

Characteristics and Potential of Nitrogen-fixing Microbes in the Rhizosphere of Corn and Legume Plants on Kisar Island

Ferymon Mahulette^{1*}, Mery Pattipeilohy¹, Alamanda Pelamonia¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia;

Article History

Received : July 12th, 2025

Revised : September 22th, 2025

Accepted : September 25th, 2025

*Corresponding Author:

Ferymon Mahulette, Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia;

Email: ferymonm@gmail.com

Abstract: The Kisar Island community usually plants legumes and corn in one hole called the *hapa* planting system. This planting system allows interaction between microbes, especially in the rhizosphere that supports plant growth. This study aims to characterize and test the potential of nitrogen-fixing microbes in the rhizosphere of legumes and corn plants using the *hapa* planting system. Isolation and characterization of nitrogen-fixing microbes using Yeast extract mannitol agar (YEMA) media added with Congo red and bromothymol blue as indicators. The potential of the microbes tested was the ability to dissolve phosphate using Picovskaya media and cellulolytic using Carboxy methyl cellulose (CMC) media. A total of five isolates of nitrogen-fixing microbes were found each in the rhizosphere of corn and mung beans (JKH) and corn and red beans (JKM) with varying numbers and characteristics. The number of microbes in the JKH rhizosphere was 9.5×10^2 cfu/g lower than the number of microbes in JKM which was 1.5×10^3 cfu/g. The highest phosphate-dissolving ability was found in isolate KM5 with a phosphate solubility index of 3.14, while the cellulolytic ability was found in isolate KH1 with a cellulolytic index of 0.80. These potential microbes can be developed as starters for developing biofertilizers on less fertile agricultural land in the future.

Keywords: Cellulolytic, *hapa* system, legume, rhizosphere.

Pendahuluan

Penanaman jagung dan kacang-kacangan (legum) umumnya masih dilakukan secara monokultur, yaitu hanya menanam sejenis tanaman dalam satu lahan. Sistem penanaman ini menghasilkan produktifitas tanaman relatif rendah sehingga sebagian petani telah menerapkan sistem penanaman polikultur. Selain dapat meningkatkan produktifitas tanaman, sistem ini juga mampu mempertahankan kesuburan tanah, terutama di lahan kering (Dewi & Nadhira, 2025). Salah satu bentuk pertanian polikultur yang merupakan kearifan lokal masyarakat Pulau Kisar, Maluku adalah pola tanam *hapa*.

Hapa adalah penanaman benih jagung dan legum dalam satu lubang tanam. Jenis legum yang sering ditanam menggunakan pola penanaman ini adalah kacang merah (*Vigna*

unguiculata) dan kacang hijau (*Vigna radiata*). (Sahusilawane *et al.*, 2015). Pola penanaman *hapa* memungkinkan interaksi yang kompleks antara mikroba tanah, terutama pada rizosfer tanaman. Interaksi tersebut dapat saling menguntungkan maupun berkompetisi untuk memperoleh nutrisi (Lai *et al.*, 2022). Salah satu mikroba yang sering ditemukan pada rizosfer tanaman jagung dan legum adalah mikroba penambat nitrogen (Sevirasari & Wisnubroto, 2024).

Nitrogen adalah makronutrien pembentuk protein yang umumnya tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman secara langsung untuk pertumbuhannya. Ketersediaan unsur ini dalam tanah dapat meningkatkan proses fotosintesis dan meningkatkan produktivitas tanaman (Sari & Prayudiyangsih, 2015). Beberapa mikroba memiliki kemampuan menambat nitrogen yang melimpah di atmosfer agar dapat dimanfaatkan

oleh tanaman. Mikroba penambat nitrogen juga memiliki kemampuan lain seperti kemampuan melarutkan fosfat dan selulolitik (Tang *et al.*, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dan menguji potensi mikroba penambat nitrogen pada rizosfer tanaman jagung dan legum yang ditanam menggunakan pola tanam *hapa*.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian berlangsung dibulan Mei hingga dengan Juli 2024. Sampel bintil akar legum diambil masing-masing dari rizosfer tanaman jagung dan kacang hijau (JKH) serta jagung dan kacang merah (JKM) di Desa Yawuru, Pulau Kisar, Kabupaten Maluku Barat Daya. Penelitian dilaksanakan pada Laboratorium Biologi FKIP Universitas Pattimura, Maluku, Indonesia.

Prosedur penelitian

Preparasi sampel

Sebanyak 10 g bintil akar kacang merah dan kacang hijau dicuci dengan air mengalir kemudian direndam dalam etanol 70% selama 1 menit dan 0.01% larutan HgCl_2 selama 5 menit (Fatimah *et al.*, 2022).

Pembuatan media

Media *Yeast extract mannitol agar* (YEMA) dengan komposisi 2 g agar, 1 g manitol, 0,4 g CaCO_3 , 0,050 g K_2HPO_4 , 0,02 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,04 g yeast extract dan 0,1 g NaCl dilarutkan dalam 100 ml aquades. Media yang telah larut kemudian dituang ke dalam dua labu Erlenmeyer masing-masing berisi 50 ml. Sebanyak 0.025 g pewarna merah Kongo ditambahkan pada Labu Erlenmeyer pertama, sedangkan labu erlenmeyer kedua ditambahkan 1 g biru bromotimol. Kedua media dalam labu Erlenmeyer disterilisasi menggunakan autoklaf selama 120 menit (Wanore *et al.*, 2023). Media *Picovskaya* dan *Carboxyl methyl cellulase* juga dilarutkan dengan aquades dan disterilisasi menggunakan autoklaf.

Isolasi dan karakterisasi mikroba

Sampel bintil akar kacang merah dan kacang hijau masing-masing digerus dan dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml

larutan garam fisiologis (Nufus *et al.*, 2023). Setelah diencerkan secara berseri, sebanyak 0.1 ml sampel dari pengenceran 10^{-2} dimasukkan ke dalam cawan berisi media YEMA (*duplo*). Selanjutnya cawan diinkubasi dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Koloni yang memiliki karakteristik berbeda selanjutnya dipurifikasi untuk mendapatkan isolat mikroba penambat nitrogen dan digores pada media YEMA yang masing-masing telah ditambahkan merah Kongo dan biru bromotimol (Idris *et al.*, 2015).

Uji potensi mikroba

Isolat yang telah dipurifikasi kemudian diinokulasikan masing-masing pada media *Pikovskaya* dan CMC dengan metode *spot inoculation*. Zona bening yang terbentuk mengindikasikan bahwa isolat memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan selulolitik Indeks kelarutan fosfat (IKF) diperoleh dengan membandingkan jumlah diameter koloni dan diameter zona bening terhadap diameter koloni (Islamiati & Zulaika, 2015), sedangkan indeks selulolitik (IS) diperoleh dengan membandingkan selisih diameter zona bening dan diameter koloni terhadap diameter koloni (Nababan *et al.*, 2019). Kategori nilai IKF dan IS masing-masing menurut Marra dan Choy (Rahmi *et al.*, 2023; Ananda *et al.*, 2023).

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik Mikroba Penambat Nitrogen

Mikroba yang tumbuh pada media YEMA memiliki karakteristik morfologi yang berbeda. Mikroba-mikroba tersebut dapat dibedakan dalam lima isolat masing-masing pada rizosfer JKH dan JKM dengan jumlah yang berbeda. Jumlah mikroba penambat nitrogen pada rizosfer JKM lebih tinggi, yaitu 1.5×10^3 Cf/g dibandingkan rizosfer JKH yang hanya mencapai 9.5×10^2 Cf/g (Tabel 1).

Kemampuan menambat nitrogen (secara kualitatif) kelima isolat pada setiap sampel menunjukkan bahwa semua isolat berwarna merah muda pada media YEMA yang ditambahkan merah Kongo dan kuning atau biru pada media YEMA yang ditambahkan biru bromotimol (Tabel 2).

Tabel 1. Karakteristik dan jumlah mikroba pada media YEMA

Sampel	Kode isolat	Karakteristik Makroskopis Mikroba				Jumlah Koloni (Cfu/g)	Total Koloni (Cfu/g)
		Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna		
JKH	KH1	Bundar	Licin	Tetesan	Putih	$2,1 \times 10^2$ Cfu/g	$9,5 \times 10^2$ Cfu/g
	KH2	Tak beraturan	Berombak	Timbul	Putih	$2,2 \times 10^2$ Cfu/g	
	KH3	Bundar	Licin	Datar	Putih	$1,2 \times 10^2$ Cfu/g	
	KH4	Tak beraturan	Berlekuk	Timbul	Putih	$1,0 \times 10^2$ Cfu/g	
	KH5	Tak beraturan	Licin	Timbul	Putih	$3,0 \times 10^2$ Cfu/g	
JKM	KM1	Tak beraturan	Licin	Tetesan	Putih	$2,3 \times 10^2$ Cfu/g	$1,5 \times 10^3$ Cfu/g
	KM2	Bundar	Licin	Tetesan	Putih	$1,4 \times 10^2$ Cfu/g	
	KM3	Tak beraturan	Berombak	Datar	Putih	$1,1 \times 10^2$ Cfu/g	
	KM4	Bundar	Licin	Datar	Putih	$1,3 \times 10^2$ Cfu/g	
	KM5	Tak beraturan	Berombak	Timbul	Putih	$9,0 \times 10^2$ Cfu/g	

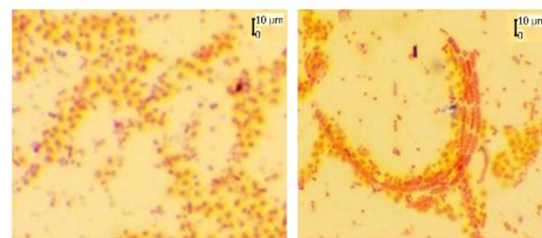
Tabel 2. Uji kualitatif kemampuan menambat nitrogen mikroba

Media	Kode Isolat	Warna Koloni	
		Tampak Atas	Tampak Bawah
YEMA+ Merah Kongo	KH1	Merah Muda	Merah Muda
	KH2	Merah Muda	Merah Muda
	KH3	Merah Muda	Merah Muda
	KH4	Merah Muda	Merah Muda
	KH5	Merah Muda	Merah Muda
YEMA+ biru Bromo-timol	KM1	Merah Muda	Merah Muda
	KM2	Merah Muda	Merah Muda
	KM3	Merah Muda	Merah Muda
	KM4	Merah Muda	Merah Muda
	KM5	Merah Muda	Merah Muda
	KH1	Kuning	Kuning
	KH2	Kuning	Biru
	KH3	Biru	Biru
	KH4	Kuning	Biru
	KH5	Kuning	Kuning
	KM1	Biru	Biru
	KM2	Kuning	Kuning
	KM3	Kuning	Kuning
	KM4	Kuning	Biu
	KM5	Kuning	Kuning

Tabel 3. Uji kuantitatif kemampaun melarutkan fosfat dan selulolitik mikroba

Media	Kode Isolat	IKF/IS	Kategori
Pikovs-kaya	KH1	2,45	Sedang
	KH2	2,85	Sedang
	KH3	2,66	Sedang
	KH4	2,50	Sedang
	KH5	2,80	Sedang
CMC+ merah Kongo	KM1	2,40	Sedang
	KM2	3,75	Sedang
	KM3	1,89	Sedang
	KM4	2,66	Sedang
	KM5	3,14	Sedang
	KH1	0,50	Rendah
	KH2	0,22	Rendah
	KH3	0,50	Rendah
	KH4	0,50	Rendah
	KH5	0,50	Rendah
	KM1	0,80	Rendah
	KM2	0,69	Rendah
	KM3	0,66	Rendah
	KM4	0,16	Rendah
	KM5	0,20	Rendah

Selain mampu menambat nitrogen, isolat-isolat yang tumbuh pada media YEMA juga memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat dan selulolitik. Isolat yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat tertinggi adalah KM5 dengan IKF sebesar 3.14 (Kategori sedang), sedangkan isolat yang memiliki kemampuan selulolitik tertinggi adalah KH1 dengan IS sebesar 0.80 (kategori rendah) (Tabel 3). Karakteristik mikroskopis isolat KM5 adalah basil Gram negatif dengan penataan sel tunggal (*mono*), sedangkan isolat KH1 adalah basil Gram negatif yang berantai (Gambar 1).



(a) (b)
Gambar 1. Karakteristik isolat potensial pada rizosfer tanaman jagung dan legum. Isolat KM5 (a), dan Isolat KH1 (b).

Pembahasan

Jumlah mikroba penambat nitrogen pada bintil akar kacang merah dan kacang hijau berbeda, meskipun memiliki kondisi lingkungan yang seragam. Hal ini sangat dipengaruhi oleh eksudat yang dihasilkan oleh kedua jenis legum untuk menarik mikroba melakukan kolonisasi pada akar. Tanaman kacang merah menghasilkan eksudat lebih spesifik dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan tanaman legum yang lain (Aryaldi *et al.*, 2021). Eksudat ini merangsang aktivitas mikroba, seperti *Rhizobium* dan meningkatkan pembentukan bintil akar. Senyawa flavonoid pada kacang merah seperti genistein dan daidzein lebih efektif dalam menginduksi ekspresi gen nodulasi mikroba untuk meningkatkan kolonisasi bakteri penambat nitrogen (Dakora & Phillips, 2002).

Kapasitas nodulasi setiap tanaman legum juga berbeda. Kapasitas nodulasi sangat dipengaruhi oleh sistem perakaran tanaman. Kacang merah memiliki sistem perakaran tunggang yang lebih dalam dengan percabangan yang lebih luas dibandingkan perakaran kacang hijau (Ngawit *et al.*, 2025). Hal ini menyebabkan kacang merah memiliki banyak zona kontak untuk kolonisasi mikroba. Mikroba penambat nitrogen pada rizosfer tanaman jagung dan legum memiliki karakteristik makroskopis cenderung seragam. Sebagian besar koloni berwarna putih bundar atau tidak beraturan, dengan tepian licin dan berombak serta elevasi timbul dan menyerupai tetesan (Adriantama *et al.*, 2021). Mikroba penambat nitrogen umumnya tidak menghasilkan pigmen sehingga koloni yang terbentuk berwarna putih (Hamza & Alebejo, 2017). Tepian koloni yang berbeda disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel yang mengendalikan pembelahan sel mikroba.

Warna koloni pada media YEMA yang ditambahkan indikator merah Kongo berwarna merah muda serta biru bromotimol berwarna biru dan kuning mengindikasikan bahwa isolat-isolat tersebut termasuk bakteri *Rhizobium* (Purwaningsih *et al.*, 2020). Hal ini dipertegas dengan karakteristik mikroskopis berupa basil Gram negatif dengan penataan sel tunggal atau berpasangan (Agrawal & Shukla, 2016). Perbedaan warna koloni pada media YEMA yang ditambahkan indikator biru bromotimol berkaitan dengan pertumbuhan mikroba.

Mikroba yang pertumbuhannya lambat akan berwarna biru, sedangkan mikroba yang pertumbuhannya cepat cenderung berwarna kuning (Desta *et al.*, 2023).

Selain menambat nitrogen, mikroba yang ditemukan pada bintil akar tanaman legum juga memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat dan selulolitik. Kemampuan melarutkan fosfat berkaitan dengan asam-asam organik yang dihasilkan mikroba untuk melepaskan ion fosfat dari logam yang mengikatnya. Asam-asam organik tersebut meliputi asam glukonat, asam oksalat, asam suksinat, dan asam sitrat (Rajguru & Bhatt, 2022). Kemampuan melarutkan fosfat dan selulolitik mikroba digolongkan pada kategori sedang dan rendah. Hal ini juga berkaitan dengan kondisi lahan berbatu kapur yang cenderung kurang subur di Pulau Kisar.

Kesimpulan

Sistem penanaman jagung dan legum dalam satu lubang tanam memungkinkan ditemukannya mikroba penambat nitrogen yang berpotensi untuk melarutkan fosfat dan menguraikan selulosa pada rizosfer tanaman dengan jumlah dan karakteristik yang berbeda. Mikroba – mikroba tersebut dapat dikembangkan sebagai *starter* dalam merancang formula pupuk hayati pada lahan pertanian yang kurang subur untuk meningkatkan produktifitas tanaman, khususnya jagung dan legum di masa yang akan datang.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, baik secara moral maupun materil.

Referensi

- Adriantama, S., Suriyanti, S., & Nontji, M. (2021). Isolasi dan identifikasi morfologi serta uji pelarutan fosfat terhadap bakteri Rhizosfer tanaman kedelai (*Glycine max* L.). *AGrotekMAS Jurnal Indonesia: Jurnal Ilmu Peranian*, 2(1), 24-32. <https://doi.org/10.33096/agrotekmas.v2i1.140>
- Agrawal, P., & Shukla, S. (2016). Diversity of root nodule bacteria from leguminous

- crops. *Archives of Biological Sciences*, 68(1), 195-205.
<https://doi.org/10.2298/ABS150504142A>
- Ananda, D., Rasyidah, R., & Mayasari, U. (2023). Isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik dari lumpur mangrove Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 25(1), 20-27.
<https://doi.org/10.14710/bioma.25.1.20-27>
- Aryaldi, R., Saida, S., & Nontji, M. (2021). Identifikasi morfologi dan uji pelarut fosfat bakteri rhizosfer tanaman kacang tunggak (*Vigna Unguiculata* L.). *AGrotekMAS Jurnal Indonesia: Jurnal Ilmu Peranian*, 2(1), 1-10.
<https://doi.org/10.33096/agrotekmas.v2i1.137>
- Dakora, F. D., & Phillips, D. A. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*, 245(1), 35–47.
<https://doi.org/10.1023/A:1020809400075>
- Desta, M., Akuma, A., Minay, M., Yusuf, Z., & Baye, K. (2023). Effects of indigenous and commercial rhizobia on growth and nodulation of soybean (*Glycine max* L) under Greenhouse Condition. *The Open Biotechnology Journal*, 17(1), 1-8.
<https://doi.org/10.2174/18740707-v17-230223-2022-17>
- Dewi, D. S., & Nadhira, A. (2025). Dampak pola tanam tumpangsari jagung dan kedelai terhadap produktivitas dan kesuburan tanah pada lahan kering. *All Fields of Science Journal Liaison Academia and Society*, 5(2), 14-24.
<https://doi.org/10.58939/afosj-las.v5i2.1025>
- Fatimah, F., Millah, A. I., Fadilah, R. L. A., Salsabila, S., Ramly, Z. A., Sugiarti, T., ... & Affandi, M. (2022). Isolation and potency test of endophytic bacteria as nitrogen fixer from mangrove plant in Lamongan. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 4(1), 26-33. [10.26740/jrba.v4n1](https://doi.org/10.26740/jrba.v4n1)
- Hamza, T. A., & Alebejo, A. L. (2017). Isolation and characterization of rhizobia from rhizosphere and root nodule of cowpea, elephant and lab lab plants. *Int. J. Nov. Res. Interdiscip. Stud*, 4, 1-7.
- Idris, A. O., Abdel Rahim, A. M., & Suleiman, A. E. (2015). Isolation and biochemical characterization of bacteria isolated from groundnut (*Arachis hypogaea* L.) in Sudan. *International Journal of Scientific Research in Knowledge*, 3(11), 270-276.
<http://dx.doi.org/10.12983/ijrk-2015-p0270-0276>
- Islamiati, A., & Zulaika, E. (2015). Potensi Azotobacter sebagai pelarut fosfat. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1), 2337-3520.
- Lai, H., Gao, F., Su, H., Zheng, P., Li, Y., & Yao, H. (2022). Nitrogen distribution and soil microbial community characteristics in a legume–cereal intercropping system: A review. *Agronomy*, 12(8), 1900.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12081900>
- Nababan, M., Gunam, I. B. W., & Wijaya, I. M. M. (2019). Produksi enzim selulase kasar dari bakteri selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri ISSN*, 2503, 488X.
- Ngawit, I. K., Farida, N., Suliartini, N. W. S., & Halumah, D. U. F. (2025). Diversitas, populasi, dan pertumbuhan gulma pada sistem pola tanam tumpangsari antara jagung dengan tanaman kacang-kacangan di lahan kering. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Agrokomplek*, 4(1), 234-246.
[10.29303/jima.v4i1.7105](https://doi.org/10.29303/jima.v4i1.7105)
- Nufus, N. H., Wangiyana, W., & Suliartini, N. W. S. (2022). Isolasi dan karakterisasi mikrobial bintil akar putri malu (*Mimosa pudica*) indigenus dari lahan kering Pringgabaya, Lombok Timur. *Gontor AGROTECH Science Journal*, 8 (1), 18-27. [10.21111/agrotecxh.v7i1.454](https://doi.org/10.21111/agrotecxh.v7i1.454)
- Purwaningsih, S., Agustiyani, D., & Antonius, S. (2020, September). Characterization and symbiotic evaluation of rhizobium bacteria from various plants on soybean (*Glycine Max* L) plants in green house. In *IOP conference series: earth and environmental science*. Vol. 572, No. 1, p. 012011). IOP Publishing. [10.1088/1755-1315/572/1/012011](https://doi.org/10.1088/1755-1315/572/1/012011)
- Rahmi, N., Handayani, D., Putri, D. H., & Violita, V. (2023). Fungi isolated from litter's forest of Aka Barayun, Lembah Harau and it's phosphate solubilizing activity. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2),

-
- 242-250.
- Rajguru, B. R., & Bhatt, V. D. (2022). Review on mechanism of mineral phosphate solubilization in fast-growing rhizobia based on sugar utilization. *Plant breeding and biotechnology*, 10(4), 203-211. <https://doi.org/10.9787/PBB.2022.10.4.203>
- Sahusilawane, A. M., Uluputty, M. R., Kembauw, E., & Djoko, S. W. (2015). Hapa: suatu kearifan lokal suku Meher di pulau Kisar dalam menjaga ketahanan pangan hapa: a local wisdom of meher ethnic group on kisar island to ensure food security. *Jurnal PKS*, 14(3), 305-316.
- Sari, R., & Prayudyaningsih, R. (2015). Rhizobium: pemanfaatannya sebagai bakteri penambat nitrogen. *Jurnal Penelitian Sosial dan Ekonomi Kehutanan*, 12(1), 51-64. [10.20886/buleboni.5054](https://doi.org/10.20886/buleboni.5054)
- Sevirasari, N., & Wisnubroto, M. P. (2024). Respon pertumbuhan dan hasil tanaman legume yang ditumpangsari dengan jagung pada jarak tanam berbeda. *Kultiva*, 1(1), 27-33. <https://doi.org/10.57251/kultiva.v1i1.1598>
- Tang, A., Haruna, A. O., Majid, N. M. A., & Jalloh, M. B. (2020). Potential PGPR properties of cellulolytic, nitrogen-fixing, phosphate-solubilizing bacteria in rehabilitated tropical forest soil. *Microorganisms*, 8(3), 442. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030442>
- Wanore, D. S., Bachore, M. A., Eromo, E. K., Nure, R. K., Bidiko, G. B., & Abdo, S. S. (2023). Isolation and characterization of nitrogen fixing bacteria from rhizosphere of chickpea and pea nodules, Hossana, Ethiopia. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 44(15), 97-107. [10.56557/UPJOZ/2023/v44i153574](https://doi.org/10.56557/UPJOZ/2023/v44i153574)