
BIOFARM
Jurnal Ilmiah Pertanian
ISSN Print: 0216-5430; ISSN Online: 2301-6442
Vol. 21 No. 1, April 2025

Potensi Bakteri Pelarut Zn dari Rizosfer Padi

Potential of Zn Solubilizing Bacteria from Rice Rizosphere

Prasasti Wahyu Haryati*[1], Oedjijono[1], Purwanto[2]
[1] Program Studi Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman
[2]Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertaninan, Universitas Jenderal Soedirman
* Korespondensi Penulis: prasasti.june@gmail.com

ABSTRAK
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 dan menyaring bakteri pelarut Zn (ZSB) dari rhizosfer tanaman padi serta menguji efisiensinya dalam melarutkan tiga bentuk senyawa Zn, yaitu ZnO, $ZnCO_3$, dan ZnS secara kualitatif. Sampel tanah dikoleksi dari rizosfer padi, diisolasi menggunakan medium *Mineral Salt Medium* (MSM), dan diuji kemampuan pelarutan Zn melalui pembentukan zona bening di sekitar koloni. Sebanyak sepuluh isolat diisolasi, Pelarutan Zn tertinggi (4,5) diukur untuk isolat J2O1 ketika terpapar pada kultur media MSM yang dimodifikasi ZnO, sedangkan ZnS menunjukkan pelarutan Zn terendah (1,38) oleh ZSB. Selain itu, sepuluh isolat bakteri pelarut Zn juga menunjukkan sifat-sifat pemacu pertumbuhan tanaman (plant-growth-promoting, PGP), termasuk kemampuan fiksasi nitrogen, produksi asam asetat indol, pelarutan fosfat. Tiga isolat terpilih (J105, J107, dan K201) menunjukkan efisiensi pelarutan Zn pada lebih dari satu bentuk senyawa Zn tidak larut pada seng oksida (ZnO), seng karbonat (ZnCO3), dan seng sulfida (ZnS). Karakteristik ini menunjukkan bahwa isolat terpilih memiliki potensi sebagai biofertilizer pelarut Zn yang efektif untuk meningkatkan ketersediaan Zn dalam tanah sawah.

Kata Kunci: Defisiensi Zn, Bakteri pelarut Zn, isolasi, kelarutan Zn, tanaman padi

ABSTRACT
Zinc (Zn) is one of the essential micronutrients that plays an important role in plant growth and productivity. Zn deficiency can disturb plant metabolism, there by inhibiting growth. The availability of Zn in plants is not only limited by low total Zn concentrations but also by low Zn solubility in the soil. Therefore, one approach that can be taken is to utilize soil microorganisms, particularly bacteria, to convert insoluble zinc into soluble zinc, there by enhancing its availability and the plant's ability to absorb it.This study aims to isolate and screening Zn-solubilizing bacteria (ZSB) from the rhizosphere of rice plants and to evaluate their efficiency in solubilizing three forms of Zn compounds, namely ZnO, $ZnCO_3$, and ZnS qualitatively. Soil samples were collected from the rhizosphere of rice, isolated using Mineral Salt Medium (MSM), and tested for Zn solubilizing ability through the formation of clear halos around bacterial colonies. A total of ten isolates were isolated, The highest Zn solubilizing (4.5) was measured for isolate J2O1 when exposed to ZnO-modified MSM medium culture, while ZnS showed the lowest Zn solubilizing (1.38) by ZSB. In addition, ten Zn-solubilizing bacterial isolates also exhibited plant-growth-promoting (PGP) traits, including nitrogen fixation ability, indole acetic acid production, phosphate solubilization. Three selected isolates (J105, J107, and K201) showed Zn solubilization efficiency in more than one form of insoluble Zn compounds in zinc oxide (ZnO), zinc carbonate (ZnCO3), and zinc sulfide (ZnS). These characteristics indicate that the selected isolates have potential as Zn-solubilizing biofertilizers to enhance Zn availability in paddy soils.

Keywords: *Zn deficiency, Zn-solubilizing bacteria, isolation, Zn solubilization, rice plant.*

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan pokok bagi sebagian besar penduduk dunia, termasuk Indonesia. Produktivitas padi sangat dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara, termasuk unsur hara mikro seperti seng (Zn). Seng (Zn) adalah salah satu unsur hara mikro yang sangat esensial yang dibutuhkan di sepanjang siklus hidup padi (Höller *et al*., 2014). Seng (Zn) merupakan salah satu dari 17 hara mineral esensial dan berperan penting dalam pertumbuhan tanaman, struktur enzim, fotosintesis, perkembangan serbuk sari,

metabolisme karbohidrat, sintesis protein, permeabilitas membran, dan metabolisme auksin. Defisiensi Zn dapat mengganggu metabolisme tanaman, menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan klorosis daun, yang dapat mengganggu asupan nutrisi. Oleh karena itu, Defisiensi Zn menjadi salah satu Kendala utama dalam budidaya padi, sehingga dapat mengancam produksi pangan dunia (Alloway, 2009). Defisiensi Zn tidak hanya menghambat produktivitas tanaman, namun secara signifikan mengurangi kandungan Zn pada tanaman seperti benih atau tongkol, sehingga berdampak negatif pada kualitas nutrisinya. Hal ini menyebabkan masalah gizi dan kesehatan manusia terutama pada anak anak (Zhang *et al*., 2017).

Defisiensi Zn merupakan masalah umum pada tanah sawah, terutama pada kondisi tergenang, maka kandungan Zn tersedia akan menurun. Penggenangan tanah meningkatkan pH tanah, konsentrasi ion bikarbonat dan pembentukan seng sulfida (ZnS) yang tidak larut karena tanah sangat reduktif. Kondisi reduksi pada tanah yang tergenang air juga menimbulkan peningkatan konsentrasi ion besi divalent (Fe^{2+}) dan mangan (Mn^{2+}), dari pelarutan oksida hidratnya Aktivitas ion-ion tersebut sangat mempengaruhi penyerapan Zn oleh akar tanaman (Alloway, 2008).

Bakteri pelarut seng memiliki kemampuan dalam memobilisasi seng yang terikat kuat pada partikel tanah. Proses ini melibatkan produksi senyawa organik seperti asam organik (sitrat, malat, oksalat) yang dapat menurunkan pH lingkungan sekitar sel bakteri. Penurunan pH ini melemahkan ikatan antara seng dan partikel tanah. Selain itu, bakteri juga menghasilkan siderofor, molekul yang memiliki afinitas tinggi terhadap ion logam seperti seng. Siderofor mengikat ion seng dan membentuk kompleks yang lebih mudah larut dalam air, sehingga mudah diambil oleh bakteri. Beberapa bakteri juga menghasilkan enzim spesifik yang mampu memecah senyawa organik kompleks yang mengikat seng (Srithaworn *et al*., 2023). Bakteri pelarut Zn menghasilkan senyawa organik asam yang mampu melepaskan ion seng dari bentuk terikatnya. Dengan demikian, ketersediaan seng bagi tanaman meningkat (Saravanan *et al*., 2007).

Ahmed *et al*., (2016) melaporkan bahwa inokulasi dengan *Enterobacter cloacae* saja atau dengan aplikasi seng yang berbeda secara bervariasi meningkatkan persentase kandungan seng Zea mays. Kamran *et al*., (2017) melaporkan bahwa terjadi peningkatan panjang dan berat pucuk dan akar serta kandungan seng pada tanaman gandum yang diinokulasi bakteri pelarut seng *Pseudomonas fragi*, *E. cloacae*, dan *Rhizobium sp*. Sedangkan Yasmin *et al*., (2021) menunjukkan bahwa pada perlakuan dengan bakteri pelarut Zn *P. protegens* strain RY2 dan ZnO sebagai sumber seng, kandungan seng pada akar dan pucuk secara signifikan ($P \leq 0{,}05$) lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan kontrol. Strain *Bacillus altitudinis* mampu melarutkan Zn, melarutkan fosfor anorganik dan menunjukkan berbagai sifat pemacu pertumbuhan tanaman serta secara signifikan meningkatkan penyerapan seng dan pertumbuhan tanaman buncis (*Cicer arietinum* L.) (Kushwaha *et al*., 2021).

Rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR) adalah bakteri yang mengkolonisasi rhizosfer, berkembang biak dan bersaing dengan bakteri lain untuk mendorong pertumbuhan tanaman (Kamran *et al*., 2017). Berbagai PGPR telah terbukti menjadi pelarut seng yang efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyaring rizobakteri pelarut seng pada rhizosfer padi sehingga dapat menjadi solusi alternatif untuk mengatasi ketidakketersediaan Zn dalam tanah.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Rizosfer

Sampel tanah rizosfer berasal dari lahan pertanian padi, Sampel tanah diambil pada kedalaman 30-40 cm dari 4 titik lokasi berbeda yaitu desa Kedungwringin dan Karanganyar Kecamatan Jatilawang, Kabupaten Banyumas, serta desa Mujur dan Kedawung Kecamatan Kroya, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah.

Isolasi Bakteri (modifikasi dari Othman *et al*., 2022 dan Yasmin *et al*., 2021)

Sebanyak 10 gram tanah rizosfer padi dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer berisi

90 mL larutan garam fisiologis steril (10^{-1}) dan dicampur secara menyeluruh menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit (Yasmin *et al*., 2021). Kemudian dilakukan pengenceran secara serial, diambil 1 mL ekstrak tanah dari labu erlenmeyer dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL garam fisiologis steril (10^{-2}), kemudian dihomogenkan lalu dilanjutkan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6}. Medium MSM (*mineral salt medium*) disiapkan yang mengandung dekstrosa 10 g, $(NH_4)_2$ SO_4 1 g, KCl 0,2 g, K_2HPO_4 0,1 g, $MgSO_4$ 0,2 g dalam akuades (1000 mL dan pH disesuaikan 7,0), senyawa Zn yang tidak larut (yaitu ZnO, $ZnCO_3$ dan ZnS: 0,1%) dan agar 15,0 g kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121℃ selama 20 menit (Othman *et al*., 2022). Hasil pengenceran 10^{-4}, 10^{-5} dan 10^{-6} sampel tanah rizosfer padi diambil sebanyak 1 mL dengan pipet steril, dan dikultivasikan secara *pour plate* ke medium garam mineral yang etlah dimodifikasi selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 2 - 7 hari. Adanya pertumbuhan koloni bakteri dengan zona bening di sekitar koloni merupakan tanda pelepasan Zn. Isolat tersebut kemudian diisolasi sebagai strain pelarut Zn yang tidak larut. Koloni dimurnikan pada medium nutrient agar (Hashemnejad *et al*., 2021).

Skrining Rizobakteri

Uji pelarutan Zn

Isolat-isolat yang telah dimurnikan dievaluasi kemampuannya dalam melarutkan Zn melalui metode *plate assay*. Penilaian kualitatif pelarutan seng akan dilakukan dengan cara masing-masing isolat diinokulasikan ke dalam medium MSM modifikasi Zn. Masing-masing isolat bakteri yang telah dikultur semalam diinokulasikan pada media MSM modifikasi Zn, kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang (Irmadamayanti *et al*., 2023). Diameter koloni dan zona bening yang terbentuk diukur setelah 7 hari. Indeks pelarutan seng (IP) diukur berdasarkan uji *plate agar* ditentukan dengan menggunakan persamaan rumus sebagai berikut :

$$\text{IP} = \frac{\text{diameter koloni + diameter halozone}}{\text{Diameter koloni}}$$

(Naseer et al., 2020)

Uji Produksi asam indol-3-asam asetat (IAA)

Uji kemampuan produksi IAA dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada 10 mL medium NB+ L-Triptofan 2%, diinkubasi 3 x 24 jam. Larutan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 10 menit. Sebanyak 0,5 mL supernatan diambil dan ditambahkan ke dalamnya 1,5 mL reagen Salkowski, kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit. Larutan selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm. Nilai absorbansi ditiap sampel kemudian dimasukan ke dalam persamaan IAA, sehingga diperoleh konsentrasi IAA Isolat (Amalia *et al*., 2020).

Uji penambatan Nitrogen

Uji penambatan N dilakukan dengan media *Nitrogen free Bromtimolblue* (NFb) semi Solid. Isolat diinokulasikan pada media NFb berdasarkan modifikasi metode (Baldani *et al*., 2014) dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru.

Uji pelarutan Fosfat

Uji pelarutan fosfat secara kualitatif dilakukan dengan cara sebanyak satu ose kultur padat isolat bakteri diinokulasikan secara aseptis dengan metode *spot inoculation* pada cawan Petri berisi medium *Pikovskaya Agar.* Inokulasi dilakukan sebanyak dua kali pengulangan pada tiap cawan. Cawan yang telah diinokulasi kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni yang tumbuh diukur diameternya. Kemampuan pelarutan fosfat (IP) diukur berdasarkan rumus :

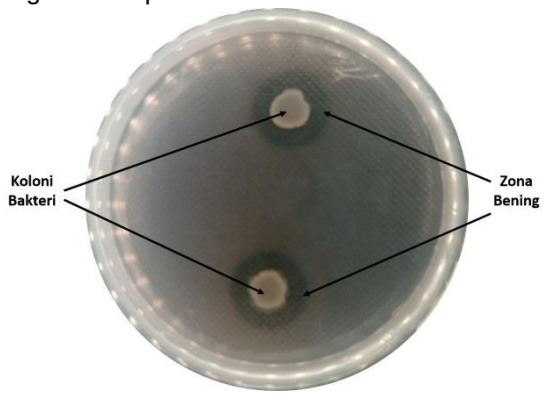
$$IP = \frac{\text{diameter koloni+diameter halozone}}{\text{diameter koloni}}$$

(Wuryanto et al., 2015)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan menyaring isolat bakteri pelarut Zn dari rizosfer padi guna mengembangkan agen hayati. 10 isolat bakteri

berhasil diisolasi diisolasi dari rizosfer tanaman padi serta memiliki kemampuan dalam melarutkan Zn tidak tersedia. Kemampuan isolat bakteri dalam melarutkan Zn secara kualitatif ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media selektif.



Gambar 1. Pelarutan Zn oleh isolat bakteri yang menunjukkan pembentukan zona bening pada media MSM.

Berdasarkan hasil pengujian secara kualitatif terhadap kemampuan isolat bakteri dalam melarutkan tiga bentuk senyawa seng, yaitu ZnO, $ZnCO_3$, dan ZnS, diperoleh variasi efisiensi pelarutan antar isolat yang diuji. Isolat J201 menunjukkan efisiensi pelarutan tertinggi terhadap ZnO sebesar 4,5, diikuti oleh J101 dengan nilai 4,37 dan J2O3 sebesar 3,77. Sementara itu, isolat dengan efisiensi pelarutan $ZnCO_3$ tertinggi adalah J105 dengan nilai 5,8, menunjukkan kemampuan tinggi dalam melarutkan bentuk karbonat seng, diikuti oleh J204 (4,44) dan J2S1 (3,93). Untuk pelarutan ZnS, meskipun nilai efisiensinya cenderung lebih rendah, beberapa isolat tetap menunjukkan kemampuan pelarutan ZnS, seperti J105 (1,68), K201 (1,66), J2O5 (1,65), dan J107 (1,63) (Tabel 1).

Table 1. Kemampuan Isolat Bakteri dalam Pelarutan ZnO, $ZnCO_3$, ZnS

no	Kode isolat	Efisiensi pelarutan ZnO	Efisiensi pelarutan $ZnCO_3$	Efisiensi pelarutan ZnS
1	J1O1	4,37	4	-
2	J1O2	2,93	-	1,38
3	J1O5	3	3,8	1,68
4	J1O7	3,47	3,64	1,63
5	J2O1	4,5	-	1,65
6	J2O3	3,77	-	2
7	J2O4	2,25	4,44	-
8	J2O5	2,67	3,21	-
9	J2S1	3	3,93	-
10	K2O1	3,44	2,39	1,66

Proses isolasi dan identifikasi bakteri rhizosfer dalam melarutkan unsur Zn telah dilakukan oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Hashemnejad *et al*., (2021) telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri Zn-solubilizing dari rizosfer, baik secara semi-kuantitatif dan kuantitatif mengevaluasi kemampuannya untuk melarutkan berbagai mineral Zn (ZnO, $ZnCO_3$ dan $Zn_3(PO_4)_2$). Dari 24 sampel tanah rizosfer, 15 strain bakteri Zn-pelarut diisolasi dan dimurnikan, terdapaat lima isolat yang ditemukan paling efisien dalam melarutkan senyawa Zn yang tidak larut diidentifikasi. Tiga dari lima isolat itu termasuk dalam genus Pseudomonas, dan dua dari Enterobacter. Indeks pelarutan tertinggi di antara tiga senyawa Zn yang tidak larut diamati pada *Pseudomonas putida* dalam media kultur yang mengandung ZnO. Di antara tiga senyawa tidak larut yang diuji, kelarutan rata-rata tertinggi oleh strain diperoleh dari ZnO, diikuti oleh $ZnCO_3$, dan $Zn_3(PO_4)_2$.

Dalam penelitian ini, semua isolat dapat melarutkan ZnO namun untuk $ZnCO_3$ dan ZnS tidak semua isolat mampu melarutkan Zn. Berdasarkan tabel kemampuan Isolat Bakteri dalam Pelarutan Zn telah ditemukan tiga isolat yakni J105, J107 dan K201 potensial karena mampu melarutkan ketiga bentuk senyawa seng, sehingga dianggap sebagai isolat yang paling potensial dalam penelitian ini. Ketiga isolat ini menunjukkan nilai efisiensi pelarutan yang relatif seimbang pada ZnO, $ZnCO_3$, dan ZnS, yang menunjukkan kapasitas metabolik bakteri dalam memobilisasi unsur Zn dari berbagai bentuk mineral.

Menurut (Masood *et al*., 2022), bakteri rhizosfer terbukti mampu melakukan pelarutan mineral termasuk Zn seperti mekanisme pengkelatan (*chelation*) terhadap berbagai mineral.Hal ini ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni pada media yang mengindikasikan kemampuan bakteri dalam melepaskan Zn melalui sekresi senyawa organik seperti asam organik atau enzim pelarut. Variasi nilai efisiensi antar isolat kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan spesies bakteri dan kemampuan fisiologis masing-masing dalam menghasilkan agen pelarut Zn (Hashemnejad *et al*., 2021; Masood *et al*., 2022)

Skrining Rizobakteri

Kesepuluh ZSB (Zinc Solubilizing Bacteria) dievaluasi lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik biokimianya (Tabel 2). Dalam hal produksi IAA, J1O1 menghasilkan IAA maksimum (0,84 mg L-1), diikuti oleh J1O5 (0,70 mg L-1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ZSB dapat melarutkan fosfat, dan persentase pelarutan fosfat berkisar antara 1,18 – 4,40. Pelarutan fosfat maksimum ditunjukkan oleh isolat J2O3 (4,40), diikuti oleh J2O1 (4,00). Selain itu, semua ZSB dinyatakan positif memiliki kemampuan fiksasi nitrogen, yang mengakibatkan media berubah warna dari hijau menjadi biru.

Table 2. Kemampuan Isolat Bakteri dalam produksi IAA, Pelarutan P dan penambatan N

no	Kode isolat	Produksi IAA	Efisiensi pelarutan P	Penambatan N
1	J1O1	0,84	2,56	+
2	J1O2	0,42	3,75	+
3	J1O5	0,70	1,18	+
4	J1O7	0,15	1,67	+
5	J2O1	0,68	4,00	+
6	J2O3	0,45	4,40	+
7	J2O4	0,50	2,25	+
8	J2O5	0,56	2,00	+
9	J2S1	0,28	1,60	+
10	K2O1	0,63	1,77	+

Isolat bakteri tersebut diketahui dapat menghasilkan IAA ketika isolat bakteri ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) dengan penambahan asam amino triptofan dan direaksikan dengan salkowski, sehingga setelah diinkubasi 30 menit pada larutan tersebut terjadi perubahan warna menjadi merah muda (Naseer *et al*., 2020). Pengujian dengan reagen Salkowski dilakukan untuk mendeteksi perubahan warna yang menandakan adanya produksi IAA (asam indol-3-asetat). Reagen ini bekerja dengan mengoksidasi senyawa indol dan turunannya. Karena IAA mengandung gugus indol, reaksinya dengan Salkowski akan menghasilkan warna merah muda. Secara kualitatif, isolat yang memproduksi IAA dapat diidentifikasi melalui perubahan warna menjadi merah muda akibat pembentukan senyawa kompleks $[Fe_2(OH)_2(IA)_4]$ dari reaksi antara IAA dan besi (Fe). Reaksi ini melibatkan dua jenis, yaitu reaksi kompleks dan reaksi redoks (Kovács *et al*., 2009).

Berdasarkan hasil penelitian melaporkan bahwa bakteri rhizosfer mampu menghasilkan berbagai fitohormon, termasuk IAA. Kemampuan isolat bakteri dalam memproduksi IAA dapat diamati dengan penambahan triptofan, yang berperan sebagai prekursor. Menurut Patil, (2011) bakteri rhizosfer umumnya mensintesis IAA melalui jalur metabolisme L-triptofan. Selain itu, triptofan telah terbukti sebagai prekursor utama dalam biosintesis auksin, baik pada tanaman maupun mikroorganisme (Nonhebel, 2015).

Menurut Larasati *et al*., (2018) Indeks pelarutan fosfat mengindikasikan bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan aktivitas enzim fosfatase serta asam-asam organik dalam jumlah yang signifikan. semakin tinggi aktivitas enzim dari bakteri pelarut fosfat, semakin luas zona bening yang terbentuk. Zona bening ini muncul karena bakteri tersebut mengubah fosfat yang tidak larut menjadi bentuk larut melalui proses pelarutan. Mekanisme ini terjadi karena bakteri menghasilkan enzim fosfatase. Enzim fosfatase termasuk dalam kelompok enzim yang berperan dalam reaksi hidrolitik untuk memecah senyawa fosfat anorganik, sehingga mengubah fosfat yang awalnya tidak larut menjadi bentuk yang larut (Ranjan *et al*., 2013).

Bakteri yang hidup di area sekitar akar tanaman, dikenal sebagai bakteri rizosfer, memiliki peran penting dalam menyuplai nutrisi esensial bagi tumbuhan (Singh, 2013). Selain itu, Susilowati *et al*., (2016) mengungkapkan bahwa bakteri ini dapat berfungsi sebagai agen pemfiksasi nitrogen yang bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman.

Bakteri penambat nitrogen berperan penting dalam mengubah nitrogen bebas di udara menjadi senyawa amonia (NH_3) dan amonium (NH_4^+), yang merupakan bentuk nitrogen yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman (Santoso & Rahmawati, 2019). Keberadaan bakteri penambat nitrogen dapat diuji dengan menumbuhkan isolat pada media semi padat NFB (*Nitrogen Free Bromothymol blue*). Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Media NFB dirancang secara selektif tanpa

kandungan nitrogen, sehingga pertumbuhan bakteri bergantung pada kemampuannya untuk mengikat nitrogen dari udara (Pratiwi *et al*., 2020). Komposisi nutrisi dalam media NFB semi padat mendukung pertumbuhan bakteri penambat nitrogen nonsimbiotik (Nurosid & Lestari, 2008). Hal ini diperkuat oleh penelitian Huslina & Harahap, (2019) yang menyebutkan bahwa asam malat dalam media NFB berfungsi sebagai sumber energi alternatif, natrium molibdat ($NaMoO_4$) meningkatkan aktivitas penambatan nitrogen, dan natrium klorida (NaCl) menjaga keseimbangan tekanan osmotik.

Perubahan warna menjadi biru pada media NFB semi padat mengindikasikan adanya aktivitas enzim nitrogenase yang menyebabkan peningkatan pH menjadi basa (Fatimah *et al*., 2022), Menurut Nurosid & Lestari, (2008) bahwa aktivitas nitrogenase oleh bakteri penambat nitrogen nonsimbiotik memicu perubahan warna tersebut. Indikator bromothymol blue dalam media NFB akan berubah warna menjadi biru dalam kondisi basa (Fatimah *et al*., 2022).

Bakteri dapat melarutkan unsur hara mikro seperti seng (Zn) melalui proses yang disebut pelarutan. Beberapa bakteri memiliki kemampuan alami untuk mengeluarkan senyawa organik atau asam organik ke lingkungannya. Senyawa organik tersebut mampu melarutkan seng yang terikat dalam tanah atau bahan organik sehingga menjadi bentuk yang dapat diambil oleh tanaman. Beberapa mekanisme pelarutan seng oleh bakteri adalah Produksi asam organik: Beberapa bakteri mempunyai kemampuan menghasilkan asam organik seperti asam sitrat, asam oksalat, atau asam aminopolikarboksilat. Asam-asam tersebut mampu melarutkan ikatan seng dalam tanah atau bahan organik sehingga membentuk kompleks seng-organik yang mudah diserap tanaman. Ekskresi senyawa golongan siderofor: Bakteri juga dapat mengeluarkan senyawa golongan siderofor yang berperan dalam mengikat besi namun juga mampu mengikat seng. Siderofor membantu melarutkan seng dalam tanah dan membuatnya tersedia bagi mikroorganisme dan tanaman. Proses ini dapat meningkatkan ketersediaan seng dalam bentuk yang dapat diserap tanaman. Perlu diketahui bahwa kemampuan bakteri dalam melarutkan seng dapat berbeda-beda tergantung jenis dan spesies bakteri, serta kondisi lingkungan.

Beberapa bakteri yang secara umum diketahui mempunyai kemampuan melarutkan seng antara lain Pseudomonas, Bacillus, dan Rhizobium (Irmadamayanti *et al*., 2023). Penelitian ini juga diperkuat oleh Sethi *et al*., (2025) telah mengobservasi bakteri pelarut Zn (Zinc solubilizing bacteria/ZSB) sebagai alternatif berkelanjutan, yang mampu mengubah Zn yang tidak larut menjadi bentuk yang tersedia secara hayati melalui mekanisme seperti produksi asam organik, khelasi, dan aktivitas siderofor, sehingga meningkatkan penyerapan Zn. Bakteri ini juga mampu menyuburkan dengan meningkatkan keanekaragaman mikroba, aktivitas enzim, dan struktur tanah hingga siklus nutrisi. Dalam studi lapangan menunjukkan bahwa inokulasi ZSB dapat meningkatkan hasil panen, meningkatkan kesehatan tanaman, dan meningkatkan kualitas nutrisi produk. Selain itu, integrasi ZSB ke dalam formulasi pupuk hayati semakin diminati dalam pertanian berkelanjutan dengan mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia. Oleh sebab itu, hal ini penting dalam aplikasinya di lapangan sebagai biofertilizer, terutama dalam agroekosistem padi yang memiliki kondisi tanah yang dinamis.

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengisolasi sepuluh isolat bakteri dari rhizosfer tanaman padi yang memiliki kemampuan dalam melarutkan senyawa seng (Zn) tidak larut. Dari hasil uji kualitatif, tiga isolat terpilih yaitu J105, J107, dan K201 menunjukkan efisiensi pelarutan Zn pada ketiga jenis bentuk Zn tidak larut yang digunakan (ZnO, $ZnCO_3$, dan ZnS). Selain mampu melarutkan Zn tidak larut kesepuluh isolat bakteri mampu produksi IAA, melarutkan fosfat dan memfiksasi Nitrogen. Berdasarkan hasil ini, ketiga isolat tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen pelarut Zn dalam peningkatan ketersediaan unsur mikro Zn bagi tanaman padi.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, A. E.-D., Ghazi, A., & El-Akhdar, I. (2016). Isolation and Identification of Zinc Dissolving Bacteria and Their Potential on Growth of Zea mays. *Egyptian Journal of Microbiology*, *51*(1), 29–43. https://doi.org/10.21608/ejm.2016.1092

Alloway, B. J. (2008). Zinc in Soils and Crop Nutrition. In *International Zinc Association and International Fertilizer Association* (2 ed., Vol. 16, Nomor 4). International Zinc Association And International Fertilizer Industry Association. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12420847

Alloway, B. J. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environmental Geochemistry and Health*, *31*(5), 537–548. https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4

Amalia, D. A. L., Oedjijono, O., & Purwanto, P. (2020). Eksplorasi Bakteri Diazotrof dari Rizosfer Tanaman Bawah Merah (Allium ascalonicum L.) di Brebes, Jawa Tengah. *BioEksakta : Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, *2*(3), 464. https://doi.org/10.20884/1.bioe.2020.2.3.3480

Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., & Baldani, V. L. D. (2014). The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, *384*(1–2), 413–431. https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6

Fatimah, F., Millah, A. I., Fadilah, R. L. A., Salsabila, S., Ramly, Z. A., Sugiarti, T., Nurhariyati, T., Ni'matuzahroh, N., & Affandi, M. (2022). Isolation and potency test of endophytic bacteria as nitrogen fixer from mangrove plant in Lamongan. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, *4*(1), 26–33.

Hashemnejad, F., Barin, M., Khezri, M., Ghoosta, Y., & Hammer, E. C. (2021). Isolation and Identification of Insoluble Zinc-Solubilising Bacteria and Evaluation of Their Ability to Solubilise Various Zinc Minerals. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *21*(3), 2501–2509. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00540-x

Höller, S., Meyer, A., & Frei, M. (2014). Zinc deficiency differentially affects redox homeostasis of rice genotypes contrasting in ascorbate level. *Journal of Plant Physiology*, *171*(18), 1748–1756. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.08.012

Huslina, F., & Harahap, D. (2019). Isolasi bakteri pengikat nitrogen dengan menggunakan media jensen. *Jurnal Agrotek Ummat*, *6*(2), 91–94.

Irmadamayanti, A., Jayadi, M., & Mantja, K. (2023). Isolation of potential Zn solubilizing bacteria from corn rhizosphere. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1255*(1), 2–6. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1255/1/012017

Kamran, S., Shahid, I., Baig, D. N., Rizwan, M., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Contribution of zinc solubilizing bacteria in growth promotion and zinc content of wheat. *Frontiers in Microbiology*, *8*(DEC), 2593. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02593

Kovács, K., Kuzmann, E., Fodor, F., & Vértes, A. (2009). Applications of Mossbauer Spectroscopy in Plant Physiology. *ELTE Chemistry Doctoral School, ELTE Institute of Chemistry, Budapest. Disertasi*.

Kushwaha, P., Srivastava, R., Pandiyan, K., Singh, A., Chakdar, H., Kashyap, P. L., Bhardwaj, A. K., Murugan, K., Karthikeyan, N., Bagul, S. Y., Srivastava, A. K., & Saxena, A. K. (2021). Enhancement in Plant Growth and Zinc Biofortification of Chickpea (Cicer arietinum L.) by Bacillus altitudinis. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *21*(2), 922–935. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00411-5

Larasati, E. D., Rukmi, M. I., Kusdiyantini, E., & Ginting, R. C. B. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Tanah Gambut. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, *20*(1), 1. https://doi.org/10.14710/bioma.20.1.1-8

Masood, F., Ahmad, S., & Malik, A. (2022). Role of rhizobacterial bacilli in zinc solubilization. *Microbial biofertilizers and micronutrient availability: the role of zinc in agriculture and human health*, 361–377.

Naseer, I., Maqshoof, A., Hussain, A., & Jamil. M. (2020). Potential of zinc solubilizing Bacillus strains to improve rice growth under axenic conditions. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, *57*(4), 1057–1071.

Nonhebel, H. M. (2015). Tryptophan-independent indole-3-acetic acid synthesis: critical evaluation of the evidence. *Plant physiology*, *169*(2), 1001–1005.

Nurosid, O., & Lestari, P. (2008). Kemampuan Azospirillum sp. JG3 dalam Menghasilkan Lipase pada Medium Campuran Dedak dan Onggok dengan Waktu Inkubasi berbeda. *Universitas Soedirman, Purwokerto*.

Othman, N. M. I., Othman, R., Zuan, A. T. K., Shamsuddin, A. S., Zaman, N. B. K., Sari, N. A., & Panhwar, Q. A. (2022). Isolation, Characterization, and Identification of Zinc-Solubilizing Bacteria (ZSB) from Wetland Rice Fields in Peninsular Malaysia. *Agriculture (Switzerland)*, *12*(11). https://doi.org/10.3390/agriculture12111823

Patil, V. (2011). Production of indole acetic acid by Azotobacter sp. *Recent research in Science and Technology*, *3*(12).

Pratiwi, E., Satwika, T. D., Akhdiya, A., & Agus, F. (2020). Karakteristasi bakteri asal lahan gambut jambi dan potensinya sebagai pupuk hayati. *Jurnal Tanah dan Iklim*, *44*(1), 1–10.

Ranjan, P., Das, M. P., Kumar, M. S., Anbarasi, P., Sindhu, S., Sagadevan, E., & Arumugam, P. (2013). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from Nigella sativa and its application against UTI causing bacteria. *J. Acad. Ind. Res*, *2*(1), 45–49.

Santoso, K., & Rahmawati, R. (2019). Eksplorasi bakteri penambat nitrogen dari tanah hutan mangrove Sungai Peniti, Kabupaten Mempawah. *Protobiont*, *8*(1).

Saravanan, V. S., Madhaiyan, M., & Thangaraju, M. (2007). Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium Gluconacetobacter diazotrophicus. *Chemosphere*, *66*(9), 1794–1798. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.067

Sethi, G., Behera, K. K., Sayyed, R., Adarsh, V., Sipra, B. S., Singh, L., Alamro, A. A., & Behera, M. (2025). Enhancing soil health and crop productivity: the role of zinc-solubilizing bacteria in sustainable agriculture. *Plant Growth Regulation*, 1–17.

Singh, J. S. (2013). Potential microbes for sustainable agriculture. *Resonance, 275â*, *276*.

Srithaworn, M., Jaroenthanyakorn, J., Tangjitjaroenkun, J., Suriyachadkun, C., & Chunhachart, O. (2023). Zinc solubilizing bacteria and their potential as bioinoculant for growth promotion of green soybean (Glycine max L. Merr.). *PeerJ*, *11*, e15128.

Susilowati, D. N., Fauziah, F., Setiawati, M. R., Pranoto, E., Hidayati, E., Setyowati, M., & Rachmiati, Y. (2016). Analisis komunitas bakteri rhizosfer tanaman teh pada pembenihan menggunakan teknik Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (TRFLP). *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, *19*(2), 147–156.

Wuryanto, S., Oedjijono, O., & Antonius, S. (2015). Aktivitas Pelarutan Fosfat Isolat Azospirillum spp. asal Lahan Pasir Besi. *BIO-SITE| Biologi dan Sains Terapan*, *1*(1).

Yasmin, R., Hussain, S., Rasool, M. H., Siddique, M. H., & Muzammil, S. (2021). Isolation, Characterization of Zn Solubilizing Bacterium (Pseudomonas

protegens RY2) and its Contribution in Growth of Chickpea (Cicer arietinum L) as Deciphered by Improved Growth Parameters and Zn Content. *Dose-Response*, *19*(3), 15593258211036792. https://doi.org/10.1177/15593258211036791

Zhang, W., Liu, D., Liu, Y., Chen, X., & Zou, C. (2017). Overuse of Phosphorus Fertilizer Reduces the Grain and Flour Protein Contents and Zinc Bioavailability of Winter Wheat (Triticum aestivum L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(8), 1473–1482. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04778