

Enkapsulasi *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg Potensial Sebagai Kandidat PGPR dalam Matriks Natrium Alginat

Moh. Randy Putra Pratama Thalib¹, Yuliana Retnowati^{2*}, Novri Youla Kandowanko³, Syam S. Kumaji⁴, Abubakar Sidik Katili⁵

^{1,2}Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

^{3,5}Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

⁴Jurusan Ilmu Lingkungan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Gorontalo, Bone Bolango, Jl. Prof. BJ. Habibie, 96155, Indonesia

*e-mail: yuliana.retnowati@ung.ac.id

Abstrak

Streptomyces merupakan aktinomiset tanah yang berpotensi sebagai mikroba pemacu pertumbuhan tanaman dan agen biokontrol. Namun, keberhasilan aplikasinya di lapangan sering tidak konsisten akibat tekanan lingkungan dan rendahnya stabilitas formulasi. Penelitian ini bertujuan menganalisis kemampuan matriks natrium alginat dan kalsium klorida dalam mempertahankan viabilitas inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg. Selain itu, penelitian ini mengevaluasi karakteristik fisik enkapsul melalui pengamatan morfologi SEM, pembengkakan, kehilangan massa, dan viabilitas inokulum terenkapsulasi di tanah steril. Inokulum diperoleh dari medium beras-jagung, kemudian disuspensikan dalam natrium alginat 2% (b/v) dan dienkapsulasi melalui gelasi ionik menggunakan CaCl₂ 0,1 M. Viabilitas inokulum dalam larutan alginat dan setelah enkapsulasi dianalisis menggunakan metode hitung cawan. Pengamatan pembengkakan dan kehilangan massa dilakukan pada tanah steril menggunakan kantong nilon. Hasil menunjukkan bahwa viabilitas inokulum dalam larutan alginat meningkat dari $1,3 \times 10^7$ CFU/mL pada menit ke-0 menjadi $4,5 \times 10^7$ CFU/mL pada menit ke-30, kemudian menurun menjadi $4,5 \times 10^6$ CFU/mL pada menit ke-180. Viabilitas pasca-enkapsulasi mencapai $2,5 \times 10^8$ CFU/g. Enkapsul menunjukkan pembengkakan awal sebesar 11,9% pada hari ke-3 dan kehilangan massa kumulatif sebesar 70,3% setelah empat minggu. Viabilitas inokulum terenkapsulasi di tanah meningkat dari $4,7 \times 10^3$ menjadi $7,6 \times 10^5$ CFU/g selama empat minggu. Hasil ini menunjukkan bahwa matriks natrium alginat-kalsium klorida mampu mempertahankan viabilitas inokulum dan mendukung pelepasan bertahap *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg di tanah steril.

Kata Kunci— biodegradasi; enkapsulasi; natrium alginat; *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg; viabilitas inokulum.

Abstract

Streptomyces are soil-dwelling actinomycetes with considerable potential as plant growth-promoting microorganisms and biological control agents. However, their field performance is often inconsistent due to environmental stresses and the limited stability of microbial formulations. This study aimed to evaluate the ability of a sodium alginate–calcium chloride matrix to maintain the viability of *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg. In addition, the physical characteristics of the encapsulates were assessed through scanning electron microscopy (SEM), swelling behavior, mass loss, and the viability of encapsulated inoculum in sterile soil. The inoculum was produced on a rice–corn medium, suspended in 2% (w/v) sodium alginate solution, and encapsulated by ionic gelation using 0.1 M CaCl₂. Inoculum viability in the alginate suspension and after encapsulation was determined using the plate count method. Swelling and mass loss analyses were conducted in sterile soil using nylon bags. The viability of the inoculum in the alginate suspension increased from 1.3×10^7 CFU mL⁻¹ at 0 min to 4.5×10^7 CFU mL⁻¹ after 30 min, followed by a decline to 4.5×10^6 CFU mL⁻¹ at 180 min. Post-encapsulation viability reached 2.5×10^8 CFU g⁻¹. The encapsulates exhibited an initial swelling ratio of 11.9% on day 3 and a cumulative mass loss of 70.3% after four weeks. The viability of encapsulated inoculum in sterile soil increased from 4.7×10^3 to 7.6×10^5 CFU g⁻¹ over the four-week

incubation period. These findings demonstrate that the sodium alginate–calcium chloride matrix effectively preserves inoculum viability while facilitating the gradual release of *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg in sterile soil.

Keywords: biodegradation; encapsulation; natrium alginat; *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg; inoculum viability.

I. PENDAHULUAN

Streptomyces merupakan kelompok aktinomiset tanah yang dikenal mampu menghasilkan metabolit sekunder, enzim, siderofor, dan senyawa lain yang berperan dalam peningkatan pertumbuhan tanaman serta ketahanan terhadap stres biotik maupun abiotik (Nazari *et al.*, 2023; Dow *et al.*, 2023). Sejumlah isolat aktinomiset dari ekosistem karst Gorontalo juga telah dilaporkan memiliki keragaman yang tinggi dan berpotensi sebagai sumber bioinokulan untuk pertanian, termasuk isolat yang berasosiasi dengan rizosfer dan berperan dalam perkecambahan serta pertumbuhan tanaman (Retnowati *et al.*, 2024a; Retnowati *et al.*, 2024b; Retnowati *et al.*, 2025c).

Pemanfaatan mikroba pemacu pertumbuhan tanaman memerlukan formulasi yang mampu mempertahankan viabilitas selama penyimpanan dan aplikasi di lapangan. Efektivitas bioinokulan sering menurun akibat kekeringan, salinitas, fluktuasi pH, kompetisi dengan mikrobiota asli, serta keterbatasan umur simpan sediaan (Saberri Riseh *et al.*, 2025). Oleh karena itu, pengembangan formulasi tidak hanya bertujuan membawa mikroba ke lingkungan target, tetapi juga membentuk matriks yang mampu melindungi inoculum dan melepaskannya secara bertahap setelah diaplikasikan (Bashan *et al.*, 2014; Vejan *et al.*, 2019).

Natrium alginat merupakan polisakarida anionik yang banyak digunakan dalam mikroenkapsulasi karena bersifat biokompatibel, mudah diproses, dan mampu membentuk hidrogel melalui gelasi ionik dengan ion kalsium. Ikatan silang antara Ca^{2+} dan blok guluronat

membentuk struktur *egg-box* yang menentukan kekuatan gel, porositas, kapasitas menahan air, dan laju difusi inoculum dari matriks (Cao *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2021). Formulasi berbasis alginat juga dilaporkan mampu mempertahankan viabilitas mikroba bermanfaat selama proses enkapsulasi, pengeringan, dan pelepasan di tanah atau rizosfer (Souza-Alonso *et al.*, 2021; Vassilev *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2023). Selain itu, enkapsul Ca-alginat diketahui mendukung pembengkakan, kehilangan massa bertahap, dan pelepasan bakteri secara gradual di tanah (Rojas-Padilla *et al.*, 2022).

Pada *Streptomyces*, strategi enkapsulasi menjadi penting karena propagulnya dapat berupa hifa vegetatif maupun spora yang memiliki ketahanan berbeda terhadap kondisi kering. Enkapsulasi berbasis alginat telah dilaporkan dapat mendukung viabilitas dan efektivitas pengendalian penyakit tanaman, tetapi performa matriks tetap dipengaruhi oleh komposisi polimer, kondisi pengeringan, serta dinamika pembengkakan dan erosi setelah kontak dengan tanah (Mancera-López *et al.*, 2023; Widyananda *et al.*, 2025). Ketahanan *Streptomyces* terhadap cekaman kekeringan di lingkungan tanah juga memperkuat pentingnya formulasi yang mampu menjaga propagul tetap viabel hingga fase pelepasan (Liu *et al.*, 2024).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini berfokus pada enkapsulasi *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg sebagai kandidat PGPR dalam matriks natrium alginat. Parameter yang diamati meliputi viabilitas inoculum selama kontak dengan larutan alginat, viabilitas pasca-enkapsulasi dan pengeringan, karakteristik fisik enkapsul berupa morfologi permukaan,

pembengkakan, kehilangan massa, serta viabilitas inokulum terenkapsulasi di tanah steril. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan formulasi *Streptomyces* berbasis alginat yang lebih stabil dan lebih relevan untuk aplikasi pertanian berkelanjutan

II. METODE PENELITIAN

A. Persiapan Inokulum dan Enkapsulasi

1). Perbanyak Inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg

Isolat *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg diperoleh dari koleksi kultur Laboratorium Mikrobiologi. Medium perbanyak menggunakan campuran beras-jagung yang dicuci hingga bersih dan ditiriskan sampai tidak terdapat air yang menetes. Beras kemudian dikukus selama 10–15 menit hingga setengah matang dan didinginkan selama ± 30 menit untuk menurunkan kelembapan substrat. Sebanyak 100 g medium dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan autoklaf (HV-50, Hirayama) pada suhu 121°C selama 15 menit.

Setelah medium mencapai suhu ruang, inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg diinokulasikan secara aseptik ke dalam medium beras-jagung, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4×24 jam (Adiyatama dkk., 2023). Biomassa hasil inkubasi dipisahkan dari substrat dengan suspensi menggunakan akuades steril. Suspensi kemudian diukur kerapatan selnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis (UV-1800, Shimadzu) pada panjang gelombang 600 nm. Kultur dinyatakan mencapai fase sporulasi optimal apabila nilai OD_{600} mencapai $1,0 \pm 0,1$ yang menunjukkan indikator kerapatan kultur (Kieser *et al.*, 2000).

Viabilitas inokulum diuji pada medium *Starch Casein Agar* (SCA) dengan metode plate count. Kepadatan inokulum yang diperoleh sebesar $1,1$

$\times 10^8$ CFU/g dan digunakan sebagai sumber inokulum pada proses enkapsulasi.

2). Persiapan Larutan Natrium Alginat

Larutan natrium alginat 2% (b/v) dibuat dengan melarutkan serbuk natrium alginat ke dalam akuades hangat bersuhu 70°C . Larutan dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer (C-MAG HS 7, IKA) pada kecepatan 500 rpm selama dua jam hingga homogen dan tidak menggumpal. Larutan kemudian didinginkan hingga suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ dan disterilisasi menggunakan autoklaf (HV-50, Hirayama) pada suhu 121°C selama 15 menit.

3). Uji Viabilitas Inokulum dalam Medium Natrium Alginat

Pengujian viabilitas inokulum dalam medium natrium alginat dilakukan dengan mengadaptasi metode Rojas-Padilla *et al.* (2022). Sebanyak 4 mL suspensi inokulum dari medium beras-jagung dengan kepadatan $1,1 \times 10^8$ CFU/g dicampurkan ke dalam 21 mL larutan natrium alginat steril. Campuran diinkubasi pada suhu 32°C menggunakan shaker incubator (SI-300R, Jeio Tech) dengan kecepatan $5 \times g$ selama 180 menit.

Pengambilan sampel dilakukan setiap interval 30 menit sebanyak 1 mL, kemudian ditumbuhkan pada medium SCA menggunakan metode plate count untuk menentukan viabilitas sel.

4). Proses Enkapsulasi Menggunakan Kalsium Klorida

Proses enkapsulasi dilakukan berdasarkan metode Rojas-Padilla *et al.* (2022). Suspensi inokulum dicampurkan dengan larutan natrium alginat steril pada perbandingan 1:4 (v/v) dan dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* (VXMNAL, Ohaus) selama ± 30 detik. Campuran kemudian diteteskan secara perlahan menggunakan *syringe catheter* tip 50 mL ke

dalam larutan CaCl_2 0,1 M dari jarak ± 2 cm hingga terbentuk butiran enkapsul.

Enkapsul dibiarkan mengalami proses pengerasan (curing) dalam larutan CaCl_2 selama 10 menit untuk memperoleh struktur kapsul yang stabil. Selanjutnya, enkapsul dipisahkan menggunakan saringan steril dan dibilas sebanyak dua kali menggunakan larutan NaCl 0,85% steril untuk menghilangkan ion kalsium berlebih.

5). Pengeringan Enkapsul

Enkapsul basah disusun secara merata di atas nampan stainless steel steril yang dilapisi kertas food grade, kemudian dikeringkan dalam oven konveksi (UN55, Memmert) pada suhu 34°C selama 24 jam mengacu pada metode Rojas-Padilla *et al.* (2022). Enkapsul kering disimpan dalam wadah steril tertutup rapat yang dilengkapi silika gel untuk menjaga kelembapan selama penyimpanan.

B. Viabilitas Enkapsul *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg

Sebanyak 50 mg enkapsul dilarutkan ke dalam 15 mL buffer sitrat yang terdiri atas 55 mM natrium sitrat, 30 mM EDTA anhidrat, dan 150 mM NaCl dengan pH 8. Larutan dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* (VXMNAL, Ohaus) selama ± 30 menit hingga enkapsul larut sempurna. Suspensi kemudian disentrifugasi menggunakan *centrifuge* (5804R, Eppendorf) pada kecepatan $7871 \times g$ selama 10 menit.

Supernatan dibuang dan endapan sel disuspensikan kembali dalam 1 mL larutan NaCl 0,85% steril. Penentuan jumlah unit pembentuk koloni dilakukan melalui pengenceran berseri dan metode *plate count* pada medium SCA. Seluruh pengujian dilakukan dalam dua ulangan (*duplo*) (Galaviz *et al.*, 2018).

C. Karakteristik Fisik Enkapsul Alginat

1). Pengamatan Morfologi Enkapsul Alginat

Karakteristik morfologi permukaan enkapsul diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) (JSM-6510LA, JEOL). Pengamatan dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada untuk mengevaluasi bentuk fisik, tekstur permukaan, dan kestabilan struktur enkapsul.

2). Uji Pembengkakan Enkapsul

Tanah kebun yang digunakan sebagai media pengujian disterilisasi menggunakan autoklaf (HV-50, Hirayama) sebanyak lima kali pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama satu jam. Sebanyak 1 g enkapsul dimasukkan ke dalam kantong nilon dan ditimbang sebagai berat awal (W_d). Kantong kemudian dikubur di dalam 100 g tanah steril yang ditempatkan pada wadah hermetik steril. Sterilisasi wadah dilakukan menggunakan etanol 70% (v/v) dan penyinaran UV selama satu jam selama tiga hari berturut-turut.

Tanah dijenuhkan menggunakan akuades steril dan diinkubasi dalam ruang pertumbuhan. Setelah 3 hari hingga 1 minggu, kantong nilon diangkat, dibersihkan dari sisa tanah, dikeringkan, dan ditimbang kembali sebagai berat akhir (W_t).

Rasio pembengkakan dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{SR}(\%) = \frac{W_t - W_d}{W_d} \times 100$$

Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

3). Uji Kehilangan Massa Enkapsul dalam Tanah Steril (Biodegradasi)

Tanah kebun steril sebanyak 250 g dimasukkan ke dalam wadah kedap udara steril. Sebanyak 1 g enkapsul dimasukkan ke dalam kantong nilon berukuran $2,5 \times 1$ cm dengan

ukuran pori $\pm 50 \mu\text{m}$ dan dikubur sedalam 5 cm di bawah permukaan tanah. Kondisi kelembapan tanah dipertahankan sedikit di bawah jenuh air ($\sim 35\%$) dengan penambahan akuades steril sesuai kebutuhan.

Berat awal enkapsul dicatat sebelum inkubasi. Pengamatan biodegradasi dilakukan setiap minggu selama 30 hari dengan mengukur perubahan berat enkapsul. Pada akhir pengamatan, enkapsul diamati menggunakan mikroskop stereoskopis untuk mengevaluasi perubahan struktur fisik. Seluruh pengujian dilakukan dalam tiga kali ulangan (Rojas-Padilla *et al.*, 2022).

D. Viabilitas *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg Terenkapsulasi di Dalam Tanah

Pengujian viabilitas *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg di dalam tanah dilakukan menggunakan metode *plate count*. Tanah kebun disterilisasi menggunakan autoklaf (HV-50, Hirayama) sebanyak lima kali pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama satu jam.

Sebanyak 1 g enkapsul dimasukkan ke dalam kantong nilon berukuran $2,5 \times 1 \text{ cm}$ dan dikubur dalam tanah steril selama 30 hari. Pengamatan populasi *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg dilakukan setiap tujuh hari. Sampel tanah sebanyak 1 g diencerkan secara berseri hingga pengenceran 10^{-7} , kemudian diinokulasikan pada medium SCA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama tujuh hari (Rojas-Padilla *et al.*, 2022). Data viabilitas dianalisis secara deskriptif berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh dan dinyatakan dalam satuan CFU/g tanah.

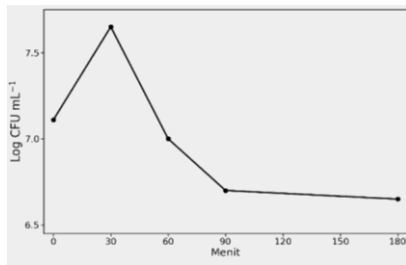
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Viabilitas Inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg dalam Larutan Natrium Alginat

Viabilitas inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg dalam larutan natrium alginat 2% menunjukkan peningkatan jumlah sel hidup pada menit ke 0 sampai dengan 30 menit inkubasi, kemudian mengalami penurunan sampai dengan waktu inkubasi 180 menit (Gambar 1). Kondisi tersebut sejalan dengan Rojas-Padilla *et al.* (2022), yaitu matriks alginat masih kompatibel pada tahap awal formulasi, tetapi kontak yang terlalu lama tidak lagi mendukung stabilitas fisiologis inokulum. Pola ini menunjukkan bahwa larutan natrium alginat masih kompatibel pada tahap awal formulasi, tetapi kontak yang terlalu lama tidak lagi mendukung stabilitas fisiologis inokulum. Peningkatan viabilitas pada 30 menit pertama kemungkinan berkaitan dengan rehidrasi propagul dan kondisi mikro yang masih cukup sesuai untuk mempertahankan kemampuan membentuk koloni. Natrium alginat bersifat hidrofilik dan mampu mempertahankan kelembapan lokal, sehingga rehidrasi awal dapat berlangsung lebih terkendali. Namun, natrium alginat bukan medium pertumbuhan, sehingga penurunan viabilitas setelah 30 menit menunjukkan bahwa waktu kontak dengan polimer sebaiknya dibuat sesingkat mungkin sebelum proses gelasi dilakukan.

Nilai viabilitas yang menurun setelah 30 menit menegaskan bahwa natrium alginat berperan sebagai matriks pelindung, bukan sebagai substrat nutrisi. Peningkatan viskositas, keterbatasan difusi oksigen, dan ketiadaan nutrisi kompleks dalam larutan dapat menurunkan kesiapan fisiologis propagul untuk berkecambah dan membentuk koloni setelah paparan yang lebih lama. Temuan ini sejalan dengan laporan Rodrigues *et al.* (2011) yang menunjukkan bahwa viabilitas mikroorganisme dapat menurun apabila waktu kontak dengan polimer berlangsung terlalu lama. Dengan demikian, penggunaan natrium alginat 2% layak dipertahankan sebagai matriks formulasi, tetapi

proses pencampuran sebelum gelas perlu dioptimalkan agar paparan terhadap larutan tidak terlalu panjang.



Gambar 1. Viabilitas inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg selama inkubasi dalam larutan natrium alginat.

B. Viabilitas *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg Pasca-Enkapsulasi

Inokulum yang terenkapsulasi setelah pengeringan menunjukkan viabilitas yang relatif sama dengan populasi awal proses enkapsulasi. Hasil uji viabilitas terdeteksi sebesar $2,5 \times 10^8$ CFU/g dari populasi awal enkapsulasi $1,1 \times 10^8$ CFU/g. Nilai ini menunjukkan bahwa matriks natrium alginat masih mampu mempertahankan viabilitas inokulum *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg setelah proses gelas dengan kalsium klorida dan pengeringan pada suhu rendah. Hasil tersebut menegaskan bahwa proses enkapsulasi tidak menimbulkan penurunan viabilitas yang drastis, sehingga matriks alginat layak digunakan sebagai pelindung inokulum selama formulasi.

Namun, nilai viabilitas pasca-enkapsulasi perlu ditafsirkan secara hati-hati karena perbedaan basis satuan antara populasi awal dan hasil pasca-enkapsulasi. Populasi awal dinyatakan dalam CFU/g bahan sumber, sedangkan hasil pasca-enkapsulasi dinyatakan dalam CFU/g kapsul. Oleh karena itu, angka tersebut tidak dapat langsung dibaca sebagai peningkatan biologis murni. Secara biologis, hasil ini lebih tepat diartikan sebagai keberhasilan matriks alginat dalam mempertahankan sel tetap viable selama proses pembentukan kapsul dan pengeringan.

Streptomyces merupakan aktinomiset filamen yang membentuk hifa vegetatif dan spora. Hifa vegetatif cenderung lebih peka terhadap kehilangan air karena masih mempertahankan aktivitas metabolik, sedangkan spora berada pada keadaan dorman, memiliki kadar air intraseluler yang lebih rendah, dan dibekali komponen pelindung seperti trehalosa yang mendukung ketahanan terhadap pengeringan (Bobek *et al.* 2017). Bobek *et al.* (2017), McBride dan Ensign (1987), serta Kieser *et al.* (2000) menjelaskan bahwa spora *Streptomyces* merupakan bentuk propagul yang dirancang untuk bertahan pada kondisi tidak menguntungkan dan kembali aktif ketika lingkungan mendukung. Berdasarkan karakter tersebut, fraksi inokulum yang paling mungkin tetap dominan viabel setelah pengeringan adalah spora atau propagul yang kaya spora, sedangkan hifa vegetatif diduga lebih rentan kehilangan viabilitas.

Peran matriks natrium alginat juga penting untuk menjelaskan keberlangsungan hidup inokulum. Natrium alginat memiliki gugus karboksilat yang mudah membentuk jaringan hidrogel setelah berikatan silang dengan ion Ca^{2+} , sehingga gel terbentuk pada kondisi ringan tanpa panas tinggi dan tanpa pelarut organik yang merusak sel (Cao *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2021). Jaringan hidrogel ini mampu menahan air di sekitar inokulum dan menurunkan laju perubahan osmotik yang terlalu mendadak. Kalsium klorida tidak berfungsi sebagai bahan pembawa tersendiri, tetapi sebagai sumber ion kalsium yang menstabilkan matriks natrium alginat melalui ikatan silang, sehingga lingkungan mikro di sekitar inokulum menjadi lebih protektif selama proses pembentukan kapsul (Vassilev *et al.*, 2020; Rojas-Padilla *et al.*, 2022).

Tekanan pengeringan tetap menjadi faktor kritis karena penurunan kadar air dapat menyebabkan kerusakan membran dan penurunan kemampuan berkecambah. Viabilitas

yang masih terdeteksi setelah pengeringan menunjukkan adanya interaksi antara sifat fisiologis propagul *Streptomyces* dan sifat protektif matriks alginat. Mancera-López *et al.* (2023) melaporkan bahwa formulasi polimerik dapat mempertahankan viabilitas miselium *Streptomyces* yang tahan dehidrasi, sedangkan Liu *et al.* (2024) menegaskan bahwa *Streptomyces* merupakan kelompok yang adaptif terhadap cekaman kekeringan di lingkungan tanah. Temuan ini menunjukkan bahwa natrium alginat berperan sebagai matriks yang mempertahankan viabilitas inokulum selama formulasi.

C. Karakteristik Fisik Enkapsul *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg

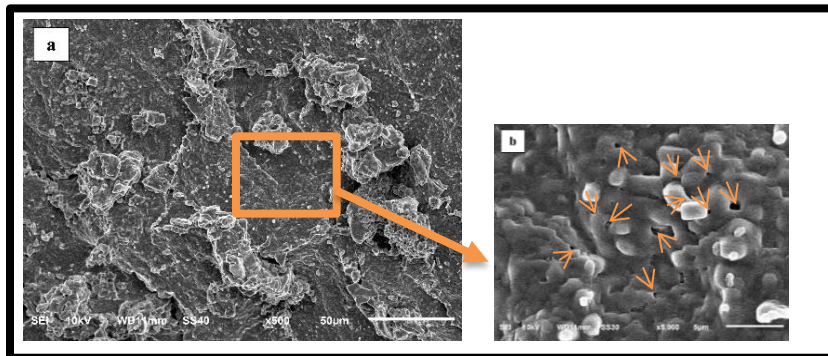
Karakteristik fisik enkapsul diamati berdasar parameter morfologi permukaan enkapsul, pembengkakan, dan biodegradasi selama kontak langsung dengan tanah.

1). Morfologi permukaan dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Hasil pengamatan morfologi permukaan enkapsul menggunakan SEM perbesaran 500x menunjukkan bahwa permukaan enkapsul tidak

homogen dan tersusun atas tekstur kasar, lekukan, serta pori-pori berukuran mikrometer. Morfologi enkapsul pada perbesaran 5000 kali menunjukkan permukaan matriks yang berlipat dan tidak rata, sedangkan gambar pada perbesaran lebih tinggi memperlihatkan agregat partikel yang diduga sebagai inokulum yang terimobilisasi pada permukaan matriks (Gambar 2).

Morfologi enkapsul tersebut konsisten dengan terbentuknya jaringan natrium alginat melalui ikatan silang ionik yang kemudian mengalami penyusutan selama pengeringan. Pori dan lipatan yang terbentuk dapat menjadi jalur masuk air pada fase imbibisi awal, lalu memudahkan difusi inokulum ketika jaringan mulai melonggar. Tekstur yang masih kompak tanpa retakan besar juga menunjukkan bahwa kapsul masih memiliki integritas yang cukup untuk memberikan proteksi awal terhadap inokulum sebelum pelepasan bertahap berlangsung (Cao *et al.*, 2020; Vargas *et al.*, 2018). Dengan demikian, hasil SEM mendukung kemungkinan bahwa struktur enkapsul berperan dalam mempertahankan inokulum sekaligus memfasilitasi difusi air pada tahap awal kontak dengan tanah.

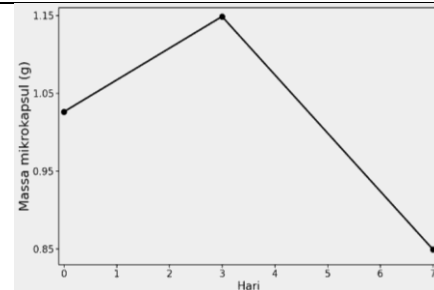


Gambar 2. Morfologi matriks alginat yang mengandung *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg. (a) Perbesaran 500× menunjukkan permukaan enkapsul yang kasar dan berpori. (b) Perbesaran 5000× memperlihatkan agregat partikel yang diduga sebagai inokulum terimobilisasi pada permukaan matriks.

2). Pembengkakan kapsul dalam tanah steril

Hasil pengamatan terhadap kemampuan pembengkakan kapsul *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg menggunakan natrium alginat dan kalsium klorida setelah kontak langsung dengan tanah menunjukkan terjadi peningkatan berat kapsul dari 1,0262 g pada hari ke-0 menjadi 1,1486 g pada hari ke-3, namun mengalami penurunan menjadi 0,8494 g pada hari ke-7 (Gambar 3). Kenaikan berat kapsul pada hari ke-3 setara dengan pembengkakan awal sebesar 11,9% diduga karena adanya imbibisi air dari lingkungan tanah ke dalam matriks alginat. Hal tersebut didukung dengan karakter morfologi kapsul yang berpori sehingga memungkinkan terjadinya imbibisi air dari lingkungan tanah. Pembengkakan awal terjadi ketika air berdifusi ke dalam jaringan hidrogel, memperbesar jarak antar rantai polimer dan membuka jalur difusi dari bagian dalam kapsul (Abka-khajouei *et al.*, 2022).

Penurunan berat kapsul pada hari ke-7 menunjukkan bahwa fase imbibisi tidak berlangsung stabil, tetapi diikuti pelonggaran jaringan gel dan mulai terlepasnya sebagian komponen matriks. Pola tersebut sesuai dengan sifat hidrogel alginat yang menyerap air pada tahap awal, kemudian mengalami relaksasi struktur ketika kontak dengan lingkungan lembap berlanjut (Hu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2023). Pelonggaran struktur gel juga berkaitan dengan karakter ionik matriks Ca-alginat. Keberadaan air dan ion-ion di lingkungan tanah memicu pertukaran ion Ca^{2+} dengan ion lain di sekitarnya, sehingga sebagian titik ikat pada jaringan gel melemah. Penurunan derajat ikatan silang menyebabkan matriks menjadi lebih lunak, lebih permeabel, dan lebih rentan mengalami disintegrasi bertahap. Kondisi ini menunjukkan bahwa pembengkakan bukan hanya perubahan berat sesaat, melainkan fase awal yang mengawali proses degradasi matriks secara fisikokimia (Cao *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2021).



Gambar 3. Perubahan massa kapsul pada uji pembengkakan dalam tanah steril.

3). Kehilangan massa kapsul dalam tanah steril

Hasil pengukuran kehilangan massa kapsul *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg selama kontak dengan tanah menunjukkan penurunan berat kapsul dari 1,01 g pada minggu ke-0 menjadi 0,30 g pada minggu ke-4 (Gambar 4). Hal tersebut menunjukkan hilangnya berat kapsul sebesar 70,3 % selama 4 minggu di dalam tanah. Penurunan berat kapsul selama penyimpanan dalam tanah diduga sebagai akibat pembengkakan awal karena adanya imbibisi air, pertukaran ion Ca^{2+} pada matriks dengan ion di lingkungan, pelindian fraksi polimer yang larut, sehingga menyebabkan peluruhan fisik jaringan hidrogel selama penyimpanan dalam tanah lembap. Hal tersebut sesuai dengan sifat alginat sebagai hidrogel yang dapat menyerap air, melonggar, lalu kehilangan massa secara bertahap meskipun tanpa keterlibatan komunitas mikroba aktif (Hu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2023; Vargas *et al.*, 2018).

Hasil pengukuran kehilangan massa kapsul *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg berkaitan langsung dengan data pembengkakan yang diperoleh sebelumnya. Penyerapan air pada fase awal menyebabkan jaringan hidrogel mengembang dan jarak antar rantai polimer meningkat. Struktur yang semakin longgar kemudian memudahkan terjadinya pelindian fraksi polimer yang lebih larut, menurunkan kekompakan matriks, dan mempercepat erosi bertahap kapsul. Urutan proses ini menunjukkan adanya keterkaitan

antarparameter, yaitu pembengkakan berperan sebagai tahap awal yang memfasilitasi biodegradasi, sedangkan biodegradasi merepresentasikan kelanjutan perubahan struktur dalam bentuk kehilangan massa enkapsul.

Penurunan massa lebih rasional dijelaskan sebagai hasil proses non-biologis, yaitu penyerapan air oleh matriks hidrogel, peningkatan jarak antar rantai polimer, pertukaran ion Ca^{2+} dengan ion di lingkungan, pelonggaran jaringan gel, dan erosi fisik matriks alginat secara bertahap. Lingkungan tanah steril tetap menyediakan kelembapan, ion terlarut, dan tekanan fisik yang cukup untuk memicu perubahan struktur tersebut meskipun tanpa keterlibatan komunitas mikroba aktif. Penjelasan ini sejalan dengan laporan bahwa Ca-alginat dapat mengalami pelemahan struktur dan kehilangan massa dalam lingkungan berair akibat proses fisikokimia, terutama ketika stabilitas ikatan silang ioniknya menurun (Hu *et al.*, 2021; Vargas *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2023).

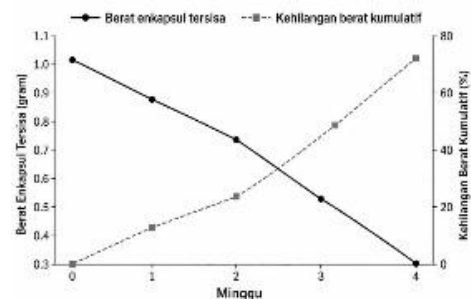
Hasil pengukuran biodegradasi menunjukkan bahwa berat enkapsul *Streptomyces* menurun dari 1,01 g pada minggu ke-0 menjadi 0,30 g pada minggu ke-4, sehingga terjadi kehilangan massa sebesar 70,3% selama penyimpanan di dalam tanah. Penurunan berat ini diduga berlangsung melalui beberapa tahapan fisikokimia pada matriks Ca-alginat. Pada tahap awal, enkapsul mengalami pembengkakan akibat imbibisi air dari lingkungan tanah ke dalam jaringan hidrogel. Hal ini sejalan dengan sifat alginat sebagai polisakarida hidrofilik yang mampu membentuk hidrogel, menyerap air, dan mengalami swelling karena hidrasi gugus karboksilat dan hidroksil dalam matriksnya. Ketika air masuk ke jaringan gel, jarak antar rantai polimer meningkat, pori matriks menjadi lebih terbuka, dan struktur gel menjadi lebih longgar (Abka-khajouei *et al.*, 2022 ; Malektaj *et al.*, 2023).

Setelah fase pembengkakan awal, kestabilan jaringan mulai menurun akibat

pertukaran ion Ca^{2+} yang berperan sebagai ikatan silang dengan ion-ion di lingkungan tanah. Pada gel alginat, Ca^{2+} berikatan dengan gugus karboksilat terutama pada blok guluronat membentuk struktur “egg-box”, namun ikatan ionik ini dapat melemah dalam lingkungan berair yang mengandung proton maupun ion terlarut lainnya. Pertukaran ion tersebut menyebabkan sebagian ikatan silang putus, kerapatan jaringan menurun, dan struktur gel mengalami pelemahan bertahap (Abka-khajouei *et al.*, 2022 ; Malektaj *et al.*, 2023).

Pelemahan ikatan silang meningkatkan permeabilitas dan mesh size matriks, sehingga mempermudah pelindian fraksi polimer dan fragmen rantai keluar dari jaringan hidrogel. Gel alginat yang berpori memungkinkan difusi molekul kecil, dan penurunan densitas cross-link akan semakin mempercepat proses tersebut. Pemutusan rantai polimer selama degradasi juga menyebabkan penurunan sifat mekanik dan pelepasan material dari matriks, sehingga berkontribusi terhadap kehilangan massa enkapsul selama penyimpanan dalam tanah lembap (Manaila *et al.*, 2025 ; Campbell, *et al.*, 2018).

Selain pelindian, penurunan berat enkapsul juga dipercepat oleh peluruhan fisik hidrogel, seperti syneresis dan erosi bertahap. Air yang terperangkap dalam matriks dapat keluar saat gel berkontraksi, sementara perubahan kelembapan, pH, dan kondisi ionik memicu biodeterioration yang menurunkan integritas material (Manaila *et al.*, 2025).



Gambar 4. Penurunan massa enkapsul selama uji biodegradasi dalam tanah steril

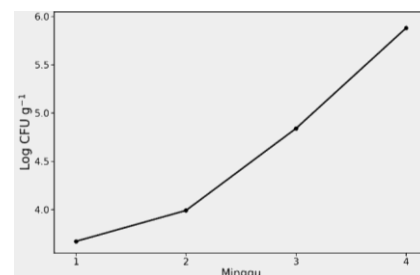
D. Viabilitas Pelepasan *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg dari Enkapsul ke Tanah

Hasil pengamatan viabilitas *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg terenkapsulasi setelah 4 minggu di dalam tanah menunjukkan adanya peningkatan jumlah populasi dari $4,7 \times 10^3$ CFU/g pada minggu pertama menjadi $9,8 \times 10^3$ CFU/g pada minggu kedua, $6,9 \times 10^4$ CFU/g pada minggu ketiga, dan $7,6 \times 10^5$ CFU/g pada minggu keempat (Gambar 5). Pola ini menunjukkan bahwa sistem enkapsulasi tidak melepaskan inokulum secara serentak, melainkan melalui pelepasan bertahap di lingkungan tanah. Kenaikan populasi yang semakin nyata pada minggu ketiga dan keempat selaras dengan hasil pembengkakan dan kehilangan massa matriks. Air yang telah masuk ke dalam jaringan gel melonggarkan struktur Ca-alginat, sedangkan erosi bertahap memperbesar peluang keluarnya inokulum dari enkapsul. Hal tersebut sejalan dengan Rojas-Padilla *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa bacillus strains yang dienkapsulasi menggunakan natrium alginat dan CaCl_2 mengalami pelepasan inokulum ke dalam tanah secara bertahap selama 4 minggu pengamatan.

Kenaikan populasi yang makin nyata pada minggu ketiga dan keempat selaras dengan hasil pembengkakan dan biodegradasi. Air yang telah masuk ke dalam matriks melonggarkan jaringan Ca-alginat, sementara erosi bertahap memperbesar peluang keluarnya inokulum dari kapsul. Hubungan antarparameter ini menunjukkan bahwa pembengkakan dan penurunan massa matriks berkontribusi pada pelepasan inokulum secara gradual, bukan sekaligus (Rojas-Padilla *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023).

Peningkatan jumlah CFU/g di tanah pada setiap waktu pengamatan tidak hanya dapat dijelaskan sebagai hasil pelepasan inokulum dari enkapsul, tetapi juga sebagai akibat kemampuan

inokulum untuk bertahan dan berkembang di dalam tanah steril dengan memanfaatkan nutrisi yang tersedia. Tanah merupakan media tumbuh yang memungkinkan *Streptomyces* beradaptasi karena menyediakan bahan organik dan unsur mineral dasar (Vurukonda *et al.*, 2018). Kondisi tanah uji yang bebas dari mikroba juga mendukung untuk pertumbuhan inokulum karena ketiadaan kompetitor mikroba memberi ruang kolonisasi yang lebih besar. Nazari *et al.* (2023) dan Liu *et al.* (2024) menjelaskan bahwa *Streptomyces* merupakan aktinomiset tanah yang adaptif terhadap kondisi kering dan mampu kembali aktif ketika kelembapan serta sumber nutrisi tersedia. Data penelitian ini lebih tepat ditafsirkan sebagai gabungan antara pelepasan bertahap dari matriks natrium alginat dan penetapan populasi setelah inokulum berhasil dilepas ke tanah.



Gambar 5. Viabilitas pelepasan dan penetapan *Streptomyces enissocaesilis* strain RFZm-Pg dari enkapsul ke tanah steril

IV. KESIMPULAN

Streptomyces enissocaesilis strain RFZm-Pg dapat dienkapsulasi dalam natrium alginat melalui gelas ionik kalsium klorida dan tetap mempertahankan viabilitas setelah proses Natrium alginat berfungsi sebagai matriks yang membantu formulasi. pengikat silang yang membentuk matriks gel alginat sehingga menciptakan lingkungan pelindung bagi sel mempertahankan viabilitas inokulum selama pencampuran, gelasi, dan pengeringan, sekaligus mendukung pembengkakan, biodegradasi bertahap, dan pelepasan inokulum di tanah steril. Hasil penelitian ini menegaskan bahwa natrium alginat dan kalsium lorida layak dikembangkan sebagai matriks enkapsulasi *Streptomyces* untuk aplikasi pertanian berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyatama, M. D., Mariana, M., & Budi, I. S. (2023). Uji lapang aplikasi *Trichoderma* sp. dan PGPR dalam menekan kejadian penyakit antraknosa pada cabai rawit hiyung. *Jurnal Proteksi Tanaman Tropika*, 6(3), 700–707. <https://doi.org/10.20527/jptt.v6i3.2165>
- Abka-khajouei, R., Tounsi, L., Shahabi, N., Patel, A. K., Abdelkafi, S., & Michaud, P. (2022). Structures, properties and applications of alginats. *Marine Drugs*, 20(6), 364. <https://doi.org/10.3390/md20060364>
- Barzkar, N., Sheng, R., Sohail, M., Jahromi, S. T., Babich, O., Sukhikh, S., & Nahavandi, R. (2022). Alginat lyases from marine bacteria: An enzyme ocean for sustainable future. *Molecules*, 27(11), 3375. <https://doi.org/10.3390/molecules27113375>
- Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J. P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*, 378, 1–33.
- Bobek, J., Šmídová, K., & Čihák, M. (2017). A wakening review: Old and novel insights into spore germination in *Streptomyces*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2205. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02205>
- Campbell, K. T., Stilhano, R. S., & Silva, E. A. (2018). Enzymatically degradable alginat hydrogel systems to deliver endothelial progenitor cells for potential revascularization applications. *Biomaterials*, 179, 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.06.038>
- Cao, L., Lu, W., Mata, A., Nishinari, K., & Fang, Y. (2020). Egg-box model-based gelation of alginat and pectin: A review. *Carbohydrate Polymers*, 242, 116389. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116389>
- Dow, L., Gallart, M., Ramarajan, M., Law, S. R., & Thatcher, L. F. (2023). *Streptomyces* and their specialised metabolites for phytopathogen control – Comparative in vitro and in planta metabolic approaches. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1151912. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1151912>
- Galaviz, C., Lopez, B. R., de-Bashan, L. E., Hirsch, A. M., Maymon, M., & Bashan, Y. (2018). Root growth improvement of mesquite seedlings and bacterial rhizosphere and soil community changes are induced by inoculation with plant growth-promoting bacteria and promote restoration of eroded desert soil. *Land Degradation & Development*, 29, 1453–1466. <https://doi.org/10.1002/ldr.2904>
- Hu, C., Lu, W., Mata, A., Nishinari, K., & Fang, Y. (2021). Ions-induced gelation of alginat: Mechanisms and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 177, 578–588. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.086>
- Kieser, T., Bibb, M. J., Buttner, M. J., Chater, K. F., & Hopwood, D. A. (2000). *Practical Streptomyces genetics*. John Innes Foundation.
- Kim, D. E., Lee, E. Y., & Kim, H. S. (2009). Cloning and characterization of alginat lyase from a marine bacterium *Streptomyces* sp. ALG-5. *Marine Biotechnology*, 11(1), 10–16. <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9114-9>
- Liu, H., Li, J., & Singh, B. K. (2024). Harnessing co-evolutionary interactions between plants and *Streptomyces* to combat drought stress. *Nature Plants*, 10(8), 1159–1171. <https://doi.org/10.1038/s41477-024-01749-1>
- Mancera-López, M. E., Barrera-Cortés, J., Mendoza-Serna, R., Ariza-Castolo, A., & Santillan, R. (2023). Polymeric encapsulate of *Streptomyces* mycelium resistant to dehydration with air flow at room temperature. *Polymers*, 15(1), 207. <https://doi.org/10.3390/polym15010207>
- Malektaj, H., Drozdov, A. D., & deClaville Christiansen, J. (2023). Swelling of homogeneous alginat gels with multi-stimuli sensitivity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5064. <https://doi.org/10.3390/ijms24065064>
- Manaila, E., Calina, I. C., Dumitru, M., & Craciun, G. (2025). Poly(acrylic acid)-natrium alginat superabsorbent hydrogels synthesized using electron-beam irradiation-Part III: An evaluation of their degradation in

- soil. *Molecules*, 30, 1126. <https://doi.org/10.3390/molecules30051126>
- McBride, M. J., & Ensign, J. C. (1987). Effects of intracellular trehalose content on *Streptomyces griseus* spores. *Journal of Bacteriology*, 169(11), 4995–5001. <https://doi.org/10.1128/jb.169.11.4995-5001.1987>
- Nazari, M. T., Schommer, V. A., Braun, J. C. A., dos Santos, L. F., Lopes, S. T., Simon, V., Machado, B. S., Ferrari, V., Colla, L. M., & Piccin, J. S. (2023). Using *Streptomyces* spp. as plant growth promoters and biocontrol agents. *Rhizosphere*, 27, 100741. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100741>
- Retnowati, Y., Kandowangko, N. Y., Katili, A. S., & Pembengo, W. (2024a). Diversity of actinomycetes on plant rhizosphere of karst ecosystem of Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas*, 25(3), 907–915. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d250301>
- Retnowati, Y., Kandowangko, N. Y., Katili, A. S., & Pembengo, W. (2024b). Molecular identification of rhizospheric Actinomycetes from karst ecosystems of Gorontalo, Indonesia, and its seed germination induction capability of *Zea mays* var. doti. *Biodiversitas*, 25(12), 4763–4771. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d251212>
- Retnowati, Y., Katili, A. S., & Kandowangko, N. Y. (2025c). Bioprospecting and molecular identification of *Streptomyces* on karst ecosystems in the coastal area of Gorontalo, Indonesia, as plant growth-promoting rhizobacteria. *Biodiversitas*, 26(7), 3294–3301. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d260721>
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A. P., Sousa, S., Gomes, A. M., Pintado, M. M., Malcata, F. X., Lobo, J. M. S., Silva, J. P., Costa, P., & Amaral, M. H. (2011). On the viability of five probiotic strains when immobilized on various polymers. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 137–144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00644.x>
- Rojas-Padilla, J., de-Bashan, L. E., Parra-Cota, F. I., Rocha-Estrada, J., & de los Santos-Villalobos, S. (2022). Microencapsulation of *Bacillus* strains for improving wheat (*Triticum turgidum* subsp. durum) growth and development. *Plants*, 11(21), 2920. <https://doi.org/10.3390/plants11212920>
- Saberi Riseh, R., Fathi, F., Vatankhah, M., & Kennedy, J. F. (2025). Alginat supramolecular for encapsulation of plant biocontrol bacteria: A review. *Carbohydrate Polymers*, 358, 123511. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123511>
- Souza-Alonso, P., Rocha, M., Rocha, I., Ma, Y., Freitas, H., & Oliveira, R. S. (2021). Encapsulation of *Pseudomonas libanensis* in alginat beads to sustain bacterial viability and inoculation of *Vigna unguiculata* under drought stress. *3 Biotech*, 11, 293. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02818-4>
- Vargas, P. O., Pereira, N. R., Guimarães, A. O., Waldman, W. R., & Pereira, V. R. (2018). Shrinkage and deformation during convective drying of kalsium alginat. *LWT*, 97, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.056>
- Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia del Moral, L. F., Kowalska, J., Tytkowski, B., & Malusá, E. (2020). Formulation of microbial inoculants by encapsulation in natural polysaccharides: Focus on beneficial properties of carrier additives and derivatives. *Frontiers in Plant Science*, 11, 270.
- Vejan, P., Khadiran, T., Abdullah, R., Ismail, S., & Dadrasnia, A. (2019). Encapsulation of plant growth promoting rhizobacteria—Prospects and potential in agricultural sector: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 42, 2600–2623.
- Wang, N., Wang, B., Wan, Y., Gao, B., & Rajput, V. D. (2023). Alginat-based composites as novel soil conditioners for sustainable applications in agriculture: A critical review. *Journal of Environmental Management*, 348, 119133. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119133>
- Widyananda, K. S., Purnawati, A., & Wiyatiningsih, S. (2025). Bioencapsulation of *Streptomyces* sp. with natrium alginat for control *Fusarium* sp. in shallot plants. *CROPSAVER Journal of Plant Protection*, 8(