272-276.
- Ramadhani, A. N. (2023). *Keanekaragaman morfoagronomi beberapa kultivar jewawut (Setaria italica)* (Skripsi).
- Rini, I. A., Oktaviani, I., Asril, M., Agustin, R., & Frima, F. K. (2020). Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil IAA dari rhizosfer tanaman akasia (*Acacia mangium*). *Agro Bali: Agricultural Journal*, 3(2), 210-219.
- Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., & Kusdiyantini, E. (2013). Isolasi dan karakterisasi morfologi koloni bakteri asosiasi alga merah dari perairan Kutuh Bali. *Jurnal Akademika Biologi*, 2(2), 11-17.
- Saputri, K. E., Idiawati, N. S., & Sofiana, M. S. J. (2021). Isolasi dan karakterisasi bakteri penambat nitrogen dari rizosfer mangrove di Kuala Singkawang. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 4(2), 80-84.
- Simanjuntak, A., Lahay, R. R., & Purba, E. (2013). Respon pertumbuhan dan produksi bawang merah terhadap pemberian pupuk NPK dan kompos kulit buah kopi. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 1(3).
- Sudiarti, D. (2017). The effectiveness of biofertilizer on plant growth soybean (*Glycine max*). *Jurnal SainHealth*, 1(2), 97-106.
- Tarigan, R. S., Jamilah, I., & Elimasni, D. (2013). Seleksi bakteri penambat nitrogen dan penghasil hormon IAA dari rizosfer tanah perkebunan kedelai (*Glycine max* L.). *Saintia Biologi*, 1(2), 42-48.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586.
- Wulandari, F., Lindawati, S. A., & Roni, N. G. K. (2023). Populasi bakteri penambat nitrogen dan karakteristik tanah pada rhizosfer tanaman pakan leguminosa dan rumput di lahan kering. *Pastura*, 8(2), 81-85