

Isolasi dan Karakterisasi Rhizobakteri Bawang Merah dari Lahan salin di Kabupaten Brebes sebagai Agen Pemacu Pertumbuhan Tanaman

Isolation and Characterization of Red Onion Rhizobacteria from Saline Land in Brebes Regency as Plant Growth Stimulating Agents

Dwi Ayu Lutfiani Amalia, Oedjijono*, Saefudin Aziz

Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto 53122, Indonesia

*corresponding author, Email: oedjijono@unsoed.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 05/05/2025

Disetujui : 20/06/2025

Abstract

Soil salinity poses a significant challenge to shallot (*Allium ascalonicum* L.) cultivation, especially in coastal regions. One promising strategy to alleviate salinity-induced stress is the utilization of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). This study aimed to isolate and characterize rhizobacterial strains from the rhizosphere of shallots grown in saline soils in Brebes, Central Java, Indonesia, focusing on their PGPR-related functional traits. Five bacterial isolates—K4K3, K3AM1, K4IS1, K3RZ1, and K3IS4—were successfully obtained, all capable of growing in NaCl concentrations ranging from 3% to 8%. These isolates exhibited key PGPR characteristics, including nitrogen fixation, phosphate and potassium solubilization, indole-3-acetic acid (IAA) production, and siderophore synthesis. Antagonistic interaction assays revealed synergistic relationships among four isolates, with the exception of K3RZ1 and K3AM1, which displayed mutual inhibition. The highest nitrogenase activities, determined via the Acetylene Reduction Assay (ARA), were observed in isolates K4IS1 (0.044 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL/h}$) and K3IS4 (0.066 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL/h}$). Phosphate solubilization reached up to 16.04 $\mu\text{g/mL}$, while IAA production peaked at 2.01 $\mu\text{g/mL}$. Based on identification using Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, the isolates were classified as *Kocuria rosea* (K4K3), *Bacillus subtilis* (K3AM1), *Kocuria rhizophila* (K4IS1), *Rhizobium* sp. (K3RZ1), and *Pseudomonas fluorescens* (K3IS4). These findings demonstrate the potential of several isolates as bioinoculants to enhance shallot growth under saline soil conditions.

Key Words : IAA, Nitrogenase, PGPR, shallots (*Allium ascalonicum* L.), saline soil.

Abstrak

Salinitas tanah merupakan salah satu kendala utama dalam budidaya bawang merah (*Allium ascalonicum* L.), terutama di wilayah pesisir. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan tanaman di bawah tekanan salin adalah dengan memanfaatkan *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri dari rizosfer bawang merah yang mampu tumbuh di tanah salin dan memiliki karakteristik sebagai PGPR. Sebanyak lima isolat bakteri, yaitu K4K3, K3AM1, K4IS1, K3RZ1, dan K3IS4 berhasil diisolasi dari tanah rizosfer bawang merah dan mampu tumbuh pada salinitas 3–8% NaCl. Semua isolat menunjukkan kemampuannya sebagai kandidat PGPR, yaitu mampu menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium, menghasilkan hormon *Indole-3-acetic Acid* (IAA), serta memproduksi siderofor. Uji antagonis antar isolat menunjukkan bahwa empat isolat bersifat sinergis, kecuali interaksi antara K3RZ1 dan K3AM1 yang saling menghambat. Isolat yang bersifat sinergis diuji kemampuannya dalam fiksasi nitrogen secara kuantitatif menggunakan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA), dengan hasil aktivitas nitrogenase sebesar 0,044 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL/jam}$ untuk isolat K4IS1 dan 0,066 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL/jam}$ untuk isolat K3IS4. Hasil uji kuantitatif untuk sifat lainnya menunjukkan kemampuan pelarutan fosfat hingga 16,04 $\mu\text{g/mL}$ dan produksi IAA hingga 2,01 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* kelima isolat teridentifikasi sebagai *Kocuria rosea* (K4K3), *Bacillus subtilis* (K3AM1), *Kocuria rhizophila* (K4IS1), *Rhizobium* sp. (K3RZ1), dan *Pseudomonas fluorescens* (K3IS4). Berdasarkan karakter fungsional dan sinergisme antar isolat, beberapa isolat potensial untuk dikembangkan sebagai bioinokulan dalam mendukung pertumbuhan bawang merah di tanah salin.

Kata kunci : Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.), IAA, nitrogenase, PGPR, tanah salin.

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan komoditas hortikultura strategis dengan permintaan pasar yang terus meningkat. Namun, keterbatasan lahan subur menjadi salah satu tantangan utama dalam memenuhi kebutuhan

tersebut (Aini *et al.*, 2019). Di sisi lain, potensi lahan marginal seperti tanah salin yang tersebar luas di wilayah pesisir Indonesia masih belum dimanfaatkan secara optimal untuk budidaya tanaman pangan dan hortikultura. Ekstensifikasi pertanian ke lahan salin

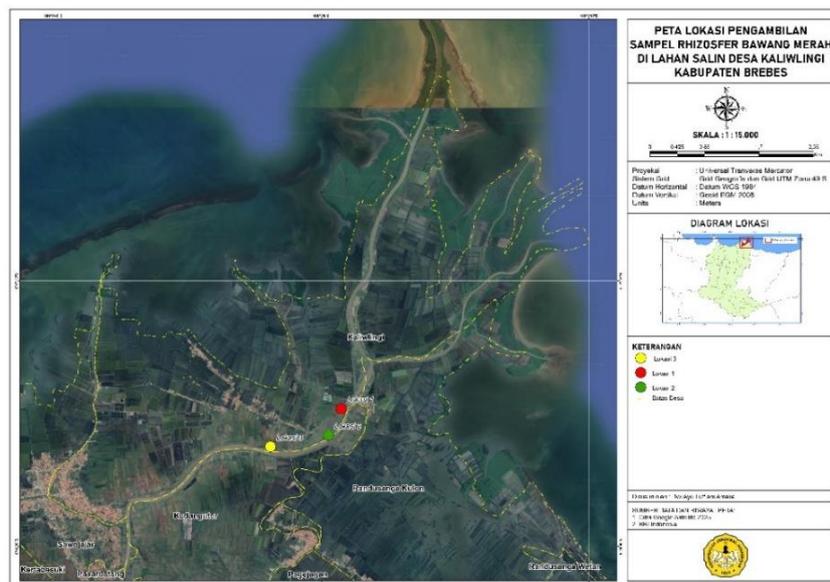
sebenarnya menjadi salah satu alternatif solusi dalam mengatasi kekurangan terhadap lahan produktif, khususnya untuk tanaman bernilai ekonomi tinggi seperti bawang merah. Beberapa wilayah pesisir sudah mulai digunakan sebagai lahan budidaya, namun tingkat salinitas tanah yang tinggi sering kali menjadi penghambat utama. Salinitas dapat menurunkan viabilitas benih, mengganggu serapan hara, serta menghambat pertumbuhan dan hasil tanaman (Shrivastava & Kumar, 2015; Hawayanti & Palmasari, 2018).

Lahan salin di daerah sentra produksi bawang merah, seperti Brebes, Jawa Tengah, Indonesia, menjadi tantangan yang nyata bagi petani. Salinitas tanah yang tinggi di wilayah ini berdampak langsung pada produktivitas tanaman, sehingga diperlukan pendekatan inovatif yang dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman salin. Salah satu pendekatan yang mulai banyak dikembangkan adalah penggunaan agen hayati berupa mikroba tanah, khususnya rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman atau *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR). Pendekatan biologis berbasis mikroba telah dilaporkan berhasil membantu tanaman menghadapi stres abiotik, termasuk salinitas tinggi, seperti yang ditunjukkan pada tanaman chickpea (*Cicer arietinum* L.) (Egamberdieva *et al.*, 2019). PGPR diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme, seperti penambatan nitrogen, pelarutan fosfat dan kalium, produksi fitohormon seperti Indole-3-acetic acid (IAA), serta sintesis senyawa pengkelat besi (siderofor) yang meningkatkan ketersediaan hara (Nawas *et al.*, 2020).

Eksplorasi awal terhadap PGPR lokal dari lingkungan salin perlu diawali melalui isolasi dan karakterisasi rhizobakteri dari daerah perakaran (rhizosfer) tanaman toleran salinitas, seperti bawang merah. Mikroba yang hidup di lingkungan tersebut diduga telah mengalami adaptasi terhadap cekaman salin, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai bioinokulan. Karakterisasi dilakukan untuk mengidentifikasi kemampuan fungsional rhizobakteri, seperti toleransi terhadap NaCl tinggi, kemampuan melarutkan fosfat dan kalium, menambat nitrogen, menghasilkan hormon IAA, dan memproduksi siderofor. Meski demikian, kajian mengenai karakteristik rhizobakteri dari rizosfer bawang merah di lahan salin masih terbatas dan jarang dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi rhizobakteri dari bawang merah yang tumbuh di lahan salin Kabupaten Brebes, guna mengidentifikasi isolat berpotensi sebagai kandidat bioinokulan dalam upaya restorasi tanah salin secara berkelanjutan.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan dengan metode survei. Sampel diambil dari tanah rizosfer tanaman bawang merah yang tumbuh salin di Desa Kaliwlingi dan Sawojajar, kecamatan Brebes, Kabupaten Brebes, Jawa Tengah, dengan tiga titik koordinat area pesisir yaitu 6°48'19.8"S 109°03'11.3"E; 6°48'33.9"S 109°03'04.1"E; dan 6°48'46.2"S 109°02'34.2"E dengan konduktivitas Listrik (EC) >4 dS/m (Gambar 1). Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi dan Laboratorium Riset Terpadu Universitas Jenderal Soedirman. Penelitian dilakukan dari Agustus 2024 hingga November 2024.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel tanah rizosfer bawang merah di lahan salin desa Kaliwlingi, kecamatan Brebes, kabupate Brebes. Lokasi 1 (merah) 6°48'19.8"S 109°03'11.3"E; lokasi 2 (hijau) 6°48'33.9"S 109°03'04.1"E; dan lokasi 3 (kuning) 6°48'46.2"S 109°02'34.2"E.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain soil tester (Takemura DM-15), EC meter (HI98331, Hanna Instruments), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 20, Thermo Scientific), Gas Chromatograph (GC-2010, Shimadzu), dan centrifuge (Eppendorf 5804R).

Bahan yang digunakan meliputi media Nfb (*Nitrogen-free bromothymol blue*), Pikovskaya cair dan agar, CAS agar (Chrome Azurol S), IAA standar (Indole-3-Acetic Acid), L-Triptofan 2 % +Nutrient Broth, aquadest steril, dan larutan buffer fosfat.

Pengambilan Sampel Rizosfer (Sharma et al., 2021)

Sampel tanah rizosfer diambil dari tiga titik lokasi pada lahan salin pertanian bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara mencabut tanaman bawang merah beserta akarnya, lalu menggoyangkannya hingga tanah rizosfer terlepas. Tanah yang menempel dan jatuh dari akar dikumpulkan ke dalam kantong plastik steril, kemudian disimpan dalam *ice box* berisi *ice gel* untuk menjaga stabilitas mikroba. Setiap tanah dari masing-masing titik diukur parameter kimia seperti pH, suhu, kelembapan, dan kadar garam, yang diukur *in situ*. Sampel tanah dari masing-masing titik juga diukur konduktivitas Listrik (EC) di laboratorium.

Isolasi Bakteri (modifikasi dari Ramadani et al., 2025)

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode *pour plate* menggunakan empat jenis media selektif: Nutrient Agar (NA) + NaCl dengan EC 5 mS/cm untuk menyeleksi bakteri halotoleran, Yeast Mannitol Agar (YMA) + Congo red media selektif genus *Rhizobium*, Pikovskaya Agar untuk menyeleksi bakteri dengan kemampuan sebagai pelarut fosfat, dan Alexandrov Agar untuk menyeleksi bakteri dengan kemampuan sebagai pelarut kalium. Sampel tanah diencerkan bertingkat (10^{-4} hingga 10^{-5}), kemudian dituang ke masing-masing media dan diinkubasi pada suhu 28 ± 1 °C selama 48–72 jam. Koloni yang tumbuh diamati dan dimurnikan secara bertahap.

Seleksi Bakteri Toleran Salin (modifikasi Manshur et al., 2020)

Isolat yang telah dimurnikan diuji kemampuannya untuk tumbuh pada medium Nutrient Broth (NB) yang mengandung 3–8% NaCl, setara dengan EC hingga 19 mS/cm. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui toleransi isolat bakteri terhadap berbagai tingkat salinitas.

Uji Potensi Isolat sebagai kandidat PGPR

Isolat yang toleran salin selanjutnya diuji potensi sebagai kandidat PGPR melalui pemilihan sifat berikut:

1. Pelarutan Fosfat (Sharma et al., 2021).

Uji kualitatif menggunakan medium Pikovskaya Agar dan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni. Indeks kelarutan fosfat (IKF) dihitung berdasarkan rasio diameter zona jernih terhadap diameter koloni. Isolat dengan IKF tinggi kemudian diuji lanjut secara kuantitatif dengan menggunakan media PVK cair dan diinkubasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari. Selanjutnya setelah inkubasi 7 hari di sentrifugasi untuk mendapatkan supernatan. Supernatan hasil filtrasi dan sentrifugasi diwarnai dengan penambahan pereaksi P pekat dan pewarna P pekat, diinkubasi selama 30 menit, sampel yang berubah berwarna biru diukur absorbansinya pada 693 nm untuk menentukan kemampuan masing-masing isolat dalam melarutkan fosfat secara kuantitatif. Nilai konsentrasi dihitung berdasarkan kurva standar larutan KH_2PO_4 dengan rentang 0–10 ppm.

2. Pelarutan Kalium (Siddiqui et al., 2021)

Uji kualitatif pelarutan kalium bakteri dilakukan dengan menumbuhkan bakteri di media Aleksandrov selama 5 hari pada suhu ruang, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni dan media berubah menjadi kuning disekitar koloni.

3. Fiksasi Nitrogen (Amalia et al., 2020)

Isolat bakteri ditumbuhkan pada media semi-solid *Nitrogen free Bromothymol Blue* (Nfb) selama 7 hari, hasil positif ditandai dengan perubahan warna pada media Nfb dan terbentuknya pelikel. Pelikel yaitu lapisan tipis keruh di permukaan media.

4. Produksi IAA (Amalia et al., 2020)

Uji kemampuan produksi IAA isolat bakteri dilakukan dengan metode reaksi kolorimetri Salkowski. Bakteri diinokulasikan dalam medium NB dengan 2% L-tryptophan, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Setelah sentrifugasi pada 5000 rpm selama 10 menit, supernatan diambil dan dicampurkan dengan reagen Salkowski, lalu diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 530 nm, dan kadar IAA dihitung menggunakan kurva standar IAA. Kurva standar dibuat dengan mencampurkan reagen Salkowski dan membuat larutan standar IAA dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, dan 80 mg/L. Setiap larutan IAA diinkubasi dengan reagen, dan absorbansi diukur untuk analisis regresi dan pembuatan kurva standar.

5. Produksi Siderofor (Sarwar et al., 2020)

Uji kemampuan bakteri dalam memproduksi siderofor akan dilakukan secara kualitatif menggunakan metode Schwyn dan Neilands. Isolat bakteri yang telah diinokulasikan secara aseptik pada media Chrome-Azurol S (CAS) yang disterilkan akan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu ruang. Hasil produksi siderofor ditandai dengan munculnya warna kuning/oranye di sekitar koloni, yang mengindikasikan kemampuan bakteri dalam memproduksi siderofor.

Uji Antagonisme Antar Isolat (Asril & Leksikowati 2019)

Pengujian kecocokan antar isolat untuk dijadikan konsorsium dilakukan melalui uji antagonisme silang pada medium NA. Isolat ditumbuhkan di media NA secara *dual culture*. Isolat yang menunjukkan interaksi sinergis (tidak saling menghambat) dipilih untuk tahap selanjutnya.

Aktivitas Nitrogenase (Montes-Luz et al., 2023)

Isolat terpilih diuji aktivitas nitrogenasenya secara kuantitatif menggunakan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA). Isolat bakteri terpilih ditumbuhkan pada media NfB semisolid selama 7x24 jam pada suhu ruang. Sebanyak 4 mL media NfB semisolid (mengandung 0,5 mM glutamat) dimasukkan dalam botol 10 mL, kemudian diinokulasi dengan 30 µL inokulum bakteri dan diinkubasi 24 jam pada suhu 30°C. Setelah 24 jam, 10% udara atmosfer dalam botol dibuang dan diganti dengan asetilen, lalu inkubasi dilanjutkan selama 30-60 menit. Gas yang dihasilkan diambil menggunakan *syringe* dan dianalisis menggunakan *Gas Chromatograph* (GC) untuk mengukur puncak etilen. Selain itu, total protein diukur menggunakan metode Bradford, dengan sampel yang dihomogenkan dan diinkubasi dengan NaOH 0,2 M. Kurva standar BSA digunakan untuk menentukan konsentrasi protein, dan aktivitas nitrogenase dihitung berdasarkan total protein yang dihasilkan.

Karakterisasi Isolat Bakteri (Amalia et al., 2020).

Karakterisasi isolat bakteri dilakukan untuk mengetahui identitas isolat melalui pendekatan morfologis, biokimiawi, fisiologis, dan kebutuhan nutrisinya. Pengamatan morfologi meliputi makromorfologi koloni pada medium NA dan mikromorfologi menggunakan pewarnaan Gram. Uji biokimia meliputi uji katalase, oksidase, kemampuan oksidatif-fermentatif, dan fermentasi terhadap beberapa jenis karbohidrat. Pengujian fisiologis dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh isolat pada suhu dan pH berbeda. Kebutuhan nutrisi untuk mengetahui sumber karbohidrat yang digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon.

Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif untuk menilai kemampuan bakteri pada salinitas tinggi dan potensinya agen PGPR. Penentuan identitas bakteri dilakukan dengan mengidentifikasi hasil pengamatan morfologi, fisiologi, dan biokimiawi berdasarkan Bergeys Manual of Determinative Bacteriology Second Edition.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Rizobakteri

Hasil pengukuran suhu dan kelembapan tanah pada rizosfer tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) di lahan pesisir di desa Kaliwlingi, kecamatan Brebes Kabupaten Brebes pada 3 lokasi pengambilan sampel, berturut-turut berkisar 25-34,2°C, dan 44%-50%. Nilai pH tanah berkisar antara 7,5-8 dan konduktivitas listrik (EC) berkisar antara 4,5-5 mS/cm (Tabel 1). Kisaran suhu dan kelembapan ini masih tergolong optimal bagi pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme tanah, terutama bakteri rizosfer, yang umumnya tumbuh baik pada suhu 25–37°C (Xu et al., 2018). Kelembapan tanah yang stabil sangat berperan dalam menjaga aktivitas metabolik mikroba serta ketersediaan air bagi tanaman (Chowdhury et al., 2011). Nilai pH pada ketiga titik lokasi ini cenderung netral menuju ke basa, yang masih mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme dan kondisi pH ini akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Rousk et al., 2010). Kondisi tanah yang agak basa berkaitan dengan kadar garam yang tinggi. Nilai EC ketiga lokasi yang berkisar 4,5-5 mS/cm termasuk dalam golongan tanah salin rendah hingga tinggi (Shrivastava & Kumar, 2015). Tanah bersalinitas tinggi, khususnya pada tanah sodik yang mengandung natrium berlebih menyebabkan peningkatan pH serta mengganggu ketersediaan unsur hara melalui pengendapan atau fiksasi, seperti terbentuknya senyawa kalsium fosfat dan berkurangnya kelarutan unsur mikro. Hal tersebut berdampak terhadap terganggunya pertumbuhan tanaman akibat defisiensi hara (Rengasamy, 2010).

Hasil isolasi bakteri dari rizosfer bawang merah di lahan salin didapatkan sebanyak 30 isolat bakteri

Tabel 1. Hasil Pengukuran Suhu, pH, dan Kelembapan, EC Tanah Rizosfer Bawang Merah di Kaliwlingi

Lokasi Sampling	Suhu (°C)	pH	Kelembapan(%)	Konduktivitas Listrik /EC (mS/cm)
1	25	7,9	45	5
2	34,5	7,5	50	4,5
3	28	8	49	5

Keterangan: Lokasi sampling (1, 2, 3) menunjukkan jarak (km) dari pesisir pantai.

murni. Sebanyak 8 isolat berasal dari medium Yeast Mannitol Agar (YMA) + Congo red, 13 isolat murni didapat dari medium NA+ NaCl mS/cm, 5 isolat bakteri murni dari medium Pikovskaya Agar, dan 4 isolat bakteri dari medium Alexandrov Agar. Sebanyak 30 isolat diuji kemampuannya pada medium NB+ NaCl 3-8 %. Hasil menunjukkan sebanyak lima isolat yaitu isolat K4K3, K3AM1, K4IS1, K3RZ1, dan K3IS4 (Tabel 2) mampu tumbuh baik pada medium NB dengan salinitas 3–8% NaCl (EC setara hingga 19 mS/cm). Kemampuan ini menunjukkan bahwa isolat tersebut tergolong halotoleran. Studi sebelumnya oleh Mapelli *et al.* (2013) dan Hanin *et al.* (2016) juga menunjukkan bahwa bakteri dari tanah salin memiliki adaptasi osmotik, misalnya melalui produksi senyawa kompatibel seperti prolin dan glisin betain.

Tabel 2. Hasil seleksi rizobakteri tahan salin

Kode Isolat	Lokasi sampling	Toleransi NaCl 8 % (19 mS/cm)
K3K4	3	+
K3AM1	3	+
K4IS1	4	+
K3RZ1	3	+
K3IS4	3	+

Keterangan: + (dapat tumbuh di NaCl 8%)

Tingginya toleransi isolat bakteri terhadap dapat disebabkan oleh kemampuan adaptasi alami terhadap tekanan osmotik di lingkungan pesisir serta kemampuan mereka membentuk biofilm atau eksopolisakarida (EPS) yang melindungi sel dari stres ionik (Vardharajula *et al.*, 2011). Mekanisme PGPR dalam membantu pertumbuhan tanaman terhadap cekaman salinitas antara lain melalui ketersediaan nitrogen, fosfor dan kalium, serta mengatur kadar hormon (Shultana *et al.*, 2022). Menurut Gao *et al.* (2022), PGPR mampu meningkatkan toleransi garam pada tanaman melalui mekanisme penginduksian sistem antioksidan, menjaga keseimbangan air di dalam tanaman, melepaskan fosfor dan kalium yang tidak larut dalam tanah, mengkelat besi, dan mengikat nitrogen atmosfer, menyerap K^+ secara selektif dan mengeluarkan Na^+ untuk mempertahankan K^+/Na^+ yang tinggi, mengeluarkan eksopolisakarida (EPS) yang akan membentuk biofilm sebagai pelindung untuk mengurangi toksisitas Na^+ , menjaga kadar hormon tanaman, dan meningkatkan zat pengatur osmotik. Shahid *et al.* (2018) melaporkan bahwa PGPR mampu meningkatkan toleransi tumbuhan terhadap stress. Melalui mekanisme seperti produksi hormon giberelin, IAA dan elemen lainnya yang mampu meningkatkan luas permukaan dan panjang akar. PGPR juga mampu meningkatkan kandungan nutrisi sehingga mampu membantu tumbuhan dalam mengatasi stress salinitas.

Uji Potensi sebagai kandidat PGPR

Hasil uji potensi kelima isolat bakteri (K4K3, K3AM1, K4IS1, K3RZ1, dan K3IS4) asal rizosfer bawang merah sebagai kandidat PGPR menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki kemampuan menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium, memproduksi IAA, serta menghasilkan siderofor (Tabel 3). Kemampuan penambatan nitrogen oleh isolat bakteri membantu ketersediaan nitrogen dalam bentuk yang dapat diserap tanaman, terutama pada tanah marginal dengan kandungan nitrogen rendah (Glick, 2012). Bakteri penambat nitrogen tetap dapat bekerja dengan memproduksi nitrogenase yang tahan terhadap tekanan osmotik tinggi, dan menggunakan sistem pompa ion, serta mengakumulasi osmolit kompatibel seperti prolin dan glisin betain untuk menjaga kestabilan sel (Wang *et al.*, 2020).

Nilai pelarutan fosfat tertinggi sebesar 13,04 ppm ditunjukkan oleh isolat K4K3. Isolat bakteri dengan kemampuan sebesar itu berpotensi tinggi dalam penyediaan P terlarut (Singh *et al.*, 2014). Mekanisme utama pelarutan fosfat oleh bakteri adalah melalui produksi asam organik, seperti asam glukonat dan sitrat, yang dapat menurunkan pH lokal dan melarutkan kompleks fosfat yang tidak larut. Pada kondisi tanah salin, bakteri pelarut fosfat yang toleran terhadap garam akan tetap menghasilkan asam organik dan enzim fosfatase yang aktif, sehingga membantu melepaskan fosfat dari senyawa tak larut seperti kalsium fosfat (Hameeda *et al.*, 2008).

Kemampuan tertinggi dalam pelarutan kalium ditunjukkan oleh isolat K3IS4 pada medium Alexandrov agar. Bakteri pelarut kalium bekerja melalui mekanisme pelapukan mineral silikat yang mengandung K seperti mikas dan feldspar. Dalam kondisi salin, kemampuan ini tetap berfungsi karena bakteri tersebut mampu mengeluarkan asam organik dan enzim yang mempercepat disolusi mineral, meskipun berada dalam tekanan osmotik tinggi (Meena *et al.*, 2015).

Produksi IAA hingga 1,66 ppm ditunjukkan oleh isolat K3IS4. Nilai ini sebanding dengan yang dilaporkan oleh Egamberdieva *et al.* (2017), yang menunjukkan bahwa bakteri rizosfer halotoleran mampu memproduksi IAA antara 1,5–3,5 ppm pada kondisi salinitas tinggi. Produksi IAA oleh bakteri juga sangat berperan dalam merangsang pertumbuhan akar tanaman. IAA yang diproduksi oleh PGPR saat kondisi salin dapat membantu tanaman dalam memperpanjang sel akar dan meningkatkan perkembangan akar lateral, sehingga meningkatkan kemampuan tanaman menyerap air dan unsur hara meskipun dalam kondisi cekaman (Egamberdieva *et al.*, 2008).

Karakter tambahan dari kelima isolat adalah kemampuannya dalam menghasilkan siderofor, sehingga bakteri mampu meningkatkan ketersediaan besi bagi tanaman di tanah salin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu memproduksi siderofor yang ditandai dengan

Tabel 3. Karakteristik isolat bakteri asal rizosfer bawang merah sebagai kandidat PGPR

Kode Isolat	Penambat Nitrogen	Pelarat Fosfat (ppm)	Pelarat kalium (Indeks Kelarutan Kalium)	Penghasil Siderofor	Konsentrasi IAA (ppm)
K4K3	+	13,13	2,5	+	1,65
K3AM1	+	9,71	-	+	1,23
K4IS1	+	7,42	3,25	+	1,31
K3RZ1	+	6,53	3,16	+	1,28
K3IS4	+	4,95	5,6	+	1,66

Keterangan: + (Bakteri dapat menambat nitrogen atau siderofor)

terbentuknya zona bening pada medium CAS agar. Produksi siderofor ini sangat penting mengingat pada kondisi salin, ketersediaan besi seringkali terhambat karena interaksi ion-ion garam di tanah (Ahmed dan Holmström, 2014). Dengan kemampuan ini, isolat memiliki potensi dalam membantu tanaman memperoleh Fe yang esensial dalam proses fotosintesis dan respirasi.

Uji antagonis antar isolat bakteri

Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa sebagian besar isolat tidak saling menghambat, kecuali kombinasi antara K3RZ1 dan K3AM1. Hal ini menunjukkan bahwa empat isolat kecuali isolat K3RZ1 atau K3AM1 berpotensi untuk dikembangkan sebagai konsorsium bioinokulan. Sinergisme antar mikroba PGPR sangat penting karena dapat meningkatkan efektivitas untuk mendukung pertumbuhan tanaman di lahan marginal (Ahmad *et al.*, 2021). Kombinasi isolat yang tidak antagonis memungkinkan peningkatan kinerja melalui pembagian fungsi metabolik dan perbaikan mikrobioma tanah.

Uji Aktivitas Nitrogenase menggunakan metode ARA

Isolat bakteri penambat nitrogen yang tidak saling antagonis diukur aktivitas nitrogenase berdasarkan metode ARA. Hasil pengukuran menunjukkan kemampuan yang cukup tinggi, yaitu 0,066 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL}/\text{jam}$ untuk isolat K4IS1 dan 0,044 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL}/\text{jam}$ untuk isolat K3IS4. Hasil ini dibandingkan dengan hasil penelitian oleh Goswami *et al.* (2014), yang melaporkan kisaran 0,03–0,07 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mL}/\text{jam}$ untuk bakteri *Paenibacillus polymyxa* pengikat nitrogen dari lahan salin, hasil ini cukup kompetitif. Aktivitas nitrogenase yang tinggi mungkin dipengaruhi oleh kondisi medium yang optimal dan potensi metabolik masing-masing isolat.

Karakterisasi Bakteri

Isolat K3AM1 memiliki karakteristik morfologi berbentuk batang, Gram positif, motil, dan tidak membentuk spora dominan. Koloni berwarna putih kekuningan dengan tepi rata dan permukaan halus. Hasil uji fisiologi menunjukkan isolat tersebut mampu tumbuh pada pH 4 hingga 9, suhu ruang hingga 37°C, serta toleran terhadap salinitas hingga 5% NaCl. Isolat ini positif katalase dan oksidase, serta mampu

memfermentasi glukosa dan sukrosa. Berdasarkan karakteristik tersebut, isolat ini diidentifikasi sebagai spesies anggota genus *Bacillus* non-spora dominan. Menurut Bergey's Manual, beberapa spesies *Bacillus* non-spora seperti *Bacillus subtilis* group diketahui bersifat PGPR dengan kemampuan menghasilkan IAA, pelarat fosfat dan kalium, serta toleran terhadap stres abiotik (Vardharajula *et al.*, 2011).

Isolat K4IS1 memiliki morfologi sel kokus, Gram positif, motil, tidak membentuk endospora, dan tersusun dalam tetrad maupun agregat tidak teratur. Koloni berwarna kuning hingga oranye, bulat, cembung, dan tidak menyerap Congo red. Isolat ini tumbuh optimal pada pH netral hingga alkali, suhu 28–37°C, dan dapat mentoleransi salinitas tinggi (hingga 5% NaCl). Hasil uji biokimia menunjukkan positif katalase dan oksidase, serta mampu memfermentasi berbagai gula seperti glukosa, arabinosa, dan maltosa. Berdasarkan karakteristik tersebut, isolat ini teridentifikasi sebagai *Kocuria rhizophila*.

Isolat K3RZ1 menunjukkan sel berbentuk batang pendek hingga ovoid, Gram negatif, motil, dan koloni berwarna merah muda pucat pada medium YMA + Congo red, dengan kemampuan tidak menyerap pewarna. Isolat ini tumbuh baik pada suhu ruang hingga 37°C, pH 4 hingga 9, serta toleran terhadap 3% NaCl, positif katalase, negatif oksidase, bersifat fermentatif, dan mampu menggunakan glukosa serta sukrosa sebagai satu-satunya sumber karbon. Berdasarkan morfologi koloni, karakter biokimia, ifisiologi, dan nutrisi, isolat ini diduga merupakan anggota genus *Rhizobium* atau Ensifer. Menurut Holt *et al.* (1994), *Rhizobium* merupakan diazotrof simbiotik dan bebas yang umum dijumpai di rizosfer, serta dikenal sebagai PGPR klasik yang mampu memfiksasi nitrogen dan meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Isolat K3IS4 memiliki morfologi sel batang lurus, Gram negatif, motil, dan tidak membentuk spora. Koloni berwarna putih hingga kekuningan, berbentuk tidak teratur, serta bersinar (fluoresen) pada medium King's B. Isolat tumbuh baik pada suhu ruang dan 37°C, pH 4–9, serta salinitas hingga 5% NaCl. Uji biokimia menunjukkan positif katalase dan oksidase, serta mampu memfermentasi glukosa dan sukrosa. Berdasarkan ciri-ciri tersebut, isolat ini diperkirakan spesies anggota *Pseudomonas fluorescens* (Ramamoorthy *et al.*, 2001; Weller, 2007).

Tabel 4. Hasil karakterisasi isolat K3AM1, K4IS1, K3RZ1, K3IS1, dan K4K3 asal rizosfer bawang merah

Karakter	Kode Isolat				
	K3AM1	K4IS1	K3RZ1	K3IS1	K4K3
Morfologi					
Ukuran Koloni	Moderate	Punctiform	Small	Point	Small
Bentuk Koloni	Circuler	Circuler	Circuler	Circular	Circuler
Elevasi Koloni	Flat	Flat	Flat	Flat	Flat
Margin Koloni	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire
Warna Koloni	Cream	Cream	Pink (YMA)	Kuning	Pink
Permukaan Koloni	Mengkilap	Mengkilap	Mengkilap	Mengkilap	Kusam
Morfologi Sel					
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Coccus	Coccus
Gram	+	-	-	+	+
Endospora	-	-	-	-	-
Motilitas	+	+	+	+	+
Uji Fisiologi Suhu (°C)					
SR	+	+	+	+	+
37 °C	+	+	+	+	+
50 °C	+	-	+	+	+
pH					
4	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	-
Salinitas (%)					
3	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
Uji Biokimia					
Oksidase	-	+	-	-	+
Katalase	+	+	+	+	+
Fruktosa	-	-	-	+	+
Maltosa	+	+	+	-	+
Laktosa	+	+	+	-	+
Arabinosa	-	+	-	+	+
Mannosa	+	+	+	+	-
Glukosa	+	+	-	+	-
Oksidatif	+	+	+	+	+
Fermentatif	+	+	+	+	+
Uji Nutrisional					
Fruktosa	-	+	+	-	+
Laktosa	-	+	+	+	-
Sukrosa	-	+	+	+	+
Maltosa	-	-	+	+	-
Galaktosa	-	+	+	+	-

Isolat K4K3 memiliki karakteristik morfologi sel kokus, Gram positif, motil, dan tersusun dalam tunggal maupun berantai, tidak membentuk endospora, dan bersifat fakultatif anaerob. Koloni berwarna pink hingga oranye, bulat, dan permukaan cembung. Uji biokimia menunjukkan hasil positif terhadap katalase dan oksidase, serta mampu memfermentasi berbagai gula seperti fruktosa, laktosa, maltosa, arabinosa, dan mannososa. Isolat tumbuh baik pada kondisi alkali, suhu hingga 45–50°C, serta toleran terhadap salinitas tinggi. Berdasarkan karakteristik ini, isolat teridentifikasi sebagai anggota spesies *Kocuria rosea*, salah satu spesies aktinobakteria halotoleran (Afridi et al., 2021).

Kelima isolat yang telah diidentifikasi menunjukkan potensi kuat sebagai agen PGPR di lingkungan salin. Isolat K3AM1 yang termasuk kelompok *Bacillus* non-spora dominan diketahui mampu menghasilkan IAA, melarutkan fosfat dan kalium, serta meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stres abiotik (Vardharajula et al., 2011). Isolat K4IS1 yang diidentifikasi sebagai *Kocuria rhizophila* memiliki kemampuan serupa dan adaptasi baik di kondisi salin (Khan et al., 2020). Isolat K3RZ1 dari genus *Rhizobium* atau *Ensifer* berpotensi dalam fiksasi nitrogen yang berkontribusi terhadap pertumbuhan tanaman di tanah marginal (Holt et al., 1994). Isolat K3IS4, yang merupakan *Pseudomonas fluorescens*, dikenal sebagai agen multifungsi penghasil siderofor, IAA, serta berperan dalam biokontrol patogen (Weller, 2007; Ramamoorthy et al., 2001). Sementara itu, isolat K4K3 sebagai *Kocuria rosea* memiliki ketahanan terhadap stres lingkungan dan mampu menghasilkan metabolit bioaktif yang mendukung pertumbuhan tanaman (Afridi et al., 2021). Karakteristik ini memperkuat peluang pengembangan kelima isolat sebagai bioinokulan untuk meningkatkan produktivitas di lahan salin.

SIMPULAN

Lima isolat rizobakter asal rizosfer bawang merah yang tumbuh di tanah salin berhasil diisolasi, yaitu isolat K4K3, K3AM1, K4IS1, K3RZ1, dan K3IS4. Kelima isolat memiliki karakteristik sebagai agen PGPR karena mampu menambat N₂, melarutkan P dan K, menghasilkan IAA dan siderofor. Berdasarkan karakterisasi morfologi, fisiologi, biokimia, dan nutrisi yang merujuk pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 2nd Edition, isolat K4K3 teridentifikasi sebagai *Kocuria rosea*, isolat K3AM1 adalah spesies anggota *Bacillus subtilis*, isolat K4IS1 adalah spesies anggota *Kocuria rhizophila*, isolat K3RZ1 adalah anggota *Rhizobium* sp., dan K3IS4 adalah spesies anggota *Pseudomonas fluorescens*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Kementerian Keuangan Republik Indonesia atas dukungan pendanaan riset ini melalui skema beasiswa pendidikan. Terima kasih juga disampaikan kepada seluruh dosen pembimbing dan pihak-pihak yang telah memberikan bantuan selama proses penelitian berlangsung.

DAFTAR REFERENSI

- Afridi, M.S., Van Hamme, J.D., Bundschuh, J., Sumaira, Khan, M.N., Salam, A., Waqar, M., Munis, M.F.H. and Chaudhary, H.J., 2021. Biotechnological approaches in agriculture and environmental management-bacterium *Kocuria rhizophila* 14ASP as heavy metal and salt-tolerant plant growth-promoting strain. *Biologia*, 76(10), pp. 3091-3105. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00826-6>.
- Aini, N., Yamika, W. S. D., Aini, L. Q., Azizah, N., & Sukmarani, E. 2019. Pengaruh Rhizobacteria pada pertumbuhan dan hasil tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) pada Kondisi Salin. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 10(3), pp. 182-189. <http://dx.doi.org/10.29244/jhi.10.3.182-189>
- Amalia, D.A.L., Oedjijono, O. and Purwanto, P., 2020. Eksplorasi Bakteri Diazotrof dari Rizosfer Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) di Brebes, Jawa Tengah. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 2(3), pp. 464-478. <https://doi.org/10.20884/1.bioe.2020.2.3.3480>
- 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), pp. 86-99. <https://doi.org/10.22373/ekw.v5i2.4356>
- Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Shurigin, V.V., Hashem, A. & Abd-Allah, E.F. 2019. Endophytic bacteria improve plant growth, symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and alter root system architecture. *Symbiosis*, 77(1), pp. 83–89. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01887>
- Hameeda, B., Harini, G., Rupela, O.P., Wani, S.P. & Reddy, G. 2008. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological Research*, 163(2), pp. 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.05.009>

- Hawayanti, D. & Palmasari, A. 2018. Pengaruh penggunaan pupuk anorganik berlebihan terhadap kualitas tanah dan lingkungan. *Jurnal Agroekoteknologi*, 6(2), pp. 145–152.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. & Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Montes-Luz, C., Rodríguez-Arce, A., Serrano-Sánchez, A., & Patiño-Barragán, M. 2023. Acetylene reduction assay revisited: insights into nitrogenase activity under abiotic stress. *Environmental Microbiology Reports*, 15(1), pp. 88–95. <https://doi.org/10.1002/cpz1.766>
- Ramadani, A., Oedjijono, O., Pramono, H. and Pratiwi, M., 2025. Kemampuan Bakteri Halotoleran dari Sedimen Mangrove Pantai Logending dalam Pelarutan Fosfat dan Penambatan Nitrogen. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 7(1), pp. 76-83.8. <https://doi.org/10.20884/1.bioe.2025.7.1.14854>
- Sarwar, S., Khaliq, A., Yousra, M., Sultan, T., Ahmad, N. and Khan, M.Z., 2020. Screening of siderophore-producing PGPRs isolated from groundnut (*Arachis hypogaea* L.) rhizosphere and their influence on iron release in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(12), pp. 1680-1692. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1791159>
- Shahid, M., Khan, M.S. & Khan, M.Y. 2018. Enhancing plant growth and soil fertility through microbial inoculants. In: R. Ansari, S. Wani & A. Gafur, eds. *Plant microbiome: stress response*. Springer, pp. 23–47.
- Sharma, S., Sharma, R. & Rajput, M. 2021. Quantitative estimation of phosphate solubilization by rhizobacteria from saline soils using modified Pikovskaya's broth. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 11(1), pp. 15–21.
- Shrivastava, P. & Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), pp. 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
- Siddiqui, Z.A., Mahmood, I. & Ahmad, S. 2021. Role of potassium-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. *Potassium and Agriculture*, 2(1), pp. 78–89.
- Singh, R.K., Singh, P. & Kumar, M. 2014. Phosphate solubilizing microorganisms: potential and challenges of using them in sustainable agriculture. *Acta Biologica Indica*, 3(2), pp. 269–276.
- Vardharajula, S., Ali, S.Z., Grover, M., Reddy, G. & Bandi, V. 2011. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(1), pp.1–14. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.535178>
- Wang, X., Zhang, F., Li, H. & Wang, X. 2020. Mechanisms of rhizobacteria and their role in plant growth promotion in saline soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(3), pp. 715–725.
- Weller, D.M. 2007. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. *Phytopathology*, 97(2), pp.250–256. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-2-0250>
- Xu, X., Thornton, P.E. & Post, W.M. 2018. A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen, and phosphorus in terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, 22(6), pp. 737–749. <https://doi.org/10.1111/geb.12029>