

SKRIPSI

Analisis Metagenomik pada Media Tanaman Tercekam Salinitas Yang Diinokulasi Agen Biostimulan

Disusun dan diajukan oleh :

**ASMAUL HUSNA
M011191260**



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

**Analisis Metagenomik pada Media Tanaman Tercekam
Salinitas yang Diinokulasi Agen Biostimulan**

Disusun dan diajukan oleh

**ASMAUL HUSNA
M011 19 1260**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kehutanan Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 4 Desember 2023
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama

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

**Pembimbing
Pendamping I**

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

**Pembimbing
Pendamping II**

Yeni Khairina, Ph.D
NIP. 199010052022022001

Mengetahui :

Ketua Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin

Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P
NIP. 19680410199512 2 001

Tanggal Lulus :

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Asmaul Husna
NIM : M011191260
Program Studi : Kehutanan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

“Pengaruh Pertumbuhan dan Analisis Metagenomik pada Media Tercekam Salinitas yang Diinokulasi Agen Biostimulan”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 4 Desember 2023

Yang menyatakan



Asmaul Husna

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. serta Sholawat dan salam senantiasa terlimpahkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tugas akhir skripsi dengan judul “**Analisis Metagenomik pada Media Tanaman Tercekam Salinitas yang Diinokulasi Agen Biostimulan**”. Penulis tentunya menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik pada penyelesaian penelitian maupun dalam penyusunan skripsi. Sehingga pada kesempatan yang luar biasa ini, penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.**, bapak **Iswanto S.Hut, M.Si.**, dan ibu **Yeni Khairina, Ph.D** selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu dan tenaga, memberi saran, motivasi dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Terkhusus penulis ucapkan salam hormat dan kasih sayang serta sebagai ungkapan terima kasih, skripsi ini penulis persembahkan kepada orangtua tercinta ayahanda **Bakri** dan ibunda **Nursia** serta adik tercinta **Zulfikram** yang selalu menjadi penyemangat penulis. Terima kasih yang sedalam-dalamnya atas kasih sayang, cinta, perhatian, nasihat, doa, serta dukungan kepada penulis sampai saat ini. Terimakasih selalu berjuang untuk kehidupan penulis. Sehatlah selalu dan hiduplah lebih lama lagi. Dengan segala kerendahan hati penulis juga mengucapkan rasa terima kasih khususnya kepada :

1. Bapak **Ir. Mukrimin, S.Hut., M.P., Ph.D., IPU** dan Ibu **Syahidah, S.Hut., M.Si., Ph.D** selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak/ibu **Dosen Fakultas Kehutanan** yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan serta **Staf Fakultas Kehutanan** yang selalu memberikan pelayanan terbaik dalam pengurusan administrasi.
3. Kepada seluruh **Kelompok Riset Interaksi Mikroba Tanaman Badan Riset Inovasi Nasional** yang sudah memberikan banyak ilmu pengetahuan, pengalaman serta bantuan selama penelitian.

4. Teman-teman **Laboratorium Bioteknologi angkatan 2019**, dan teman-teman **OLYMPUS** yang turut membantu dan memberikan dukungan terhadap penulis.
5. Keluarga besar **UKM Belantara Kreatif** khususnya **TALENTA 18**. Terima kasih telah kebersamaan penulis selama masa perkuliahan
6. Kepada kakak-kakak “**Ciwi Unhas**”, kak **Satriani Gassing**, kak **Dwi Sulastri**, dan kak **Sisilia Banten Tamorron** yang telah membantu dan membimbing penulis selama penelitian hingga dalam penyusunan skripsi.
7. Kepada sahabat tercinta **Nurul Istiqamah** dan **Hafizhah Nursyahriah S** yang selalu ada mendukung, menghibur dan menemani penulis. Terimakasih atas waktu dan segala bantuan selama masa perkuliahan.
8. Sahabat sejak SMA **Pandawa Delapan** tercinta **Andi Nurul Hikmah**, **Rika Reski Damayanti**, **Elma Amalia**, **St. Nurkhaliza**, **Putri Ardana Sari**, dan **Rifdha Nur Rofifah** yang tidak pernah berhenti memberikan dukungan terhadap penulis.
9. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan kontribusi selama masa perkuliahan dan masa penelitian sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan dan khususnya untuk penulis sendiri.

Makassar, 4 Desember 2023

Asmaul Husna

ABSTRAK

Asmaul Husna (M011 19 1260). Analisis Metagenomik pada Media tanaman Tercekam Salinitas yang Diinokulasi Agen Biostimulan di bawah bimbingan Siti Halimah Larekeng, Iswanto, dan Yeni Khairina.

Kadar garam dalam tanah yang tinggi berpengaruh terhadap fisiologi, morfologi, biokimia tanaman, bahkan ke tingkat molekuler tanaman. Sebagian besar pertumbuhan tanaman tidak lepas dari peran mikroorganisme tanah, akan tetapi mikroorganisme tanah sangat sensitif terhadap perubahan yang diakibatkan, sehingga perlu dilakukan penelitian pengaruh agen biostimulan terhadap komunitas bakteri yang terdapat pada tanah salin melalui metode analisis metagenomik. Metode penelitian diawali dengan Pengambilan Sampel dan ekstraksi DNA dengan metode KIT (ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit), Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Genom, dan analisis metagenomik di genetika sains. Berdasarkan hasil taxon visual barplot, bakteri dengan filum *Actinobacteria* dominan terdapat pada tanah tidak salin sedangkan bakteri dengan filum *Bacteroidota* dominan terdapat pada tanah salin. Sedangkan pada tingkat genus, bakteri *Sphingomonas* dominan terdapat pada tanah dengan salinitas tinggi.

Kata Kunci: Analisis Metagenomik, *Actinobacteria*, *Bacteroidota*, Biostimulan, Salinitas.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-------------------------------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | Error! Bookmark not defined. |
| PERNYATAAN KEASLIAN..... | ii |
| KATA PENGANTAR..... | iv |
| ABSTRAK | vi |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR..... | 1 |
| DAFTAR TABEL | 2 |
| DAFTAR LAMPIRAN | 3 |
| I. PENDAHULUAN | 4 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 4 |
| 1.2 Tujuan dan Kegunaan..... | 6 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 2.1 Tanah | 7 |
| 2.2 Bakteri pada Tanah..... | 8 |
| 2.3 Cekaman Salinitas..... | 9 |
| 2.4 Biostimulan..... | 10 |
| 2.5 Analisis Metagenomik | 12 |
| III. METODE PENELITIAN | 15 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian | 15 |
| 3.2 Alat dan Bahan Penelitian | 15 |
| 3.3 Prosedur Penelitian..... | 15 |
| 3.3.1 Pengujian toleransi salinitas pada skala rumah kaca..... | 16 |
| 3.3.2 Pengambilan Sampel | 18 |
| 2.3.3 Isolasi DNA Genom pada tanah | 18 |
| 2.3.4 Analisis Metagenomik..... | 21 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 23 |
| 4.1 Uji Efikasi Agen Biostimulan pada Kondisi Salin..... | 23 |
| 4.1.1 Hasil Pengukuran Tinggi Tanaman pada umur 45 HST | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 4.1.2 Hasil Pengukuran Jumlah Daun dan Jumlah Anakan pada umur 45 HST | 24 |
| 4.1.3 Hasil Pengukuran Kandungan Klorofil Daun pada umur 45 HST | 26 |
| 4.2 Isolasi DNA genom pada tanah | 27 |
| 4.2.1 Ekstraksi total DNA genom | 27 |
| 4.3 Analisis Metagenomik | 29 |
| 4.3.1 <i>Alpha Diversity</i> | 29 |
| 4.3.2 <i>Beta Diversity</i> | 31 |
| 4.3.3 Taxon Visual Barplot | 32 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | 41 |
| 5.1 Kesimpulan | 41 |
| 5.2 Saran | 41 |
| DAFTAR PUSTAKA | 42 |
| LAMPIRAN..... | 46 |
| Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan..... | 47 |
| Lampiran 2. Data hasil pengamatan 45 HST | 51 |
| Lampiran 3. Hasil uji lanjut kelayakan analisis metagenomik..... | 56 |
| Lampiran 4. Data Alpha Diversity | 60 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. Prosedur penelitian secara keseluruhan..... | 15 |
| Gambar 2. Plot uji efikasi agen biostimulan pada kondisi salin | 16 |
| Gambar 3. Grafik Tinggi Tanaman 45 HST..... | 23 |
| Gambar 4. Amplifikasi Primer 27F dan 1492R | 28 |
| Gambar 5. Diagram Index Alpha Diversity | 29 |
| Gambar 6. UPGMA berdasarkan <i>unweighted unifrac distance</i> | 31 |
| Gambar 7. Grafik jenis bakteri dengan filum terbanyak pada sampel tanah..... | 32 |
| Gambar 8. Grafik jenis bakteri dengan filum terbanyak pada sampel tanah..... | 33 |
| Gambar 9. Grafik jenis bakteri dengan Genus terbanyak pada sampel tanah | 36 |
| Gambar 10. Grafik jenis bakteri dengan filum terbanyak pada sampel tanah..... | 37 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. <i>My Tag</i> Hs Pro | 20 |
| Tabel 2. <i>My Tag</i> Hs standar | 20 |
| Tabel 3. KOD one PCR Master Mix | 20 |
| Tabel 4. Pengaruh agen biostimulan dan tingkat salinitas tanah terhadap jumlah daun dan jumlah anakan..... | 25 |
| Tabel 5. Pengaruh agen biostimulan dan tingkat salinitas tanah terhadap kandungan klorofil daun | 26 |
| Tabel 6. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA..... | 27 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan | 46 |
| Lampiran 2. Data hasil pengamatan 45 HST | 50 |
| Lampiran 3. Hasil uji lanjut kelayakan analisis metagenomik | 55 |
| Lampiran 4. Data <i>alpha diversity</i> | 59 |

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanah merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan tumbuh tanaman. Semakin baik kondisi tanah atau subur, maka pertumbuhan tanaman akan meningkat. Salah satu masalah yang banyak ditemukan pada lahan adalah salinitas tanah. Masalah salinitas tanah merupakan masalah umum dalam bidang lingkungan atau pertanian di seluruh dunia, yang dapat menyebabkan penurunan produktivitas dan hasil panen terutama di daerah kering. Jutaan hektar tanah menjadi tidak produktif karena adanya penimbunan garam dalam tanah. Penyebab tanah menjadi salin adalah intrusi air laut, air irigasi yang mengandung garam atau tingginya penguapan dengan curah hujan yang rendah sehingga garam-garam akan naik ke daerah perakaran, Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki potensi tanah salin yang sangat luas (Sihotang, 2021). Luas lahan yang terpengaruh garam di Indonesia diperkirakan sekitar 440.300 ha dengan kriteria agak salin 304.000 ha dan salin 140.300 ha (Purwaningrahayu *et al.*, 2017).

Cekaman salinitas berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman terutama pada tanaman yang termasuk kelompok glikofita yaitu tidak tahan garam. Pengaruh negatif dari salinitas karena rendahnya potensial osmotik larutan tanah, ketidakseimbangan unsur hara, pengaruh ion spesifik, dan kombinasi dari berbagai faktor tersebut. Kadar garam dalam tanah yang tinggi berpengaruh terhadap fisiologi, morfologi, biokimia tanaman, dan bahkan ke tingkat molekuler tanaman. Akumulasi ion Na dan Cl pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan daun berwarna kuning (klorosis), nekrosis serta tepi daun mengering dan menggulung. Salinitas dapat menurunkan kemampuan tanaman menyerap air sehingga menyebabkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Apabila tanaman menyerap garam berlebihan akan menyebabkan keracunan pada daun tua. Hal tersebut akan menyebabkan penuaan daun lebih awal dan mengurangi luas daun yang berfungsi pada proses fotosintesis (Purwaningrahayu *et al.*, 2017).

Menurut Ekamaida (2017), aktivitas organisme dalam tanah juga akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman yang pada akhirnya akan menentukan produktivitas lahan tempat mereka hidup. Mikroorganisme penghuni ekosistem tanah diperkirakan berjumlah seperempat dari seluruh organisme di bumi. Sebagian besar pertumbuhan tanaman tidak lepas dari peran mikroorganisme tanah untuk peranan hara yang dibutuhkan oleh tanaman, namun mikroorganisme tanah sangat sensitif terhadap perubahan yang diakibatkan pemanfaatan lahan seperti pemberian pupuk, pemakaian pestisida, pengolahan tanah, dan saat pemanenan. Populasi, jenis, dan aktivitas mikroorganisme dalam tanah tergantung pada kondisi tanah, sedangkan kondisi tanah tergantung pada sifat alami dan pengaruh non alami (Apsal, 2018).

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen biostimulan merupakan suatu alternatif untuk mengurangi penggunaan pupuk sintetik. Kelompok bakteri yang paling banyak digunakan sebagai agen biostimulan diantaranya *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. fluorescens*), *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. Serta sebagian kecil dari family *Enterobacteriaceae* (Mishra dan Arora, 2018). Genus *Bacillus* seringkali dipilih karena kemampuannya membentuk endospore dan memiliki beragam mekanisme spesies dan tingkat kelimpahan pada agroekosistem yang lebih tinggi dibandingkan dengan gen lainnya. Tingkat keberlangsungan hidup yang tinggi dan adaptif terhadap cekaman tertentu menjadi keunggulan lainnya (Saxena *et al.*, 2020).

Menurut Zhalnina *et al.* (2018), riset-riset terkait pengaruh tingginya keragaman mikroba pada zona rhizosfer untuk mengontrol fitopatogen telah lama dieksplorasi. Rhizosfer merupakan pertahanan pertama tumbuhan terhadap fitopatogen edafik yang menghambat tumbuhnya perakaran, sehingga pemberian bakteri sebagai agen biostimulan pada media tanaman yang tercekam salinitas dapat dilakukan untuk mengetahui pengaruh agen biostimulan pada komunitas bakteri yang terdapat pada media tanaman tersebut.

Hal yang dilakukan dalam membantu menganalisis keragaman komunitas bakteri yang tidak dapat dikultur yakni melalui analisis metagenomik. Secara detailnya, teknik metagenom ini adalah usaha membaca seluruh DNA dari komunitas mikroba dalam ekosistem kecil, misalnya segenggam tanah, sepuluh

mililiter air laut, atau isi perut manusia. Membaca seluruh cetak biru genetik dari seluruh spesies organisme yang ada pada satu ekosistem, ilmuwan berharap dapat mengetahui jenis organisme (mikroba) apa saja yang terdapat dalam ekosistem mikro tersebut, serta bagaimana mereka bekerja bersama. Pada satu gram tanah bisa saja dijumpai ribuan spesies mikroba, yang dari aspek genetik jauh lebih kompleks daripada genom manusia (Nuro, 2017). Metagenomik juga dapat memberikan peluang besar dalam penemuan diversitas enzim yang baru karena kita dapat mengeksplor genom mikroba secara langsung dari lingkungan habitatnya (Uchiyama dan Mizaki, 2009).

Metagenomik merupakan suatu pendekatan baru dalam analisis genom yang kompleks dalam lingkungan, yang diawali dengan isolasi DNA total langsung dari sampel lingkungan. Metagenomik digunakan dalam penelitian diberbagai bidang seperti pertanian, biologi, pengendalian polusi, energi, lingkungan, atmosfer, dan bidang lainnya. Mikroorganisme khususnya mikroba berkisar dari darat hingga laut dan lingkungan ekstrem. Salah satunya, mikroorganisme terdapat banyak di dalam tanah, dan penelitian metagenomik menunjukkan bahwa tanah merupakan sumber antibiotik dan antijamur yang potensial (Gillespie *et al.*, 2002).

Berdasarkan penjelasan diatas, maka dilakukan penelitian uji efektifitas agen biostimulan untuk dijadikan salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam mengatasi permasalahan salinitas tanah dengan pengaplikasian agen biostimulan berupa bakteri potensi pada tanah yang tercekam salinitas agar dapat membantu perkembangan pertumbuhan tanaman serta pengaruh agen biostimulan terhadap komunitas bakteri yang terdapat pada tanah salin melalui metode analisis metagenomik.

1.2 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan dari penelitian adalah sebagai berikut :

1. Analisis pengaruh biostimulan terhadap pertumbuhan tanaman pada media tercekam salinitas
2. Analisis metagenomik guna memberikan informasi terkait struktur komunitas bakteri pada media tercekam salinitas yang diinokulasi agen biostimulan

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanah

Tanah merupakan tempat tinggal berbagai kehidupan tumbuhan, hewan dan jasad renik yang tidak terhitung banyaknya. Kehidupan di dalam tanah sangat beranekaragam dan mempunyai populasi mikroorganisme yang berbeda. Berbagai populasi dan habitat di dalam tanah bersama sama membentuk ekosistem. Dalam suatu ekosistem tanah terdapat berbagai mikroba yang bertahan hidup dan berkompetisi dalam memperoleh ruang, oksigen, air, hara dan kebutuhan hidup lainnya, baik secara simbiotik maupun non simbiotik sehingga membentuk berbagai interaksi antar mikroba (Apsal, 2018).

Tanah dihuni oleh berbagai macam mikroorganisme, seperti bakteri, aktinomycetes, jamur dan alga. Mikroorganisme di dalam tanah tersebut sangat membantu dalam proses dekomposisi atau memecah bahan-bahan organik. Jumlah mikroorganisme tergantung pada jumlah dan susunan bahan yang dirombak, pH, kelembaban, aerasi, dan kondisi lingkungan lainnya. Keberadaan mikroorganisme juga dapat menggambarkan kualitas dari tanah. Semakin tinggi jumlah mikroorganisme mengindikasikan suasana baik kimia maupun fisika di dalam tanah tersebut sangat mendukung. Hal ini mengingat antara sifat fisika, kimia, dan biologi tidak dapat terpisahkan dan saling berkaitan erat dengan kualitas tanah yang menandakan tanah tersebut terlihat subur atau kurang subur serta ditandai juga dengan keberadaan mikroorganisme yang terdapat pada tanah tersebut (Apsal, 2018).

Faktor yang sangat menentukan keberhasilan tumbuh tanaman adalah kondisi tanah atau lahan yang digunakan. Semakin baik kondisi tanah atau subur, maka pertumbuhan tanaman akan meningkat. Salah satu masalah yang banyak ditemukan pada lahan-lahan pertanian adalah salinitas tanah. Masalah salinitas tanah merupakan masalah umum dalam bidang pertanian di seluruh dunia, yang dapat menyebabkan penurunan produktivitas dan hasil panen terutama di

daerah kering. Jutaan hektar tanah menjadi tidak produktif karena adanya penimbunan garam dalam tanah (Sihotang, 2021).

2.2 Bakteri pada Tanah

Tanah merupakan habitat bagi organisme dari yang berukuran mikro (bakteri, cendawan, dan nematode) hingga mikroorganisme yang berukuran makro (cacing dan predator). Masing-masing dari mikroorganisme ini memiliki peran yang penting dalam siklus yang terjadi di dalam tanah. Selain itu tanah juga merupakan tempat tumbuh tanaman. Sehingga antara tanaman dengan organisme dalam tanah terjadi suatu hubungan saling ketergantungan yang sangat erat. Oleh karena itu, populasi organisme tanah ditentukan oleh kualitas vegetasi di atasnya (Ekamaida, 2017).

Sebaliknya, aktivitas organisme dalam tanah juga akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman yang pada akhirnya akan menentukan produktivitas lahan tempat mereka hidup. Mikroorganisme penghuni ekosistem tanah diperkirakan sejumlah seperempat dari seluruh organisme di bumi. Dapat dilustrasikan bahwa dalam satu sendok teh tanah kebun yang subur dapat ditemukan ribuan spesies, milyaran individu bakteri dan ratusan meter jaringan hifa jamur di dalamnya walau ukurannya sangat kecil (Ekamaida, 2017).

Mikroorganisme tanah merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi kesuburan tanah. Sebagian besar pertumbuhan tanaman tidak lepas dari peran mikroorganisme tanah untuk peranan hara yang dibutuhkan oleh tanaman. Tetapi mikroorganisme tanah sangat sensitif terhadap perubahan yang diakibatkan pemanfaatan lahan seperti pemberian pupuk, pemakaian pestisida, pengolahan tanah, dan saat pemanenan. Populasi, jenis, dan aktivitas mikroorganisme dalam tanah tergantung pada kondisi tanah, sedangkan kondisi tanah tergantung pada sifat alami dan pengaruh non alami. Pengaruh alami diantaranya iklim mikro sedangkan non alami disebabkan manusia. seperti pemakaian pestisida dan pemberian pupuk kimia. Di lahan rawa pasang surut juga terdapat mikroorganisme perombak bahan organik yang terdiri dari jamur dan bakteri. Pada kondisi anaerob sebagian besar adalah bakteri. Perombak secara anaerob antara lain terdiri atas *Clostridium*, *Methanobacter*, dan *Methanococcus*.

Fungi berperan penting dalam proses dekomposisi bahan organik untuk semua jenis tanah. Fungi toleran pada kondisi tanah yang asam, yang membuatnya penting pada tanah tanah bersifat masam terutama di lahan rawa pasang surut (Apsal, 2018).

2.3 Cekaman Salinitas

Cekaman lingkungan adalah kondisi lingkungan memberikan tekanan pada tanaman dan mengakibatkan respon tanaman terhadap faktor lingkungan tertentu lebih rendah daripada respons optimumnya pada kondisi normal. Titik kritis pengaruh cekaman kekeringan adalah kelayuan, yaitu suatu gejala defisit yang terjadi jika besarnya transpirasi melampaui laju penyerapan air yang dilakukan akar, sehingga dapat mengganggu berbagai proses fisiologi tanaman. Cekaman merupakan segala kondisi lingkungan yang memungkinkan akan menurunkan dan merugikan pertumbuhan atau perkembangan tumbuhan pada fungsi normalnya. Salah satu cekaman lingkungan yang terjadi pada tumbuhan adalah cekaman salinitas (Rachman *et al.*, 2018).

Tanah salin adalah tanah dengan kandungan garam mudah larut (NaCl, Na₂CO₃, Na₂SO₄) yang tinggi, sehingga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Baik dan buruknya pengaruh salinitas dapat dipengaruhi oleh spesies tanaman yang mempunyai tingkat kerentanan tertentu terhadap salinitas tanah, karakteristik tanah (khususnya tanah tergolong salin apabila ekstrak jenuh dari tanah salin mempunyai nilai DHL (daya hantar listrik) atau EC (*electrical conductivity*) lebih besar dari 4 dS/m (ekivalen dengan 40 m M NaCl) dan persentase natrium yang dapat ditukar (ESP= *exchangeable sodium percentage*) kurang dari 15 (Rachman *et al.*, 2018).

Setiap jenis organisme mempunyai kisaran toleransi yang berbeda terhadap faktor-faktor lingkungan. Tanah salin adalah tanah yang mempunyai kandungan natrium berada di atas ambang batas kritis atau ambang batas toleransi tanaman. Natrium (Na) disebut juga sodium dan dikenal pula dengan garam, kami lebih suka menuliskan natrium agar tidak bertukar arti dengan garam dalam istilah kimia yang tidak selalu diartikan natrium (Rachman *et al.*, 2018).

Peningkatan kadar garam dalam tanah umumnya dapat terjadi karena tingginya input atau masukan air yang mengandung garam, misalnya akibat terjadinya intrusi air laut (baik yang terjadi secara berkala atau secara sekaligus seperti akibat tsunami) atau masuknya aliran air dengan kadar garam tinggi ke saluran irigasi misalnya akibat pencemaran limbah cair pabrik, lebih tingginya evaporasi dan evapotranspirasi dibandingkan presipitasi (curah hujan), dan bahan induk tanah yang mengandung deposit garam. Oleh karena itu, tanah dengan salinitas tinggi bukan hanya ditemui di daerah yang berdekatan dengan pantai. Dapat juga terjadi pada lahan yang berjauhan dengan pantai misal lahan kering dengan curah hujan yang sangat rendah atau lahan sawah yang air irigasinya tercemar limbah pabrik berkadar garam tinggi (Rachman, *et al.*, 2018).

Permasalahan dalam pemanfaatan tanah salin untuk budidaya tanaman adalah tingginya kadar garam terlarut utamanya NaCl. Salinitas menurunkan kemampuan tanaman menyerap air sehingga menyebabkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Apabila tanaman menyerap garam berlebihan akan menyebabkan keracunan pada daun tua. Hal tersebut akan menyebabkan penebaran daun lebih awal dan mengurangi luas daun yang berfungsi pada proses fotosintesis (Sihotang, 2021).

2.4 Biostimulan

Biostimulan merupakan bahan yang mengandung mikroorganisme. Biostimulan dapat berfungsi untuk menstimulasi proses alami tanaman guna meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Menurut Umahati (2018) biostimulan merupakan beberapa zat atau mikroorganisme yang diaplikasikan pada tanaman guna meningkatkan efisiensi unsur hara, meningkatkan toleran stress secara abiotik dan meningkatkan kualitas suatu tanaman tanpa melihat unsur hara yang terkandung.

Menurut *European Industry Biostimulant* bahwa biostimulan tanaman mengandung substansi dan mikroorganisme yang fungsinya bila diaplikasikan pada tanaman atau rhizosfer dapat merangsang proses alami untuk meningkatkan nutrisi, efisiensi unsur hara, toleransi terhadap tekanan abiotik (stres) dan kualitas tanaman (Umahati, 2018).

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen biostimulan atau biostimulan merupakan suatu alternatif untuk mengurangi hingga menghilangkan penggunaan pestisida sintetik. Hubungan antagonistik antar mikroba telah lama dipelajari untuk pengembangan produk agen biostimulan. Pada bakteri, beberapa penelitian berfokus pada interaksi antagonis antara patogen dan inangnya (Verma et al., 2017).

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen biostimulan riset tentang agen biokontrol pertama kali dilakukan pada awal abad ke-19, menggunakan mikroorganisme atau pun metabolitnya untuk mengatasi penyakit pada tanaman pangan (Singh dan Yadav, 2020). Kelompok bakteri yang paling banyak digunakan diantaranya *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. fluorescens*), *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. serta sebagian kecil dari familia *Enterobacteriaceae*. Genus *Bacillus* seringkali dipilih karena kemampuannya membentuk endospora dan memiliki beragam mekanisme antagonistik. Genus *Bacillus* memiliki keragaman spesies dan tingkat kelimpahan pada agroekosistem yang lebih tinggi dibandingkan dengan genera lainnya. Tingkat keberlangsungan hidup yang tinggi dan adaptif terhadap kondisi cekaman tertentu juga menjadi keunggulan lainnya). Bakteri ini memiliki produk metabolit yang beragam dan potensial sebagai antibiotik. Hayati merupakan suatu alternatif untuk mengurangi hingga menghilangkan penggunaan pestisida sintetik. Hubungan antagonistik antar mikroba telah lama dipelajari untuk pengembangan produk agen biostimulan. Beberapa penelitian mengenai mikroba berfokus pada interaksi antagonis antara patogen dan inangnya (Saxena et al., 2020).

Mekanisme agen biostimulan dalam memengaruhi pertumbuhan, perkembangan, dan pola infeksi fitopatogen, meliputi: hiperparasitisme dan predasi, produksi senyawa dengan berat molekul ringan dan memiliki efek langsung, seperti antibiotik (fenazin, 2,4-diacetylfloroglucinol, lipopeptida siklik), enzim litik (kitinase, glukonase, protease), atau metabolit residu (amonia, karbon dioksida, asam sianida), dan melalui mekanisme pertahanan tidak langsung, seperti kompetisi untuk ruang hidup, penyerapan nutrisi, konsumsi eksudat akar, produksi siderofor, dan induksi respon pertahanan sistemik (Chen et al., 2016).

Berbagai penelitian molekuler menunjukkan bahwa sekitar 4% genom *Bacillus* terkait dengan produksi senyawa metabolit sekunder untuk mengontrol fitopatogen, bahkan pada *B. amyloliquefaciens* FZB42 mencapai 8,5%. *Bacillus* spp. juga dapat berperan sebagai rhizobakteri yang merangsang pertumbuhan tanaman (biostimulan) (Chen *et al.*, 2016).

Selain meningkatkan pertumbuhan tanaman, biostimulan juga dapat memperbaiki karakteristik tanah. Struktur tanah secara nyata dapat meningkat dari waktu ke waktu seperti meningkatkan pertumbuhan akar dan saluran akar lebih banyak, polisakarida yang diproduksi oleh mikroba merupakan kantung perekat antara mikroba dengan tanah, meningkatkan aktivitas mikoriza, dan meningkatkan aktivitas cacing tanah yang dapat menciptakan liang yang merupakan saluran untuk udara dan air, sehingga proses pertukaran udara yang terjadi lebih banyak, resapan air meningkat dan mengurangi terjadinya erosi. Pemadatan berkurang sehingga akar bisa leluasa mengeksplorasi tanah untuk nutrisi dan air akibatnya pertumbuhan tanaman menjadi baik (Syltie, 2011).

2.5 Analisis Metagenomik

Mikroorganisme yang tidak dapat dikulturkan dengan teknik standar diperkirakan masih ada sekitar 99%. Metagenomik muncul sebagai metode baru yang dapat mempelajari genom kolektif dari anggota komunitas mikroba yang tidak dapat terkulturkan dengan teknik standar. Metode metagenomik diawali dengan isolasi DNA total dari semua mikroorganisme dalam sampel tanpa dikulturkan terlebih dahulu (Prakoso *et al.*, 2017).

Metagenomik merupakan cara yang sangat tepat untuk mengetahui komunitas mikroba yang tidak dapat dikulturkan atau *unculturable* pada lingkungan tertentu. Prinsip analisis keragaman secara metagenomik dilakukan berdasarkan analisis DNA yang diambil langsung dari suatu komunitas atau ekosistem. DNA dari suatu komunitas dapat langsung dianalisis keragaman dan diidentifikasi menggunakan penanda filogenetik seperti gen 16s rRNA (*ribosome-RiboNucleic Acid*) (Mahyarudin, 2014).

Secara detail, teknik metagenom adalah usaha membaca seluruh DNA dari komunitas mikroba dalam ekosistem kecil, misalnya segenggam tanah, sepuluh

mililiter air laut, atau sedikit sampel dari perut manusia. Dengan membaca seluruh sekuen DNA (cetak biru genetik) dari seluruh spesies organisme pada satu ekosistem, ilmuwan berharap dapat mengetahui berbagai jenis organisme (mikroba) dalam ekosistem mikro tersebut, serta interaksinya satu dengan yang lain. Keanekaragaman mikroba dalam ekosistem mikro sekalipun sangatlah tinggi sehingga teknik ini pun tidak mudah diterapkan. Dalam satu gram tanah subur atau satu mililiter air laut misalnya, dapat saja dijumpai ribuan spesies mikroba, sehingga secara genetik sangat kompleks. Selain menggunakan sampel ekosistem dari kondisi yang biasa, para peneliti juga mencoba membaca metagenom dari lingkungan ekstrim seperti dasar laut dalam dan daerah pertambangan terkontaminasi (Nuro, 2017).

Aplikasi metagenom telah banyak dilakukan termasuk pada sampel tanah sampai saat ini. Penelitian metagenomik tanah telah berkembang pesat untuk mengeksplorasi mikroba tanah yang menguntungkan antara lain mikroba penghasil enzim. Metode eksplorasi metagenomik dapat dilakukan secara kualitatif maupun kuantitatif berbasis kit, kit yang dimodifikasi maupun manual (buffer ekstraksi) (Tanveer *et al.* 2016).

Metagenomik didasarkan pada kloning gen. Prosedur dasar metagenomik terdiri dari langkah-langkah berikut. Pertama, semua gen dalam sampel mikroba lingkungan diekstraksi dan diperkaya. Kedua, gen diklon ke dalam vektor, yang diubah menjadi bakteri inang untuk membentuk perpustakaan metagenomik. Terakhir, perpustakaan metagenomik disaring dan dianalisis. Ekstraksi DNA metagenomik dan konstruksi serta penyaringan perpustakaan metagenomik sangat penting (Gabor *et al.*, 2003).

Mengekstraksi DNA total mikroba lingkungan dengan konsentrasi tinggi dan fragmen besar merupakan langkah paling penting dalam membangun perpustakaan metagenomik. Ada dua poin penting untuk mengekstraksi DNA metagenomik, yaitu mengekstraksi semua gen dari semua mikroorganisme dalam sampel dan menjaga keutuhan dan kemurnian fragmen. Pengumpulan sampel harus mengikuti prosedur yang ketat untuk mengekstraksi DNA sebanyak mungkin dan mempertahankan fragmen DNA yang besar. (Gabor *et al.*, 2003).

Ukuran sampel tergantung pada konsentrasi mikroba. Tingginya kepadatan mikroorganisme seperti sampel tinja mungkin hanya memerlukan sampel usap dubur. Namun, untuk mempelajari komunitas mikroba laut, yang merupakan mikroorganisme dengan kepadatan rendah, sejumlah besar sampel air dikumpulkan dan dipekatkan melalui filter karena sampel perlu didekontaminasi. Misalnya, asam humat dalam tanah seringkali terikat erat dengan DNA, sehingga asam humat perlu dihilangkan selama persiapan sampel. Saat mempelajari mikroorganisme pada manusia atau hewan, kontaminasi DNA pada sampel dan inang harus dihilangkan (Gabor *et al.*, 2003).