

**IDENTIFIKASI MIKROBA POTENSIAL SEBAGAI PELARUT FOSFAT PADA
EKOSISTEM MANGROVE DI SEKITAR KAWASAN HUTAN IBU KOTA
NUSANTARA (IKN)**

ANDI ELNAFILAH ADINDA FAUZI AMRAN

M021201033



PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

FAKULTAS KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**IDENTIFIKASI MIKROBA POTENSIAL SEBAGAI PELARUT FOSFAT PADA
EKOSISTEM MANGROVE DI SEKITAR KAWASAN HUTAN IBU KOTA
NUSANTARA (IKN)**

ANDI ELNAFILAH ADINDA FAUZI AMRAN

M021201033

SKRIPSI

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

pada

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

DEPARTEMEN KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROBA POTENSIAL BAKTERI
PELARUT POSFAT PADA EKOSISTEM MANGROVE DI SEKITAR
KAWASAN HUTAN IBU KOTA NUSANTARA (IKN)

ANDI ELNAFILAH ADINDA FAUZI AMRAN
M021201033

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam Rangka
penyelesaian Sarjana S-1 Rekayasa Kehutanan
Pada 22 Oktober 2024

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Rekayasa Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin
Makassar

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping I,

Iswanto, S.Hut., M.Si
NIP 199303112021015001

Dr. Retno Prayudyaningsih, S.Si., M.Sc
NIP 197411292001122003

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Dr. Ir. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P
NIP 198202092015042002



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Identifikasi Mikroba Potensial Sebagai Pelarut Fosfat pada Ekosistem Mangrove di Sekitar Kawasan Hutan Ibu Kota Nusantara (IKN)" Adalah Benar Karya Saya Dengan Arahan Dari Pembimbing (Bapak Iswanto, S.Hut., M.Si Sebagai Pembimbing Utama dan Ibu Dr. Retno Prayudyaningsih, S.Si., M.Sc. Sebagai Pembimbing Pendamping. Karya Ilmiah Ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan peraturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 22 Oktober 2024
Yang Menyatakan



Andi Elnatih Adinda Fauzi Amran



ABSTRAK

ANDI ELNAFILAH ADINDA F.A. IDENTIFIKASI MIKROBA POTENSIAL SEBAGAI PELARUT FOSFAT PADA EKOSISTEM MANGROVE DI SEKITAR KAWASAN HUTAN IBU KOTA NUSANTARA (IKN) di bawah bimbingan Iswanto dan Retno Prayudyaningsih.

Bakteri pelarut fosfat (BPF) memiliki peran penting dalam ekosistem mangrove dengan membantu melarutkan fosfat yang terikat dalam tanah, sehingga tanaman dapat menyerapnya lebih mudah. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi mikroba potensial sebagai bakteri pelarut fosfat yang berasal dari ekosistem mangrove IKN. Sampel diambil dari Delta Mahakam dan Teluk Balikpapan. Penelitian mencakup pengambilan sampel tanah, pembuatan media pikovskaya, isolasi dan pemurnian BPF, pengukuran zona bening dan Indeks Kelarutan Fosfat (IKF), karakterisasi makroskopis dan morfologis dengan uji pewarnaan gram serta pewarnaan endospora, uji fisiologis seperti uji katalase dan uji Sulfit Indol Motility (SIM), hingga identifikasi genus BPF. Hasil penelitian diperoleh sebanyak 34 isolat dengan 5 genus berhasil diidentifikasi berpotensi sebagai pelarut fosfat diantaranya *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* dan *Serratia*.

Kata Kunci: Bakteri, Fosfat, Mangrove, IKN



ABSTRACT

ANDI ELNAFILAH ADINDA F.A. IDENTIFICATION OF POTENTIAL MICROBES AS PHOSPHATE SOLVENTS IN MANGROVE ECOSYSTEMS AROUND THE INDONESIAN CAPITAL CITY (IKN) FOREST AREA under the guidance of Iswanto and Retno Prayudyaningsih.

Phosphate solubilizing bacteria (PSB) have an important role in the mangrove ecosystem by helping to dissolve phosphate bound in the soil, so that plants can absorb it more easily. This research aims to identify potential microbes as phosphate solubilizing bacteria originating from the IKN mangrove ecosystem. Samples were taken from the Mahakam Delta and Balikpapan Bay. The research included taking soil samples, making Pikovskaya media, isolating and purifying PSB, measuring the clear zone and Phosphate Solubility Index (PSI), macroscopic and morphological characterization using gram staining and endospore staining, physiological tests such as catalase test and Sulphite Indole Motility (SIM) test, to identification of the BPF genus. The research results showed that 34 isolates with 5 genera were identified as potential phosphate solvents, including Bacillus, Pseudomonas, Enterobacter, Acinetobacter and Serratia.

Keywords: Bacteria, IKN, Mangrove, Phosphate.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan atas kehadiran Allah SWT atas anugrah dan kasih yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tugas akhir skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Mikroba Potensial Bakteri Pelarut Fosfat pada Ekosistem Mangrove di Sekitar Kawasan Hutan Ibu Kota Nusantara (IKN)” dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini merupakan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Kehutanan pada Program Studi Rekayasa Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak **Iswanto, S.Hut., M.Si.** sebagai pembimbing utama dan Ibu **Dr. Retno Prayudyaningsih, S.Si., M.Sc.** sebagai pembimbing pendamping yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan serta diskusi dan arahan selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini.

Penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua yang sangat berjasa dalam hidup penulis, Etta **Andi Supran Amran** dan Mammi **Marliani Thamrin** yang dengan penuh kesabaran mendidik penulis, memberikan kasih sayang, semangat, kepercayaan dan doa dengan penuh keikhlasan. Serta **Andi Elfauzi Supran Amran, Andi Elsyah Ruhk Khan Amran,** dan **Andi Elsyah Ruby Khan Amran,** selaku saudara dari penulis yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis. Dengan segala kerendahan hati penulis juga mengucapkan terima kasih khususnya kepada:

1. Ibu **Dr. A. Detti Yuniarti, S. Hut., M.P** dan Ibu **Gusmiaty, S.P., M.P.** selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan, masukan berupa saran dan kritikan, serta bantuan dan koreksi dalam proses penyusunan skripsi.
2. Bapak/Ibu **Dosen Fakultas Kehutanan** yang senantiasa memberikan ilmu dengan penuh rasa tanggung jawab serta seluruh **Staf Fakultas Kehutanan** yang selalu melayani pengurusan administrasi selama berada di lingkungan Fakultas Kehutanan.
3. Terkhusus kepada **Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN), Pusat Kolaborasi Riset (PKR) Mikroba Karst,** dan **Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon** yang telah memberikan kepercayaan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian terkait judul pada skripsi ini.
4. Kepada **Ferdi Mochtar, S.Pt., M.Sc., Ph.D.** dan **Mirdayanti, S.Pt., M.Sc.** yang telah memberikan dukungan moral, materil dan memotivasi penulis selama masa perkuliahan.
5. Kepada kakak-kakak terkhusus Kak **Sri Wahyuni Jufri, S. Hut., M. Hut,** Kak **Indriyani S.Hut., M.Hut,** Kak **Fitri S.Si., M.Si,** dan Kak **Fani, S. Hut** juga teman teman sepenelitian yang telah membantu dan memberikan bimbingan serta arahan selama penelitian dan penulisan skripsi ini sehingga dapat berjalan dengan lancar.



pada sobat Gambreng **Gina Mutmainnah S.Hut** dan **Zulfikri Basri** u sahabat yang telah kebersamai dari awal hingga akhir capan terima kasih yang tak terhingga atas segala bantuan, n motivasi kepada penulis.

7. Terkhusus kepada atlet jompo **Veronika Masseng, S.Hut, Jusniar Bahtiar, S.Hut, Putri Nadya Salsabila,** dan **Rahna AR** selaku sahabat dan saudara yang selalu mendengar segala keluh kesah penulis selama perkuliahan.
8. Kepada **Keluarga besar Rekayasa Kehutanan 20** penulis ucapkan banyak terima kasih untuk segala bantuan, motivasi, suka duka di masa perkuliahan hingga masa akhir semester yang telah dilalui bersama. Secara khusus untuk **Mitra Senolinggi, S.Hut, Eunike Christafilia, S.Hut, Fardhatillah, S.Hut, Misbahuljannah, S.Hut, Surya Furqan Rayu, Saidil** yang telah banyak membantu serta menemani penulis selama proses perkuliahan penulis dan penulisan skripsi ini.
9. Teman seperjuangan **Nur Haliza, S.Psi, Nur melia, S.H, dan Nur afika** yang juga selalu memberikan dorongan dan semangat kepada penulis mulai dari masa MtsN hingga masa perkuliahan penulis.
10. Kepada Keluarga besar **Andi Amran** dan **Muh. Thamrin** penulis ucapkan banyak terima kasih, terkhusus **Almh. tante Devi, Almh. Ecca, Kintan Dwicahyani** dan **Almira**. Terima kasih atas segala doa, semangat, dan dukungan pada penulis.
11. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
12. Terakhir, kepada diri sendiri **Andi Elnafilah Adinda F.A** selaku penulis skripsi ini, apresiasi sebesar-besarnya karena telah berjuang dan bertanggung jawab untuk menyelesaikan skripsi ini walaupun melalui proses yang sangat panjang. Terima kasih sudah bertahan untuk hidup dan tidak menyerah dalam berbagai rintangan maupun masalah yang dihadapi dan berani menyelesaikannya walau seringkali merasa tertinggal atas segala pencapaian. Terimakasih sudah kuat sampai sejauh ini, untuk diri sendiri berbahagialah selalu dimanapun kamu berada. *Always be grateful to God* apapun kurang lebihnya mari merayakan diri sendiri.

Semoga Allah SWT memberikan memberikan balasan dengan segala kebaikan dunia dan akhirat kepada semua pihak yang telah diberikan kepada penulis. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat, terkhusus pada pengembangan di bidang rekayasa kehutanan. Tentunya penulisan ini masih terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan masukan dan saran yang dapat membangun penulisan dalam skripsi ini.



Makassar, 22 Oktober 2024

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DANA PELIMPAHAN HAK CIPTA	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori.....	2
BAB II. METODE PENELITIAN	5
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	5
2.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	5
2.3 Alur Penelitian.....	5
2.4. Prosedur Penelitian	7
2.4.1 Pengambilan Sampel	7
2.4.2 Pembuatan Media Pikovskaya.....	8
2.4.3 Isolasi Bakteri pelarut Fosfat.....	8
2.4.4 Pemurnian Bakteri Pelarut fosfat.....	9
2.4.5 Perhitungan Jumlah Koloni dan Zona Bening Bakteri	9
2.4.6 Karakterisasi Makroskopis	10
2.4.7 Karakterisasi Morfologis.....	10
2.4.8 Karakterisasi Fisiologi	11
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
3.1 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Pelarut Fosfat di Kawasan Hutan Mangrove IKN	12
3.2 Pertumbuhan Zona Bening BPF dan Indeks Kelarutan Fosfat (IKF).....	15
3.3 Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat	17
3.3.1 Karakterisasi Makroskopis	17
3.3.2 Karakterisasi Mikroskopis	18
3.3.3 Karakterisasi Fisiologi	22
BAB IV. KESIMPULAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
.....	44



DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1. Kategori Pelarutan Fosfat	10
2. Reagen Pewarnaan Gram	10
3. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat di Kawasan Mangrove IKN.....	13
4. Jumlah Isolat Bakteri Pelarut Fosfat di Kawasan Hutan Mangrove IKN.....	14
5. Karakterisasi isolat berdasarkan pewarnaan gram	19
6. Hasil Uji Katalase Bakteri Pelarut Fosfat	23
7. Hasil Uji Morfologis dan Fisiologis Bakteri Pelarut Fosfat	26



DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Alur Penelitian.....	6
2. Peta Pengambilan Sampel di Delta Mahakam IKN.....	7
3. Koloni Bakteri Pelarut Fosfat di Kawasan Hutan Mangrove.....	12
4. Zona Bening Tumbuh pada Medium Pikovskaya Padat	16
5. Bakteri gram a) Gram Positif b) Gram Negatif	18
6. Bentuk Bakteri a) Coccus b) Bacil c) Spiral	20
7. Hasil Pewarnaan Endospora pada isolat a) DB 1.2 b) DB 2.1 c) DB 3.2	21
8. Hasil Uji Katalase a) Positif b) Negatif	23
9. Uji SIM a) H ₂ S b) Indol c) Motil	24



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Perhitungan Kepadatan Populasi Koloni Bakteri Pelarut Fosfat	49
2. Tabel Perhitungan Indeks Kelarutan Fosfat (IKF)	51
3. Jumlah Isolat BPF di Kawasan Hutan Mangrove IKN	52
4. Diameter Zona Bening Pelarut Fosfat.....	53
5. Indeks Kelarutan Fosfat Isolat BPF di Kawasan Mangrove IKN	54
6. Hasil Pengamatan Makroskopis BPF.....	55
7. Hasil Uji SIM Bakteri Pelarut Fosfat	57
8. Karakterisasi Makroskopik BPF	58
9. Hasil Isolasi sampel Bakteri Pelarut fosfat	60
10. Karakterisasi Morfologis uji pewarnaan gram BPF	67
11. Karakteristik Morfologis Uji Pewarnaan Endospora BPF	71
12. Karakterisasi Fisiologi Uji Katalase BPF	72
13. Hasil UJI SIM (Sulfit Indole Motility)	75
14. Dokumentasi Proses pengerjaan BPF	82



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ekosistem mangrove adalah sistem yang melibatkan interaksi antara organisme dan lingkungan, atau disebut juga *intertidal forest coastal*. Ekosistem ini terletak di pantai dan muara sungai yang dipengaruhi pasang surut, sebagai area peralihan antara darat dan laut ekosistem ini memiliki fungsi ganda dan peran penting dalam menjaga keseimbangan siklus biologi perairan (Ramses, 2016). Pengamatan ekosistem mangrove telah banyak dilakukan di beberapa wilayah mangrove di Indonesia, namun belum ada penelitian mengenai analisa mikrobial potensial bakteri pelarut fosfat pada ekosistem mangrove di dua kawasan yang berbeda. Pada penelitian ini, mikroorganisme diambil dari hutan mangrove sekitar wilayah Ibu Kota Nusantara (IKN)

UU RI No. 3 tahun 2022 tentang IKN adalah kesatuan pemerintahan daerah khusus setingkat provinsi dan ditetapkan sebagai tempat kedudukan ibu kota negara. IKN berada di pulau Kalimantan, tepatnya di Kabupaten Penajam Paser Utara, Provinsi Kalimantan Timur yang sebagian besar merupakan kawasan hutan Mangrove. Kawasan Ibu kota Nusantara juga mencapai perbatasan kota Balikpapan dan luasnya meliputi 70 persen kawasan perairan teluk dan hutan mangrove (IPLBI, 2021). Delta Mahakam merupakan suatu kawasan delta yang terdiri dari beberapa pulau yang terbentuk akibat adanya endapan di muara Sungai Mahakam dengan Selat Makassar. Kawasan Delta Mahakam termasuk wilayah perairan memiliki luas sekitar 150.000 ha, sedangkan luas wilayah daratan \pm 100.000 ha. Kawasan Delta Mahakam secara administratif berada dalam wilayah Kabupaten Kutai Kartanegara (Oktawati et al., 2022)

Teluk Balikpapan dan Delta Mahakam memiliki tanaman mangrove yang banyak ditemukan di teluk yang dangkal, estuaria, delta dan daerah pantai yang terlindungi (Bengen, 2022). Tumbuhan mangrove tersebut berasosiasi dengan organisme (fungi, mikroba, alga, fauna, dan tumbuhan lainnya) membentuk komunitas mangrove (Sengupta, 2010). Organisme mikroba potensial membantu menguraikan unsur-unsur yang ada pada tanah menjadi senyawa yang dapat diserap oleh akar tanaman guna mendukung pertumbuhan tanaman.

Mikroba potensial merupakan mikroorganisme yang berperan penting dalam memperbaiki dan mengembangkan ekosistem berkelanjutan termasuk mangrove, dengan menghasilkan senyawa bioaktif seperti antibiotik, hormon pertumbuhan, antioksidan, serta enzim seperti selulase dan xilanase yang mendukung kesehatan ekosistem (Thatoi et al., 2013). Potensi mikroba potensial termasuk bakteri pelarut fosfat sebagai pelarut fosfat anorganik melalui produksi asam organik (oksalat, suksinat, fumarat, dan malat) sehingga meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman, memperkuat pertumbuhan, dan menjaga stabilitas ekosistem mangrove di wilayah IKN. al., (2015) menjelaskan bahwa bakteri pelarut fosfat berperan menguraikan bahan organik melalui reaksi dengan ion Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , membebaskan fosfat sehingga nutrisi dapat diserap oleh tanaman.

Mikroba potensial sebagai strategi alternatif dapat menjadi solusi efektif, dan berkelanjutan. Penelitian Hartati et al., (2023) telah menunjukkan signifikansi dari mikroba ini, contohnya antara lain *Pseudomonas*



fluorescens dan *Bacillus subtilis*, dapat mengubah fosfat dalam tanah yang awalnya tidak tersedia menjadi bentuk yang dapat diserap oleh tanaman. Mekanisme ini melibatkan pelarutan fosfor dari bahan organik seperti fitrat, yang meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman (Richardson et al., 2009). Pemanfaatan bakteri ini mendukung pengelolaan mangrove berkelanjutan dengan mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia serta menjaga keseimbangan ekosistem pesisir, efektif dalam meningkatkan produktivitas, kualitas lingkungan, dan siklus nutrisi alami (Vessey, 2003).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan mengidentifikasi mikroba potensial sebagai bakteri pelarut fosfat yang berasal dari ekosistem mangrove IKN, sehingga diperoleh informasi yang dapat digunakan dalam pemanfaatan bakteri pelarut fosfat sebagai perangsang pertumbuhan tanaman mangrove yang ramah lingkungan.

1.2 Teori

Kalimantan Timur berperan penting dalam upaya konservasi mangrove yang memiliki total luas mangrove terluas di Indonesia. Meskipun demikian, berdasarkan rasio luas ekosistem mangrove terhadap luas wilayah, Kalimantan Timur memiliki rasio tertinggi yaitu sekitar 3,8% (Salminah and Alviya, 2019). Penelitian Hartoko et al., (2013) mengatakan ekosistem mangrove menjadi bagian yang sangat penting karena dalam vegetasi mangrove akan menghasilkan serasah-serasah yang berperan dalam transfer bahan organik dari vegetasi ke dalam tanah. Bahan organik akan diuraikan oleh mikroorganisme menjadi nutrisi atau unsur hara Nitrogen (N), Phospat (P) dan Silika (Si) yang memiliki peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan organisme (sari, 2019).

Tanah adalah media kompleks tempat mikroorganisme hidup dan berkembang. Mikroba tanah memanfaatkan nutrisi yang ada dan berperan penting dalam pertanian dan perkebunan. Peran utama mikroba tanah adalah mengubah senyawa organik yang mengandung karbon, nitrogen, sulfur, dan fosfor menjadi senyawa anorganik melalui proses mineralisasi. Proses ini melibatkan berbagai perubahan kimiawi dan aktivitas mikroorganisme (Sari, 2015). Mikroba tanah melakukan berbagai aktivitas yang saling berinteraksi dengan sesama mikroorganisme lain. Agus and Subiksa (2008) juga mengatakan mikroorganisme tanah memiliki peran penting dalam kehidupan karena menguraikan bahan organik menjadi bahan anorganik melalui dekomposisi dan mineralisasi, dengan mengubah sisa-sisa organik yang mati menjadi unsur-unsur seperti nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), dan mangan (Mn), yang kembali ke tanah. Selain itu, mikroorganisme melepaskan metana (CH_4) atau karbon dioksida (CO_2) ke atmosfer, sehingga nutrisi tersebut dapat digunakan kembali oleh tanaman dipengaruhi oleh faktor seperti salinitas, pH, kondisi fisik, iklim, vegetasi, nutrisi, dan Hironimus, 2021).



fosfor sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Sekitar 95–99% at dalam bentuk fosfat tak larut dan karenanya tidak dapat tumbuhan (Sridevi et al., 2013). Dalam tanah asam, fosfor $AlPO_4$ (Aluminium fosfat) dan $FePO_4$ (Besi Fosfat), sedangkan fosfor mengendap sebagai $CaPO_4$. Mikroorganisme mampu alui dua mekanisme, yaitu secara kimia atau biologi. Transformasi

fosfor organik menjadi fosfat anorganik terjadi melalui mineralisasi fosfor organik, terutama pada ester fosfat, dan dikatalisis oleh enzim fosfatase yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi. Enzim ini berfungsi menghidrolisis anhidrat $H_2PO_4^-$ dan berperan penting dalam mineralisasi fosfor organik di tanah (Suliasih and Rahmat, 2006).

Transformasi fosfor dari bentuk tidak larut menjadi larut dapat terjadi melalui bantuan asam organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Aislabie and Deslippe, 2018). Mikroorganisme mengeluarkan senyawa organik dengan bobot molekul rendah, seperti sitrat, formiat, suksinat, asetat, propionat, butirat, dan oksalat (Setiawati and Mihardja, 2008). Asam-asam ini kemudian bereaksi dengan unsur pengikat fosfat, seperti Al, Fe, Ca, dan Mg, membentuk kelat organik yang stabil, sehingga ion fosfat dapat dilepaskan dan diserap oleh tanaman (Simanungkalit et al., 2006)

Meskipun kadar fosfor di tanah cukup tinggi, fosfor tersebut tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman karena populasi mikroorganisme pelarut fosfat sangat rendah. Ini disebabkan oleh kurangnya bahan organik dan tingginya penggunaan bahan anorganik seperti pestisida. Sehingga dengan meningkatkan ketersediaan fosfor, perlu meningkatkan aktivitas mikroorganisme tanah, salah satunya dengan bakteri pelarut fosfat (Firmansyah et al., 2014). Oleh karena itu, ketersediaan unsur hara P dalam tanah perlu ditingkatkan melalui peningkatan aktivitas mikroorganisme tanah. Salah satu jenis mikroorganisme tanah yang dapat meningkatkan ketersediaan unsur hara P adalah bakteri pelarut fosfat.

Bakteri yang terdapat dalam sedimen mangrove berperan dalam proses dekomposisi serasah daun, yang meningkatkan kandungan bahan organik di kawasan tersebut. (Purnomo et al., 2016) menegaskan bahwa proses dekomposisi disertai pelepasan karbon dioksida dan aktivitas mikroorganisme yang tinggi dapat mempercepat proses ini. Bakteri yang berperan penting dalam ekosistem memiliki keterkaitan erat dengan lingkungan. Faktor-faktor fisika, kimia, dan biologi memengaruhi pertumbuhan dan jumlah populasi bakteri. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa keberadaan mangrove berkaitan dengan jumlah bahan organik dan total bakteri; semakin lebat mangrove, semakin tinggi pula kandungan bahan organik di kawasan tersebut. Sehingga, populasi mikroorganisme yang tinggi menandakan bahwa kondisi tanah tersebut cukup baik untuk pertumbuhan mikroorganisme dimana adanya sumber nutrisi yang cukup bagi mikroba, kelembaban tanah yang baik sejalan dengan bagusnya aerasi dalam tanah, sesuai temperatur di dalam tanah, dan kondisi ekologi dalam tanah yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme (Afifah, 2023).

Lestaru et al., (2018) menyatakan bahwa kerapatan dan penutupan vegetasi mangrove yang tinggi akan meningkatkan kandungan bahan organik total dalam sedimen. Pengambilan sampel pada ekosistem mangrove di kawasan IKN memiliki potensi yang cukup besar untuk ditemukannya berbagai jenis bakteri terutama bakteri



akan sedimen hutan mangrove yang terbentuk dari dekomposisi mangrove menyediakan unsur hara yang tinggi. Setiawan (2013) juga berkorelasi dengan ketebalan mangrove yang tinggi memiliki lebih banyak mikroorganisme di lingkungan dengan lokasi tanpa mangrove. Selain itu, Andrianto et al., (2017) menyatakan bahwa semakin tinggi kerapatan pohon, semakin banyak produksi bahan organik, rendahnya kerapatan pohon mangrove menyebabkan produksi bahan organik yang rendah, sehingga laju dekomposisi lebih cepat terjadi di area dengan

kerapatan mangrove yang tinggi, terutama di daerah muara sungai yang memiliki substrat lumpur kaya bahan organik, di mana kelimpahan mikroba (dekomposer) lebih tinggi.

Kesuburan tanah merupakan faktor penting untuk pertumbuhan tanaman karena tanah yang tidak subur dapat mengurangi hasil tanaman. Ketidaktersediaan fosfat yang sering terikat pada mineral seperti Al, Fe, dan Ca, merupakan salah satu faktor pembatas pertumbuhan tanaman. Meskipun fosfat umumnya ditambahkan melalui pemupukan, hanya 10-30% dari fosfat tersebut yang dapat digunakan oleh tanaman, sementara 70-90% tetap di tanah (Larasati et al., 2018). Dengan demikian untuk meningkatkan efisiensi pemupukan fosfat dan mengatasi kekurangan fosfat di tanah, penggunaan bakteri pelarut fosfat merupakan salah satu alternatif yang efektif.

Penggunaan pupuk digunakan untuk memenuhi kebutuhan hara tanaman ketika ketersediaan unsur hara alami tidak mencukupi. Pupuk membantu menyediakan hara yang diperlukan tanaman dan memperbaiki sifat fisik, kimia, dan biologi tanah agar tanaman dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik. Teknologi pupuk hayati, yang telah lama digunakan oleh petani di berbagai negara, kini semakin maju berkat kemajuan dalam penelitian biologi (Sriwahyuni and Parmila, 2019). Aeron et al., (2011) mengatakan kemajuan bioteknologi mempermudah inokulasi, formulasi pupuk hayati, serta identifikasi dan karakterisasi mikroorganisme yang efektif sebagai pupuk hayati. Salah satu mikroorganisme tersebut yakni bakteri pelarut fosfat, seperti *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Rhizobia*, *Serratia*, *Streptomyces*, dan *Xanthomonas* adalah mikroorganisme utama dalam pupuk hayati. Bakteri ini umumnya hidup di sekitar akar tanaman (rhizosfer) dan dikenal sebagai rhizobakteri.



BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2023 – April 2024. Pengambilan sampel dilaksanakan di sekitar kawasan Ibu Kota Nusantara (IKN) yaitu hutan mangrove di Teluk Balikpapan, Kabupaten Penajam Paser Utara dan Kota Balikpapan, dan di hutan mangrove Delta Mahakam, Kabupaten Kutai Kartanegara. Kegiatan pengerjaan isolasi, pemurniaan, karakterisasi dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi PKR Mikroba Karst, LPPM, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan Penelitian

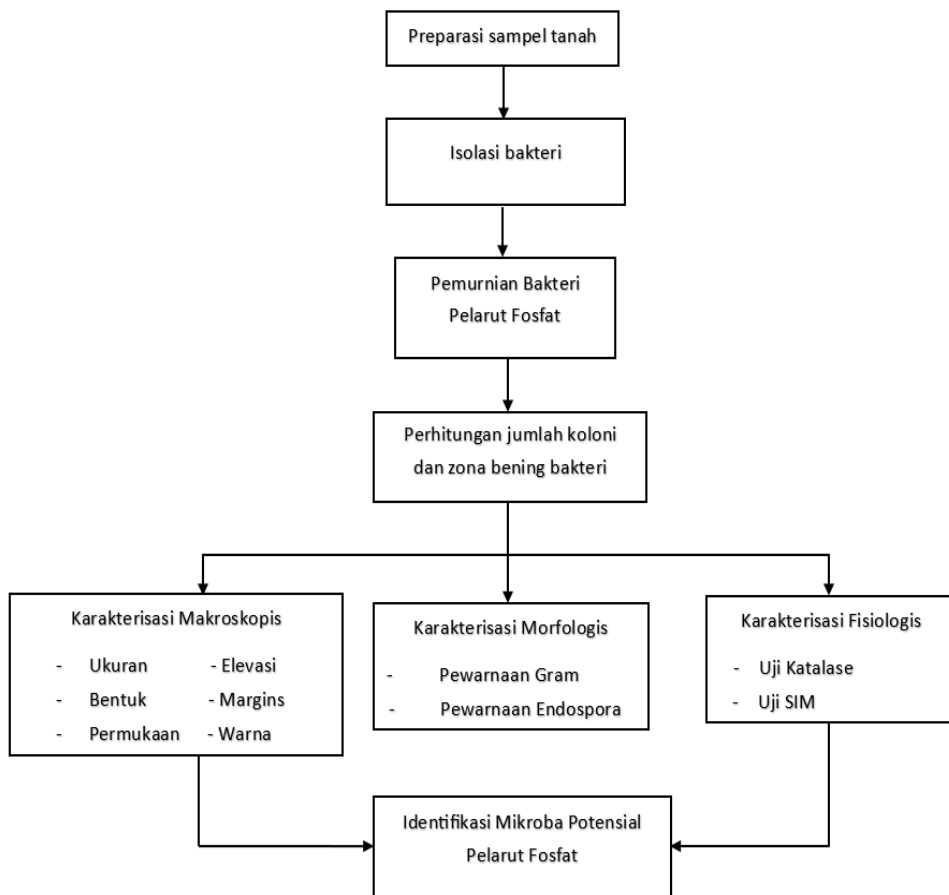
Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Laminary Air Flow* (LAF), cawan petri, *autoclaf*, oven, mikro pipet, erlenmeyer, jarum preparat, *glass breaker*, gelas ukur, tabung reaksi, *Hot plate Magnetic stirer*, spatula, spektrofotometer, tabung reaksi, vortex, mikroskop, penggaris, box, timbangan analitik, rak tabung reaksi, tip, bunsen, spatula, batang penyebar, kamera, foto box, pemantik api dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alkohol 70%, aquades, *Handscoon*, *tissue*, *plastic wrapping*, *alumunium foil*, spiritus, label, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)$ (*tricalcium phosphate*), *ammonium sulfat*, NaCl (*sodium chloride*), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (*magnesium sulphate heptahydrate*), KCl (*kalium chloride*), *glucosa*, *yeast extract*, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (*manganese sulfat heptahydrate*), $\text{iron(II)FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (*sulfate heptahydrate*), agar, anti biotik Ketocenazol, Larutan ammonium oksalat kristal violet, larutan yodium lugol, larutan aseton alkohol, larutan safranin, Malachite green, kertas saring, *Hydrogen peroxide*, Reagen kovacs dan Erlich dan sampel tanah Delta Mahakam dan Teluk Balikpapan.

2.3 Alur Penelitian

Alur penelitian untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) tersaji pada Gambar 1 berikut.



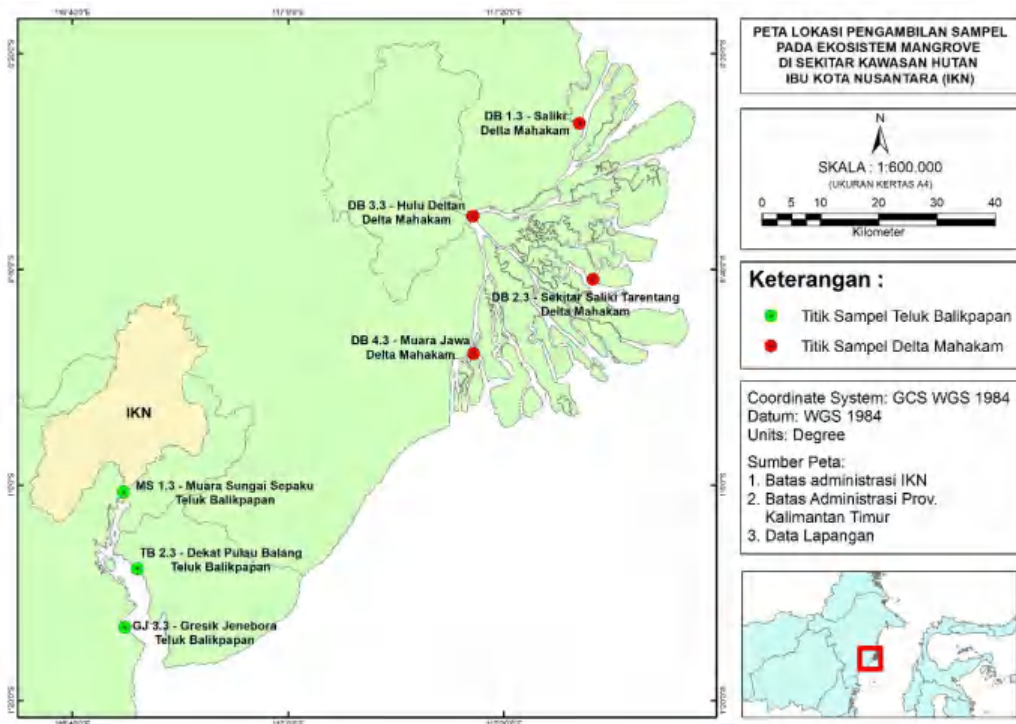


Gambar 1. Alur Penelitian



2.4. Prosedur Penelitian

2.4.1 Pengambilan Sampel



Gambar 2. Peta Pengambilan Sampel di Sekitar Kawasan IKN

Pengambilan sampel Delta Mahakam IKN Gambar 2, diambil pada sisi timur delta dimana masing- masing diberi kode sampel (DB 1.3) pengambilan sampel dibagian hulu Saliki dengan titik koordinat $0^{\circ}26'28.1''S$ $117^{\circ}27'00.0''E$ -0.441139, sampel (DB 2.3) diambil pada bagian tengah sekitar Saliki Tarentang dengan koordinat $0^{\circ}40'56.3''S$ $117^{\circ}28'17.0''E$ -0.682306, serta sampel (DB 3.3) dan (DB 3.4) diambil pada bagian hilir Muara Jawa dengan titik koordinat $0^{\circ}35'04.1''S$ $117^{\circ}17'09.9''E$ dan $0^{\circ}47'47.9''S$ $117^{\circ}17'12.9''E$. Sedangkan, Pengambilan Sampel pada Teluk Balikpapan, terletak di tiga titik yaitu diambil masing-masing sampel dari bagian hulu, tengah dan hilir. Sampel dengan kode (MS 1.3), diambil pada bagian hulu Muara Sungai Sepaku daerah Teluk Balikpapan dengan titik koordinat $1^{\circ}00'38.2''S$ $116^{\circ}44'44.9''E$. Sampel dengan kode (TB 2.3), diambil dibagian tengah pada sekitaran pulau Balang, Teluk Balikpapan dengan titik koordinat $1^{\circ}07'15.1''S$ $116^{\circ}46'02.6''E$, dan sampel dengan kode (GJ 3.3), diambil dari lenebora pada wilayah Teluk Balikpapan dengan titik koordinat $2.4''E$.



ampel tanah dilakukan oleh peneliti BRIN untuk kegiatan Riset sia Maju (RIIM) Gelombang 2. pada daerah perairan dan daratan ngai Teluk Balikpapan dan Delta Mahakam menggunakan pipa di setiap areal atau 3 titik, kemudian dicampur dan diambil titik

koordinatnya untuk mendapatkan bulked sampel. Pengambilan sampel pada bagian tengah perairan dilakukan saat air sungai surut, sehingga pipa paralon dapat menjangkau dasar sungai untuk mengambil sampel. Sampel tanah dari 3 titik tersebut diambil sebanyak ± 2 kg dan diaduk dalam ember. Kemudian sebagian diambil dan disimpan dalam *falcon tube* 50 ml yang telah diberi label. Sampel tanah disimpan dalam lemari pendingin hingga dapat digunakan untuk analisa mikrobial.

2.4.2 Pembuatan Media Pikovskaya

Prosedur pembuatan media pikovskaya dengan komposisi 1 liter aquades, sebagai berikut :

- Bahan untuk pembuatan media padat pikovskaya ditimbang, yakni Glukosa 10 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, *Yeast Ekstrak* 0,5 g, NaCl 0,2 g, KCl 0,2 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,00005 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,00005 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5 g, Ketocenazol 0,1 g dan sampel tanah 1 g.
- Bahan yang telah ditimbang dicampur kedalam labu erlenmeyer.
- 1 liter aquades ditambahkan kedalam labu erlenmeyer.
- Bahan yang telah ditimbang beserta 1 liter aquades dalam erlenmeyer dihomogenkan menggunakan *hot plate magnetic stirrer*.
- Bahan media tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 0,1 MPa dan suhu 121°C selama 20 menit.
- Media yang telah di sterilisasi, dikeluarkan dan dinginkan (didiamkan) pada *laminary air flow* hingga hangat-hangat kuku.
- Antibiotik *ketocenazole* 0,1 g dimasukkan pada media sebelum melakukan penuangan.
- Media dituang secara aseptik ke dalam cawan Petri steril, digoyang/geser hingga permukaan media merata, dan didiamkan hingga mengeras lalu di wrapping.
- Masukkan ke box yang telah disterilkan dengan alkohol.

2.4.3 Isolasi Bakteri pelarut Fosfat

Teknik isolasi bakteri pelarut P yaitu menggunakan metode *spread plate* pada cawan petri dengan tingkat pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} dengan prosedur, sebagai berikut:

- Sampel tanah dimasukkan ke dalam tabung pengenceran pertama (10^{-1}) secara aseptis (dari preparasi suspensi). Perbandingan berat sampel dengan volume tabung pertama adalah 1 : 9 (1 gram tanah : 9 ml aquades).
- 1 ml sampel tanah diambil dari tabung 10^{-1} dengan pipet ukur kemudian dipindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.
- Tabung pengenceran dipindahkan hingga terakhir dengan cara yang sama, hal yang harus diperhatikan adalah bahwa pipet ukur yang digunakan harus selalu diganti, artinya pengenceran digunakan pipet ukur steril yang berbeda/baru. Bakteri dipindahkan secara aseptis ke permukaan media dalam cawan petri dan dilakukan pada 2 kali pengulangan yaitu 10^{-4} 10^{-5} 10^{-6} dan kemudian didiamkan dengan dibakar di atas api yang sebelumnya telah dicelupkan ke dalam alkohol dan dibiarkan dingin.



- f. Kultur bakteri diratakan dengan spreader secara merata dan biarkan sampai permukaan agar mengering.
- g. Setelah permukaan agar mengering, selanjutnya inkubasikan selama 3-7 hari pada suhu kamar dan amati pertumbuhannya.

2.4.4 Pemurnian Bakteri Pelarut fosfat

Prosedur yang dilakukan pada pemurnian bakteri pelarut fosfat, sebagai berikut:

- a. Koloni bakteri diperiksa dan diamati setelah diinkubasi selama 3-7 hari pada media
- b. Pindahkan koloni hasil isolasi dari media Pikovskaya untuk diamati koloni yang membentuk zona bening (halozone), yang menunjukkan aktivitas pelarutan fosfat.
- c. Pilih koloni yang memiliki zona bening dengan menggunakan ose steril. Goreskan koloni tersebut pada media agar baru dan inkubasi pada suhu kamar selama 3-7 hari untuk pertumbuhan lebih lanjut.
- d. Koloni yang tumbuh diambil secara aseptik dengan ose dan goreskan ke permukaan cawan yang berisi media Pikovskaya lalu di wrap.
- e. Beri kode atau label isolat setiap cawan dan simpan di dalam alat pendingin (*refrigerator*) pada suhu 5°C untuk menjaga viabilitas bakteri sampai siap digunakan untuk analisis lebih lanjut.

2.4.5 Perhitungan Jumlah Koloni dan Zona Bening Bakteri

Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar bakteri. Populasi BPF ditentukan dengan menghitung langsung populasi BPF berdasarkan SNI 2897:2008.

$$\text{TPC} = \frac{\text{Jumlah bakteri pada cawan} \times 1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

Keterangan: TPC : Total Plate Count

Koloni yang memiliki karakteristik yang berbeda, kemudian dilakukan pemurnian dan dihitung data IKF. IKF menunjukkan kemampuan masing-masing isolat dalam melarutkan P pada media agar Pikovskaya karena adanya produksi asam organik dan enzim fosfatase yang dikeluarkan disekeliling koloni mikroorganisme. Dengan demikian, semakin tingginya indeks pelarutan yang dihasilkan maka kemampuan bakteri dalam melarutkan P juga tinggi (Sagervanshi et al., 2012). Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter koloni dan zona bening berdasarkan metode (Karpagam and Nagalakshmi, 2014). Berdasarkan hasil pengukuran, selanjutnya dilakukan perhitungan indeks kelarutan fosfat dengan menggunakan rumus (Sharon et al., 2016).



$$\text{IKF} = \frac{\text{DK} + \text{ZB}}{\text{DK}}$$

Indeks Kelarutan Fosfat, DK: Diameter Koloni, ZB: Zona bening. Semakin besar indeks terhadap bakteri uji dapat diklasifikasikan berdasarkan besar indeks.

Tabel 1. Kategori Pelarutan Fosfat

Diameter (mm)	Kategori	Mulai Terbentuk Zona Bening
< 2,0	Rendah	< 3 Hari
< 2,5	Sedang	< 4 – 14 Hari
> 4,0	Tinggi	> 15 Hari

Sumber: Marra et al., (2011)

2.4.6 Karakterisasi Makroskopis

Karakterisasi makroskopis pada jenis bakteri khususnya untuk tujuan identifikasi, setelah mendapatkan kultur murni maka biakan yang diinginkan ditumbuhkan ke dalam media untuk dikenali ciri koloninya. Karakteristik koloni dapat diistilahkan sebagai morfologi koloni. Morfologi koloni merupakan cara para ilmuwan dapat mengidentifikasi bakteri secara makroskopis dengan mengamati morfologi koloni bakteri dengan cara melihat pertumbuhannya pada cawan petri (Cappuccino and Welsh, 2018)

2.4.7 Karakterisasi Morfologi

1. Pewarnaan gram

Jenis bakteri berdasarkan pewarnaan gram dibagi menjadi dua yaitu gram positif dan gram negatif. Pewarnaan gram menggunakan metode Christian gram (1884) dengan reagen pewarnaan gram yang tersaji pada Tabel 2. Berikut merupakan prosedur pewarnaan Gram (Kurniati et al., 2018):

Tabel 2. Reagen Pewarnaan Gram

Kode Pewarnaan	Larutan	Bahan	Jumlah Bahan
A	Hucker`s crystal violet	Crystal violet (gram)	2
		Alkohol 95% (ml)	20
		Amonium Oksalat (gram)	0,8
		Aquadest (ml)	80
B	Morgan Lugol`s Iodine	Iodine (gram)	1
		Kalium Iodine (gram)	2
		Aquadest (ml)	300
C	Pencuci	Alkohol 95% (ml)	70
		Aceton (ml)	30
D	Pewarna Bakteri	Safranin (ml)	0,5
		Alkohol 95% (ml)	100
		Aquadest (ml)	100



smear) yang telah dibuat dari isolat bakteri difiksasi
/iolet diteteskan sebagai pewarna utama pada preparat selama \pm 1

dengan akuades mengalir.

- d. Larutan Mordant (Iugol's iodine) diteteskan lalu dibiarkan selama \pm 1 menit.
- e. Preparat dicuci dengan akuades mengalir.
- f. Larutan pemucat (etanol 96%/aseton) diberikan setetes demi setetes hingga etanol yang jatuh berwarna jernih. Jangan sampai terlalu banyak (*overdecolorize*).
- g. Preparat dicuci dengan akuades mengalir.
- h. Larutan Counterstain (safranin) diteteskan dan dibiarkan selama \pm 45 detik.
- i. Preparat dicuci dengan akuades mengalir.
- j. Preparat dikeringkan dengan kertas tissue yang ditempelkan di sisi ulasan (jangan sampai merusak ulasan) lalu dibiarkan mengering di udara.

2. Pewarnaan Endospora

Berikut merupakan prosedur pewarnaan endospora dengan metode *Schaeffer-Fulton*:

- a. Preparat ulas disiapkan dari isolat lalu ditutup dengan kertas filter.
- b. Ulasan pada object glass ditetesi dengan Malachite green di atas kertas filter, kemudian diletakkan di atas air mendidih. Dibiarkan selama 5 menit dengan menjaga agar tidak kering. Jika bagian pinggir mulai mengering tambahkan lagi malachite green.
- c. Setelah dingin, object glass dibilas dengan akuades mengalir.
- d. Preparat ditetesi dengan safranin sebagai counter stain, kemudian didiamkan selama \pm 45 detik.
- e. Cuci preparat hingga kering dan dianginkan.

2.4.8 Karakterisasi Fisiologi

1. Uji Katalase

Pengujian bakteri dengan metode Uji Katalase (Lasmini et al., 2022), berikut:

- a. **Koloni bakteri** diambil secara aseptis dengan satu ose dan diinokulasikan pada object glass.
- b. **H₂O₂ 3%** diteteskan secukupnya pada object glass menggunakan pipet tetes.
- c. Adanya gelembung **diamati** untuk hasil positif dan tidak ada gelembung **diamati** untuk hasil negatif (**diperhatikan** perbedaan antara gelembung yang muncul dari sel dengan kumpulan sel yang mengambang akibat ditambahi reagen).

2. Uji SIM (*Sulfit Indol Motility*)

Media SIM merupakan agar semisolid yang digunakan untuk menilai adanya hidrogen sulfida (H₂S), timbulnya indol, serta motilitas atau pergerakan bakteri (Hartline, 2024). Widyia, (2019) mengatakan Isolat bakteri yang diperoleh diinokulasi pada media SIM dengan cara ditusuk tegak menggunakan jarum ose, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Terbentuknya H₂S merupakan indikator terbentuknya hidrogen sulfida (H₂S) hitam pada bagian bawah media yang berarti bakteri dapat menghasilkan H₂S (Sasi et al., 2019). Indol terbentuk akibat enzim tryptophanase yang mengubahnya larutan kovac menjadi merah. Motilitas isolat bakteri ditunjukkan dengan penyebaran koloni bakteri yang menyebar jauh dari jalur inokulasi dan keruh pada media sehingga media menjadi keruh (turbid) (Sudewi

