

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI RHIZOSFER DARI SEDIMENT MANGROVE JENIS *RHIZOPORA SP.* DI EKOSISTEM MANGROVE TAPAK, SEMARANG

*ISOLATION AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF RHIZOSPHERE BACTERIA FROM RHIZOPORA SP. MANGROVE SEDIMENTS IN THE TAPAK MANGROVE ECOSYSTEM, SEMARANG*

Siti Dinda Chrisnawati<sup>1</sup>, Aninditia Sabdaningsih<sup>1,2,3\*</sup>, Oktavianto Eko Jati<sup>2,3</sup> & Diah Ayuningrum<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Jalan Prof. Soedarto No. 13, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah, 50275

<sup>2</sup>Departemen Sumber Daya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Jalan Prof. Soedarto No. 13, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah, 50275

<sup>3</sup>Laboratorium Pengelolaan Sumber Daya Ikan dan Lingkungan, Universitas Diponegoro, Jalan Prof. Soedarto No. 13, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah, 50275

\*Corresponden author email: aninditiababdansih@live.undip.ac.id

Submitted: 02 August 2022 / Revised: 02 August 2023 / Accepted: 05 August 2023

<http://doi.org/10.21107/jk.v16i2.15952>

### ABSTRAK

*Ekosistem mangrove merupakan ekosistem yang memiliki tingkat kesuburan lebih tinggi dibandingkan dengan yang lainnya karena lokasinya yang masih dipengaruhi pasang surut air laut. Kesuburan tersebut juga dipengaruhi oleh tingginya unsur hara yang terkandung dalam sedimen khususnya rhizosfer atau sedimen yang berada di area sistem perakaran. Hal tersebut juga mendukung adanya pertumbuhan bakteri. Bakteri yang hidup di rhizosfer disebut dengan bakteri rhizosfer yang memiliki peranan penting dalam siklus biogeokimia sehingga dapat mengontrol lingkungan kimia mangrove. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui isolat dan jenis dari bakteri rhizosfer yang didapatkan. Pengambilan sampel dilakukan di ekosistem mangrove Tapak pada November 2021 dan analisis sampelnya dilakukan pada bulan November 2021 – Februari 2022. Penelitian ini menggunakan pendekatan eksploratif. Sampel sedimen diambil pada 3 stasiun menggunakan sediment core. Sampel sedimen kemudian diisolasi pada media GSP dan nutrient agar untuk mendapatkan isolat murni. Sebanyak 19 isolat diperoleh dengan 9 isolat Gram positif dan 10 isolat Gram negatif, seluruh bentuk sel yang didapatkan adalah basil. Isolat TC.1c dilakukan identifikasi molekuler menggunakan primer universal 27F dan 1492R dengan amplifikasi gen 16S rRNA. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat TC.1c merupakan *Bacillus mycoides* yang memiliki potensi dalam mendegradasi bahan organic dan berperan dalam siklus denitrifikasi.*

**Kata kunci:** Mangrove, PCR, Rhizosfer, Sedimen

### ABSTRACT

*The mangrove ecosystem is an ecosystem that has a higher fertility level compared to others because of its location, which is still influenced by the tides of seawater. This fertility is also influenced by the high nutrient content contained in sediments, especially in the rhizosphere or sediments that are present in the root system area. This also supports the growth of bacteria. Bacteria that live in the rhizosphere are called rhizosphere bacteria, which plays an important role in the biogeochemical cycle, thus being able to control the chemical environment of the mangrove. The objective of this study was to determine the isolates and types of rhizosphere bacteria obtained. Sampling was conducted in the Tapak mangrove ecosystem On November 2021, and sample analysis was carried out from November 2021 to February 2022. This study utilized an exploratory approach. Sediment samples were taken at 3 stations using a sediment core. The sediment samples were then isolated on GSP and nutrient agar media to obtain pure isolates. A total of 19 isolates were obtained, with 9*

Gram-positive isolates and 10 Gram-negative isolates, and all the cell forms obtained were bacilli. Isolate TC.1c was molecularly identified using the universal primers 27F and 1492R with amplification of the 16S rRNA gene. The identification results indicate that the TC.1c isolate is *Bacillus mycoides*, which has the potential for degrading organic matter and plays a role in the denitrification cycle.

**Keywords:** Mangrove, PCR, Rhizosphere, Sediment

## PENDAHULUAN

Ekosistem mangrove merupakan ekosistem yang sangat kompleks dikarenakan wilayahnya berada di daerah peralihan antara perairan tawar dengan perairan asin yang masih dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Hal tersebut dapat dilihat juga dari hubungan timbal balik antar hewan, tumbuhan dan lingkungannya (Eddy et al., 2019), selain itu juga dari keadaan lingkungan yang berubah-ubah sesuai dengan musim dan gradien ruang (seperti perubahan salinitas, siklus pasang-surut, anoksia sedimen, dan ketidakstabilan tanah) (Capdeville et al., 2019). Ekosistem mangrove juga dikenal dengan ekosistem yang memiliki tingkat produktivitas perairan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekosistem yang berada di wilayah pesisir lainnya (Eddy et al., 2015). Hal tersebut sesuai dengan kondisi ekosistem mangrove yang berada di Desa Tapak, Kecamatan Tugu, Kota Semarang.

Ekosistem mangrove di Tapak merupakan salah satu ekosistem yang dijadikan sebagai tempat edukasi-wisata yang berlokasi di sepanjang sungai Tapak, Semarang dan dikelilingi oleh tambak tradisional ikan bandeng dan udang. Lokasinya yang berada di sepanjang sungai Tapak ini menyebabkan akses jalan hanya bisa dilalui oleh perahu, dimana hal tersebut menyebabkan ekosistem mangrove ini berpotensi mendapat pengaruh dari limbah bahan bakar perahu (solar). Selain itu, sungai Tapak juga merupakan tempat yang diduga sebagai pembuangan limbah industri, salah satunya yaitu dari pabrik sabun (Afif et al., 2014). Letak dan kondisi tersebut merupakan faktor yang menyebabkan kandungan bahan organik dan bahan anorganik di ekosistem mangrove Tapak tinggi yang membuatnya kaya akan unsur hara terutama pada sedimen. Unsur hara yang tinggi dapat dikatakan subur untuk pertumbuhan makro dan mikro organisme air payau. Keberagaman mikroba di ekosistem mangrove disebabkan oleh letak geografis, pH, suhu, salinitas, kelembapan dan nutrisi yang berbeda pada setiap daerah (Xu et al., 2014). Keberagaman komunitas mikroba juga sangat tinggi di sedimen mangrove (Capdeville et al., 2019).

Sedimen merupakan padatan yang terdiri atas batuan-batuhan melalui proses fisika kimia. Area sedimen yang letaknya berada di sistem perakaran tanaman disebut dengan rhizosfer. Luas dari area rhizosfer ini berdasarkan cakupan luas area yang masih terpengaruh oleh sistem perakaran tersebut. Aktivitas yang berada di rhizosfer mangrove mengakibatkan tingginya produktivitas ekosistem mangrove (Zhang et al., 2017). Tingginya produktivitas tersebut menjadi pendukung adanya kehidupan mikroba di dalamnya. Berbagai bakteri tumbuh di area rhizosfer dan juga *rhizoplane* (permukaan perakaran) (Sari, 2015). Bakteri yang hidup di sekitar perakaran mangrove disebut dengan bakteri rhizosfer (Saputri et al., 2021).

Terdapat beberapa kelompok bakteri yang hidup di rhizosfer antara lain yaitu, bakteri penambat nitrogen, bakteri pelarut fosfat, bakteri pelarut sulfur, bakteri *anoxygenic* fotosintesis, bakteri metanogenik dan bakteri produksi enzim. Jenis bakteri yang hidup di rhizosfer yaitu *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp, *Vibrio* sp dan *Acinetobacter* sp. Bakteri-bakteri tersebut memiliki peranan yang sangat penting dalam proses dekomposisi dan siklus biogeokimia pada sedimen mangrove, serta sebagai penyanga kehidupan di ekosistem mangrove. Komunitas bakteri memiliki peran penting di ekosistem mangrove dalam siklus biogeokimia (karbon, nitrogen, belerang dan fosfor) sehingga dapat mengontrol lingkungan kimiawi mangrove (Thatoi et al., 2013).

Informasi mengenai bakteri dan potensinya dapat diketahui dengan cara melakukan identifikasi bakteri. Identifikasi molekuler bakteri merupakan suatu cara mengidentifikasi bakteri menggunakan materi genetik yang dimiliki bakteri. Identifikasi molekuler bakteri dianggap lebih akurat jika dibandingkan dengan identifikasi menggunakan uji biokimia, karena tidak dipengaruhi oleh faktor internal seperti tahap pertumbuhan maupun faktor eksternal seperti lingkungan tempat tumbuhnya (Sogandi, 2018). Salah satu cara identifikasi bakteri secara molekuler yaitu melalui amplifikasi gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA ada pada setiap bakteri dan memiliki variasi yang cukup untuk membedakan spesies bakteri dan memiliki bagian

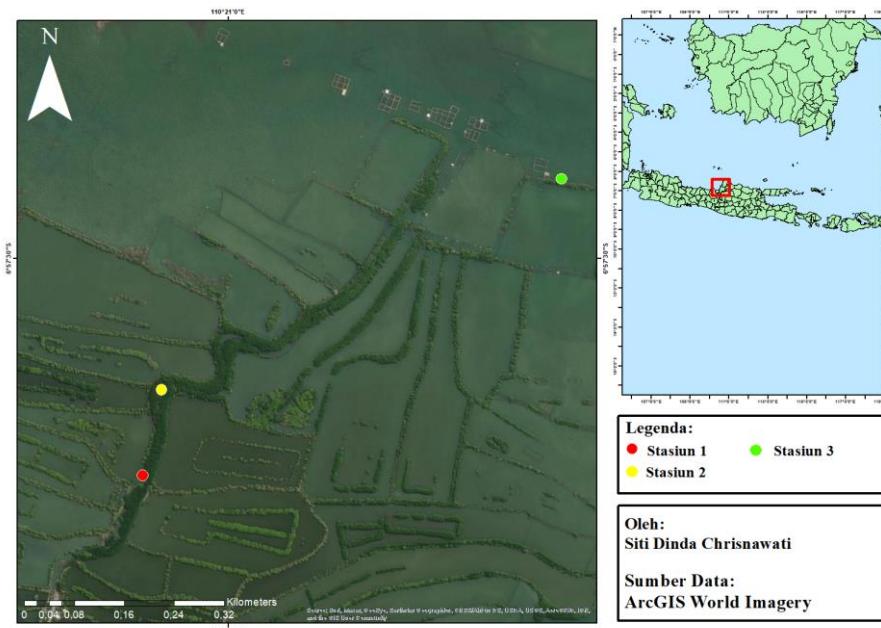
terkonservasi (*conserved*) (Sune et all., 2020). Gen 16S rRNA ini memiliki panjang urutan basa yang berkisar 1.550 bp (Noer, 2021). Dalam metode ini, fragmen gen 16S rRNA diekspos dari sampel bakteri dan kemudian direplikasi secara eksponensial menggunakan reaksi PCR (Polymerase Chain Reaction). Hasil PCR kemudian diamati dan dibandingkan dengan basis data genetik untuk mengidentifikasi bakteri dengan akurasi tinggi. GenBank merupakan penyimpanan data nukleotida terbesar, memiliki lebih dari 20 juta sekuen yang disimpan, di mana lebih dari 90.000 merupakan sekuen gen 16S rRNA (Akram et al., 2017). Keuntungan dari metode PCR yaitu prosesnya yang cepat namun memiliki keakuratan yang tinggi (Akihary dan Kolondam, 2020).

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui isolat dan jenis dari bakteri rhizosfer di Ekosistem Mangrove Tapak, Semarang melalui amplifikasi Gen 16S rRNA serta menjelajahi potensi dari bakteri yang ditemukan untuk penelitian lanjut dan mendalam mengenai ekologi mikroba di ekosistem mangrove.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021 sampai Februari 2022.



Gambar 1. Lokasi Penelitian dan Stasiun Pengambilan Sampel Sedimen Rhizosfer

### Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode tuang (*pour plate*).

Pengambilan sampel berlokasikan di Ekosistem Mangrove Tapak, Semarang (**Gambar 1**). Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium *Tropical Marine Biotechnology*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.

### Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* dengan metode *composite sampling*. Sampel diambil pada sedimen yang berada di sekitar rizosfer mangrove (10-20 cm) menggunakan *coring* (Saputri et al., 2021). Sampel diambil pada 3 stasiun dengan pengulangan sebanyak 3 kali di mangrove jenis *Rhizophora mucronata*, mangrove jenis ini sangat umum dan melimpah di ekosistem mangrove khususnya di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini akan memberikan informasi tentang keanekaragaman hayati mikroba di ekosistem mangrove dengan jenis *Rhizophora mucronata*. Stasiun 1 berada di dekat dermaga, stasiun 2 berada di dekat lokasi pembibitan mangrove dan stasiun 3 berada di dekat muara (**Gambar 1**). Pemilihan lokasi ini berdasarkan asupan kandungan organik dan anorganik yang dapat mempengaruhi kelimpahan bakteri. Selanjutnya, sampel dikompositkan dan disimpan dalam plastik zipper steril. Parameter lingkungan yang diukur meliputi pH dan salinitas.

Sampel sedimen terlebih dahulu dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-3}$ , dengan menimbang 1 gr sampel sedimen dan masukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL

aquades steril lalu homogenkan. Hasil pengenceran kemudian diambil masing-masing 1000  $\mu$ L dan masukkan ke dalam cawan petri. Tuangkan media GSP (*Glutamate Strach Phenol*) ke dalam cawan petri lalu homogenkan. Inkubasi pada suhu 32°C selama  $\pm$ 48 jam (Hamzah et al., 2017). Isolat yang didapatkan kemudian dipurifikasi sebanyak 2-3x untuk mendapatkan isolat bakteri yang murni di media *nutrient agar* (NA).

### Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan menggunakan Gram Stains-Kit dari Himedia. Pertama, teteskan aquades sebanyak 1 tetes pada *slides glass*, kemudian oleskan isolat bakteri dan keringkan diatas api bunsen, lalu teteskan Gram A dan tunggu 1 menit. Bilas menggunakan air mengalir, kemudian teteskan Gram B dan tunggu 1 menit lalu bilas menggunakan air mengalir. Setelahnya, teteskan Gram C hingga warna menghilang. Terakhir, teteskan Gram D dan tunggu 1 menit kemudian bilas menggunakan air mengalir. Isolat bakteri kemudian dapat diamati pada mikroskop dengan perbesaran 1000x. Bakteri yang merupakan Gram positif akan berwarna ungu dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah (Ibrahim et al., 2017).

### Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan agar dapat mengetahui spesies dari bakteri rhizosfer. Isolat bakteri terpilih dilakukan ekstraksi DNA

menggunakan metode *chelex*. Tahap selanjutnya yaitu dapat diamplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR (Arfarita et al., 2019). Proses PCR dilakukan dengan mencampurkan 2 $\mu$ L DNA template dan mix PCR dengan komposisi (1 $\mu$ L Primer 27F, 1 $\mu$ L Primer 1492R, 12,5 $\mu$ L *My Taq Green* dan 8,5 $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O). Proses selanjutnya yaitu menguji hasil amplifikasinya dengan elektroforesis menggunakan gel agarose 1% untuk mengetahui panjang pitanya. Produk hasil PCR kemudian dikirimkan ke PT. Genetika Science untuk menentukan sekvens gen 16S rRNA yang kemudian dapat dianalisis menggunakan software MEGA 11.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel sedimen diambil dari ekosistem mangrove yang berlokasi di Desa Tapak, Kelurahan Tugurejo, Kecamatan Tugu, Kota Semarang. Ekosistem tersebut ditumbuhi oleh 3 jenis mangrove yaitu *Rhizophora* sp., *Avicennia* sp. dan *Bruguiera* sp. Sampel sedimen yang diambil merupakan jenis sedimen rhizosfer yaitu sedimen yang berada di dekat perakaran pohon mangrove jenis *Rhizophora mucronata* dengan karakteristik sedimen berlumpur dan memiliki warna hitam. Lingkungan ekosistem mangrove tersebut tergolong masam yaitu dengan rata-rata pH tanah berkisar 5,51 – 5,84 dan rata-rata salinitasnya berkisar 20,90 – 27,45‰ yang tergolong normal untuk perairan payau (**Tabel 1**). Menurut Afrina et al. (2020), nilai salinitas pada perairan payau berkisar antara 0,5 – 30‰.

**Tabel 1.** Hasil Pengamatan Parameter Lingkungan

Stasiun	Titik Pengulangan	pH	Salinitas (%)
A	1	5,52	30,33
	2	5,49	29,33
	3	5,78	22,7
X		<b>5,60</b>	<b>27,45</b>
B	1	5,67	27
	2	5,71	25,70
	3	5,80	27
X		<b>5,73</b>	<b>26,57</b>
C	1	5,66	20,33
	2	5,94	22
	3	5,93	21,33
X		<b>5,84</b>	<b>21,22</b>

Keterangan: Stasiun A= dekat dengan dermaga, Stasiun B= dekat dengan lokasi pembibitan, Stasiun C= dekat dengan muara.

Hasil isolasi bakteri didapatkan 19 isolat bakteri murni yang berasal dari bakteri yang tumbuh di GSP dan dipindahkan ke media NA

berdasarkan karakteristik morfologi yang berbeda. Hasil pengamatan morfologi dapat dilihat pada **Tabel 2** yang menunjukkan bahwa

sebagian besar isolat bakteri memiliki bentuk koloni bulat dengan tepian rata dan beberapa memiliki bentuk seperti akar belukar atau *rhizoid*, warna yang dihasilkan oleh koloni bakteri tersebut didominasi oleh warna putih

gading. Menurut Hidayat (2006), faktor-faktor yang mempengaruhi bentuk dari koloni suatu bakteri yaitu umur dan syarat pertumbuhan tertentu seperti faktor lingkungan, makanan (media pertumbuhan) dan suhu.

**Tabel 2.** Karakteristik Morfologi Bakteri

No	Kode Sampel	Warna Isolat	Bentuk	Margin	Elevasi
1	TA.1a	Putih gading	Circular	Entire	Convex
2	TA.1b	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Pulvinate
3	TA.2a	Putih gading	Circular	Entire	Convex
4	TA.2b	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Convex
5	TA.3a	Putih gading	Irregular	Undulate	Umbonate
6	TA.3b	Putih gading	Circular	Entire	Convex
7	TB.1a	Putih gading	Circular	Entire	Convex
8	TB.1b	Putih gading	Circular	Entire	Convex
9	TB.2a	Putih gading	Irregular	Curled	Convex
10	TB.2b	Putih kuning pucat	Rhizoid	Rhizoid	Flat
11	TB.3a	Putih gading	Circular	Entire	Convex
12	TC.1a	Putih gading	Irregular	Lobate	Flat
13	TC.1b	Putih gading	Filamentous	Filamentous	Raised
14	TC.1c	Kuning	Rhizoid	Rhizoid	Flat
15	TC.1d	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Convex
16	TC.2a	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Convex
17	TC.2b	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Convex
18	TC.3a	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Pulvinate
19	TC.3b	Putih kuning pucat	Circular	Entire	Umbonate

Keterangan: T = Tapak, A/B/C/D = Stasiun, 1/2/3 = Seri pengenceran, a/b = koloni bakteri

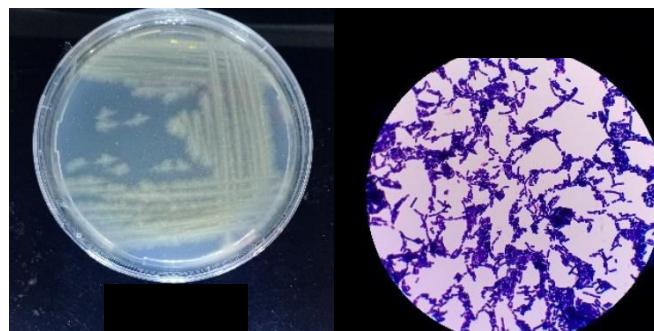
Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada **Tabel 3** yang menunjukkan bahwa terdapat 9 isolat bakteri dengan Gram positif dan 10 isolat bakteri dengan Gram negatif. Bakteri Gram positif akan terlihat berwarna ungu pada mikroskop dikarenakan memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. Lapisan tersebut yang mampu mengikat zat warna kristal violet, sehingga menjadikannya berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan terlihat

berwarna merah pada mikroskop karena lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga kemampuan mengikat zat warna kristal violet kurang. Ukuran ketebalan dari lapisan peptidoglikan yang dimiliki bakteri Gram positif yaitu 20 – 80 nm, sedangkan ukuran ketebalan lapisan peptidoglikan yang dimiliki bakteri Gram negatif yaitu 5 – 10 nm dengan komposisi utama yaitu lipoprotein, membran luar dan polisakarida (Holderman et al., 2017).

**Tabel 3.** Hasil Pewarnaan Gram

No	Kode Sampel	Hasil Pewarnaan	Gram	Bentuk Sel
1	TA.1a	Ungu	Positif	Basil
2	TA.1b	Merah	Negatif	Basil
3	TA.2a	Ungu	Positif	Basil
4	TA.2b	Merah	Negatif	Basil
5	TA.3a	Ungu	Positif	Basil
6	TA.3b	Ungu	Positif	Basil
7	TB.1a	Ungu	Positif	Basil
8	TB.1b	Merah	Negatif	Basil
9	TB.2a	Ungu	Positif	Basil
10	TB.2b	Merah	Negatif	Basil
11	TB.3a	Ungu	Positif	Basil
12	TC.1a	Merah	Negatif	Basil
13	TC.1b	Ungu	Positif	Basil
14	TC.1c	Ungu	Positif	Basil
15	TC.1d	Merah	Negatif	Basil
16	TC.2a	Merah	Negatif	Basil
17	TC.2b	Merah	Negatif	Basil
18	TC.3a	Merah	Negatif	Basil
19	TC.3b	Merah	Negatif	Basil

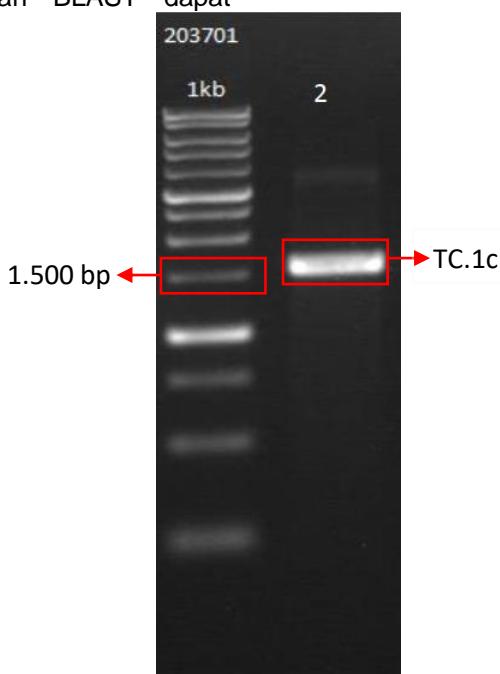
Keterangan: T = Tapak, A/B/C/D = Stasiun, 1/2/3 = Seri pengenceran, a/b = koloni bakteri



**Gambar 2.** Isolat Bakteri Murni TC.1c dan Hasil Pewarnaan Gram

Satu dari 19 isolat bakteri murni dilakukan identifikasi molekuler, yaitu isolat TC.1c (**Gambar 2**). Identifikasi molekuler bakteri menggunakan metode PCR dengan primer universal 27F dan 1492R melalui amplifikasi gen 16S rRNA dengan target 1500 bp (*basepair*) (**Gambar 3**). Hasil dari rangkaian identifikasi molekuler yaitu sekumpulan urutan asam nukleat atau sekuens DNA. Sekuens DNA tersebut kemudian dilakukan penyejajaran di software MEGA 11 dan dilakukan penelusuran BLAST. Hasil yang diperoleh dari penelusuran BLAST dapat

dilihat pada **Tabel 4**. Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa isolat bakteri TC.1c memiliki tingkat kekerabatan terdekat dengan *Bacillus mycoides* dengan *percent identity* 100%. Menurut Stackebrandt dan Goebel (1994), bakteri dikatakan berada dalam kelompok genus yang ada di GenBank jika memiliki tingkat kesamaan sekuen gen 16S rRNA dengan persentase 97-99%. Apabila nilai tersebut kurang dari 97% maka bakteri tersebut diduga bakteri dengan spesies baru atau berbeda genus.



**Gambar 3.** Hasil Gel Photo Isolat TC.1c

**Tabel 4.** Hasil BLAST

Kode Sampel	Kekerabatan Terdekat	Query Cover (%)	E-Value	Percent Identity (%)	Access Number
TC.1c	<i>Bacillus mycoides</i>	100	0.0	100	MT509769.1

*Bacillus mycoides* yang diperoleh dari isolat bakteri TC.1c diambil pada sedimen rhizosfer ekosistem mangrove jenis *Rhizophora mucronata* yang berada di dekat muara dan

lokasinya juga berdekatan dengan tambak tradisional udang. *B. mycoides* memiliki karakteristik morfologi yaitu bentuk koloni rhizoid menyerupai akar belukar, tepian rhizoid

dan memiliki warna kuning. Menurut Andriani et al. (2017), koloni dari *B. mycoides* yang diamati terlihat memiliki tekstur yang kasar dan di sekitar koloni terdapat benang-benang halus. *B. mycoides* merupakan bakteri gram positif dengan bentuk sel yaitu basil. Menurut Yahya et al. (2014), diameter sel *B. mycoides* yaitu 3,0 – 4,5  $\mu\text{m}$  dan memiliki sel tunggal. *B. mycoides* merupakan bakteri bersifat aerobik yang dapat ditemukan pada sedimen, dan umumnya ditemukan di sedimen yang dekat dengan muara.

*B. mycoides* memiliki potensi dalam mendegradasi bahan organik yang terkandung dalam sedimen. Hal tersebut diungkap pada hasil penelitian Jayamiharja (2012) yang menyebutkan bahwa *B. mycoides* berperan dalam mendegrasi *Total organic matter* (TOM) dan ammonia pada sedimen tambak udang. Hasil penelitian Ernawati (2010) juga mengatakan bahwa *B. mycoides* mampu menghasilkan enzim yang dapat mereduksi nitrat dan *methylene blue*. Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa *B. mycoides* merupakan bakteri yang berperan dalam siklus denitrifikasi. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Dlamini et al., (2022) yang menyatakan bahwa *B. mycoides* merupakan jenis bakteri yang berperan dalam mendegradasi berbagai jenis polutan. Spesies ini menunjukkan kemampuan denitrifikasi yang menjajikan, karena mampu mencapai efisiensi penghilangan ammonia dan nitrat masing-masing sebesar 12,30% dan 40,80%. Hal tersebut sangat bermanfaat bagi biota maupun tumbuhan karena sifat dari ammonia yaitu beracun.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak 19 isolat bakteri rhizosfer yang diperoleh dari ekosistem mangrove di Tapak, Semarang, 9 isolat diantaranya menunjukkan bakteri Gram positif dan 10 isolat menunjukkan bakteri Gram negatif. Seluruh isolat bakteri memiliki bentuk sel yang sama yaitu basil namun memiliki karakteristik morfologi yang berbeda. Hasil identifikasi bakteri secara molekuler pada isolat TC.1c menunjukkan bahwa isolat TC.1c memiliki homologi terdekat dengan spesies *B. mycoides*. Spesies ini berpotensi dalam mendegradasi bahan organic dan berbagai jenis polutan, serta berperan dalam siklus denitrifikasi. Hasil penelitian ini menyarankan untuk melakukan karakterisasi lebih lanjut terhadap isolat bakteri rhizosfer, uji efektivitas bioremediasi, dan analisis genomik pada isolat dengan potensi degradasi dan peran dalam

siklus nutrisi ekosistem mangrove Tapak, Semarang.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapan kepada dana hibah Riset Publikasi Internasional (RPI) Universitas Diponegoro dengan Nomor SK 185-71/UN7.6.1/PP/2021 yang telah mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afif, J., Ngabekti, S., dan Pribadi, T. A. (2014). Keanekaragaman Makrozoobentos Sebagai Indikator Kualitas Perairan Di Ekosistem Mangrove Wilayah Tapak Kelurahan Tugurejo Kota Semarang. *Unnes Journal of Life Science*, 3(1), 47–52.
- Akihary, C. V., dan Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan Gen 16S rRNA Sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri Untuk Penelitian-Penelitian Di Indonesia. *Pharmacon*, 9(1), 16-22. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.27405>
- Akram, A., Maley, M., Gosbell, I., Nguyen, T., dan Chavada, R. (2017). *Utility of 16S rRNA PCR Performed on Clinical Specimens in Patient Management*. *International Journal of Infectious Diseases*, 57, 144-149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.02.006>
- Andriani, Y., Rochima, E., Safitri, R., dan Rahayuningsih, S. R. (2017). *Characterization of Bacillus megaterium and Bacillus mycoides Bacteria as Probiotic Bacteria in Fish and Shrimp Feed*. in: *2<sup>nd</sup> International Conference on Sustainable Agricultural and Food Security. ICSAFS Conference Proceedings*, 1(1), 127–135. <https://doi.org/10.18502/cls.v2i6.1029>
- Arfarita, N., Muhibbudin, A., dan Imai, T. (2019). *Exploration of Indigenous Free Nitrogen-Fixing Bacteria From Rhizosphere of Vignaradiata for Agricultural Land Treatment*. *Journal of Degradated and Mining Lands Management*, 6(2), 1617-1623. <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2019.062.1617>
- Capdeville, C., Thomas, P., Gervaix, J., Fromard, F., Rols, J. dan Leflaive, J. (2019). *Mangrove Facies Drives Resistance and Resilience of Sediment Microbes Exposed to Anthropic Disturbance*. *Frontiers in*

- 
- Microbiology*, 9(3337), 1-17.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00337>
- Dlamini, Y. R., Lallo, R., Moonsamy, G., Kumari, S., Nasr, M., Ramchuran, S., dan Bux, F. (2022). *Development of Bacillus spp. Consortium for One-step "Aerobic Nitrification-Denitrification" in a Fluidized-bed Reactor*. *Bioesource Technology Reports*, 17, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100922>
- Eddy, S., Mulyana, A., Ridho, M. R., dan Iskandar, I. 2015. Dampak Aktivitas Antropogenik terhadap Degradasi Hutan Mangrove di Indonesia. *Jurnal Lingkungan Dan Pembangunan*, 1(3), 240–254.
- Eddy, S., Iskandar, I., Ridho, M. R., dan Mulyana, A. (2019). Restorasi Hutan Mangrove Terdegradasi Berbasis Masyarakat Lokal. *Jurnal Indobiosains*, 1(1), 1-13.
- Ernawati. (2010). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kambing Segar*. [SKRIPSI]. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Maling Ibrahim, Malang, 90 hlm.
- Hamza, T. A., Hussein, Z., Mitku, R., Ayalew, P., dan Belayneh, T. (2017). *Isolation and Characterization of Nitrogen Fixing Bacteria from Rhizosphere Soil Collected from Shell Mele Agricultural*. *Journal of Agricultural Science and Food Technology*, 3(7), 117–124.
- Holderman, M. V., De Queljoe, E., dan Rondonuwu, S. B. (2017). Identifikasi Bakteri Pada Pegangan Eskalator Di Salah Satu Pusat Perbelanjaan Di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 13-18. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.14901>
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., dan Delvia, F. (2015). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Mangga (*Mangifera indica L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159–163.
- Jayamiharja, A. (2012). *Potensi Bakteri Bacillus mycoides dalam Mendegradasi Bahan Organik dari Sedimen Tambak Undang secara In Vitro*. [SKRIPSI]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, 92 hlm.
- Saputri, K. E., Idiawati, N., dan Sofiana, M. S. J. (2021). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Penambat Nitrogen dari Rizosfer Mangrove di Kuala Singkawang. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 4(2), 17–21.
- Sari, D. R. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Tanah yang Terdapat di Sekitar Perakaran Tanaman. *Bio-Site*, 1(1), 21–27.
- Stackebrandt, E., dan Goebel, B. M. (1994). *Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(4), 846–849. [https://doi.org/0020-7713/94/\\$04.00+0](https://doi.org/0020-7713/94/$04.00+0)
- Sune, D., Rydberg, H., Augustinsson, A. N., Serrander, L. dan Jungestrom, M. B. (2020). Optimization of 16S rRNA gene Analysis for Use in the Diagnostic Clinical Microbiology Service. *Journal of Microbiological Methods*, 170, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105854>
- Syahputra, K., Rusmana, I., dan Widayastuti, U. (2011). *Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Denitrifikasi Sebagai Agen Bioremediasi Nitrogen Anorganik*. *J. Ris. Akuakultur*, 6(2), 197–209. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.6.2.2011.197-209>
- Thatoi, H., Behera, B. C., Mishra, R. R., dan Dutta, S. K. (2013). *Biodiversity And Biotechnological Potential Of Microorganisms From Mangrove Ecosystems: A Review*. *Annals of Microbiology*, 63(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0442-7>
- Xu, D. B., Ye, W. W., Han, Y., Deng, Z. X., dan Hong, K. 2014. *Natural products from mangrove actinomycetes*. *Marine Drugs*, 12(5), 2590–2613. <https://doi.org/10.3390/md12052590>
- Yahya, Nursyam, H., Risjani, Y., dan Soemarno. (2014). Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan*, 19(1), 35–42.
- Zhang, Y., Yang, Q., Ling, J., Nostrand, J. D. Van, Shi, Z., Zhou, J., dan Dong, J. (2017). *Diversity and Structure of Diazotrophic Communities in Mangrove Rhizosphere, Revealed by High-Throughput Sequencing*. *Frontiers in Microbiology*, 8(2032), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02032>