

OPTIMASI SUHU DAN pH MEDIA PERTUMBUHAN BAKTERI PELARUT FOSFAT DARI ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK

OPTIMIZATION OF TEMPERATURE AND pH OF PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA GROWTH MEDIA FROM ISOLATE OF THERMOPHILIC BACTERIA

Oleh: Ningtyas Yuniar Respati¹, Biologi, FMIPA, UNY (tyasrespati01@gmail.com)

Evy Yulianti, M.Sc.², evy_yulianti@uny.ac.id; Anna Rakhmawati, M.Si.³,

anna_rakhmawati@uny.ac.id

¹mahasiswa Biologi UNY

^{2,3}dosen Biologi UNY

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui suhu dan pH yang optimal serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri pelarut fosfat termofilik pasca erupsi Merapi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Sampel penelitian yaitu isolat BPF D75, D92, dan D110a yang termasuk Genus *Oscillospira*. Sampel diberi perlakuan variasi suhu (45°C, 55°C, dan 65°C) dan pH (5, 7, dan 9) serta diukur pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometer 600 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki kemampuan tumbuh yang berbeda-beda terhadap suhu lingkungan dan pH media *Pikovskaya* mengalami penurunan pH menjadi asam. Pertumbuhan bakteri optimal pada isolat D75 suhu 55 °C dan pH 7 dengan nilai OD 9,51 pada jam ke-12, isolat D92 suhu 55 °C dan pH 9 dengan nilai OD 11,69 pada jam ke-27, dan isolat D110a suhu 45 °C dan pH 9 dengan nilai OD 11,49 pada jam ke-15. Pertumbuhan isolat bakteri termofilik paling baik adalah isolat D110a, suhu paling baik 45 °C dan pH 9.

Kata kunci: bakteri pelarut fosfat dan pertumbuhan.

Abstract

The aim of this study was optimization the temperature and pH as well as its effect on the growth Phosphate Solubilizing thermophilic bacteria after Merapi eruption. This study was an experimental research. The samples consists of three (3) Phosphate Solubilizing Bacteria, D75, D92, and D110a from Genus Oscillospira. Samples were treated with temperature variation (45 °C, 55 °C, and 65 °C) and pH (5, 7, and 9) and tested by bacterial growth. The results showed that the three isolates have different growth capabilities to the temperature around the media and The pH of the medium become lower in the end of incubation periode. The best bacterial growth was showed from isolate of D75 at 55 °C and pH 7 with OD value 9,51 at 12 hours, isolate of D92 at 55° C and pH 9 with OD value 11,69 at 27 hours, and isolate of D110a at 45° C and pH 9 with OD value 11,49 at 15 hours. The best growth of thermophilic bacteria isolate between three isolates was isolate of D110a, best temperature at 45 °C and best pH at 9.

Keywords: Phosphate Solubilizing Bacteria and growth.

PENDAHULUAN

Unsur fosfat adalah unsur hara makro yang dibutuhkan oleh tanaman yang

berperan penting dalam metabolisme tanaman. Tanaman menyerap fosfat dalam bentuk ion orthofosfat seperti H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , dan PO_4^- (Hanafiah, 2007: 292),

tetapi sebagian besar bentuk fosfat tersebut terikat oleh koloid tanah sehingga keberadaan P dalam tanah pada umumnya rendah dan tidak dapat diserap tanaman. Pemberian pupuk fosfat dalam bentuk pupuk kimiawi ke dalam tanah mengalami pengikatan (*immobilisasi*) yang sangat cepat sehingga hanya 15-20% yang dapat diserap oleh tanaman dan sisanya terjebak menjadi residu dalam tanah (Buckman dan Brady, 1956; Jones, 1982 *dalam* Santosa, 2007: 142).

Fosfat terikat harus diubah menjadi bentuk tersedia bagi tanaman. Perubahan P terikat menjadi bentuk tersedia dapat dilakukan dengan proses pelarutan dan mineralisasi yang dipengaruhi oleh bakteri pelarut fosfat. Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) mengekskresikan sejumlah asam organik (Setiawati, 2008: 236) dan menghasilkan enzim fosfatase serta enzim fitase yang dapat melarutkan fosfat (Santosa, 2007: 144-145).

Bakteri pelarut fosfat salah satunya bersifat termofilik yang memiliki ketahanan terhadap suhu panas dalam rentang tertentu, sehingga enzim serta asam-asam organik yang dihasilkan bakteri untuk melarutkan fosfat tidak mudah rusak saat digunakan untuk bekerja dalam lingkungan industri yang membutuhkan suhu tinggi.

Bakteri pelarut fosfat termofilik ditemukan pada daerah yang memiliki aktivitas geotermal, seperti daerah vulkanik yang ditemukan pasca erupsi Merapi pada tahun 2010 di Sungai Gendol. Isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi 2010 belum banyak diketahui kemampuannya dalam melarutkan fosfat. Penelitian sebelumnya oleh Evy Yulianti dan Rakhmawati (2017)

tentang seleksi dan karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat tetapi belum mengarah pada optimasi pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat.

Berdasarkan hal tersebut maka eksplorasi bakteri pelarut fosfat termofilik masih berpotensi untuk dikembangkan agar dapat diterapkan ke masyarakat, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan penelitian mengenai bakteri pelarut fosfat. Tiga isolat terpilih bakteri pelarut fosfat dari isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi 2010 di uji kemampuan pertumbuhannya pada variasi suhu dan pH.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen menggunakan analisis Deskriptif kuantitatif.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - Juni 2017 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY.

Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian meliputi seluruh isolat bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari bakteri termofilik Sungai Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010 yang ada di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY.

Sampel penelitian yaitu tiga (3) isolat (D75, D110a, dan D92) Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) terpilih dari isolat bakteri termofilik Sungai Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010 yang termasuk Genus *Oscillospira*.

Prosedur

Penelitian dilakukan dengan melakukan peremajaan Isolat Bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) *plate miring* dengan metode gores yang diinkubasi pada suhu 55 °C selama 24-48 jam. Bakteri yang sudah tumbuh selanjutnya ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) yang di *shaker* pada suhu inkubasi 55 °C selama 24 jam. Setelah tumbuh, diukur nilai *Optical Density* sampai menunjukkan nilai absorbansi 1. Bakteri pelarut fosfat yang telah memiliki OD bernilai 1 kemudian ditumbuhkan pada media *Pikovskaya* dengan variasi pH 5, 7, dan 9 dengan masing-masing isolat diambil sebanyak 10 ml dari media NB secara aseptik, kemudian ditumbuhkan dalam botol kultur yang berisi media *Pikovskaya* 90 ml dan diinkubasi dalam kondisi statis pada suhu 55 °C, 65 °C dan 75 °C selama 48 jam.

Teknik Pengumpulan Data

Pengukuran pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mengukur kekeruhannya dengan mengambil sampel sebanyak 2 ml lalu dispektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* dan dilakukan uji lanjut menggunakan DMRT.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Fase-Fase Pertumbuhan pada Kurva Pertumbuhan

Pertumbuhan populasi bakteri dipelajari dengan mengamati kurva pertumbuhan pada kultur bakteri. Hasil penelitian menunjukkan pola pertumbuhan dari ketiga isolat D75, D92, dan D110a berbeda-beda pada media *Pikovskaya*. Media *Pikovskaya* mengandung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai sumber fosfat anorganik dan unsur-unsur pelengkap lainnya menyebabkan koloni bakteri yang tumbuh merupakan koloni bakteri pelarut fosfat yang mampu memanfaatkan fosfat dari senyawa sumber fosfat tersebut, sehingga jika bakteri kurang atau tidak dapat memanfaatkan fosfat yang ada di media *Pikovskaya* maka pertumbuhannya akan lambat atau bahkan tidak tumbuh.

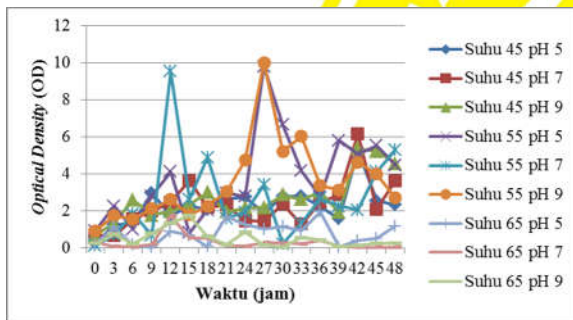
Pertumbuhan ketiga isolat diawali dengan fase lag. Fase lag disebut periode penyesuaian pada lingkungan, biasanya ditandai dengan tidak adanya penambahan jumlah sel atau massa sel dan lama waktu fase ini dapat berlangsung cepat dalam hitungan menit hingga jam tergantung macam bakteri, umur biakan, dan nutrisi yang terdapat pada media. Berdasarkan hasil penelitian, rata-rata fase lag pada kurva pertumbuhan dari ketiga isolat berlangsung sangat cepat, sehingga tidak terlihat jelas. Hal ini dibuktikan dengan kurva yang langsung naik menuju fase log.

Ketiga isolat bakteri (D75, D92, dan D110a) memiliki fase log yang terlihat nyata ditandai dengan adanya kenaikan pada kurva pertumbuhan. Hal tersebut membuktikan

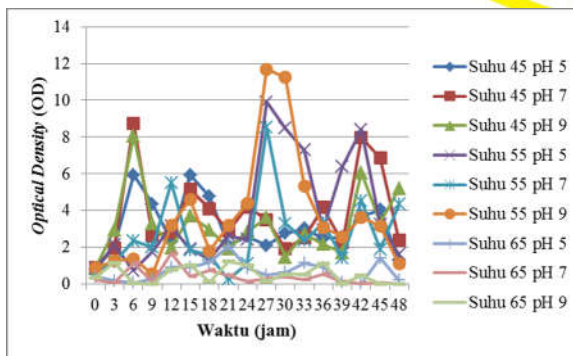
bahwa sel isolat Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) D75, D92, dan D110a dapat tumbuh pada semua perlakuan suhu dan pH.

Fase stasioner pada kurva pertumbuhan isolat bakteri D75, D92, dan D110a cenderung sangat cepat, sehingga setelah fase log kemudian langsung masuk ke dalam fase kematian. Hal ini disebabkan karena habisnya sumber nutrisi yang terdapat pada media pertumbuhan.

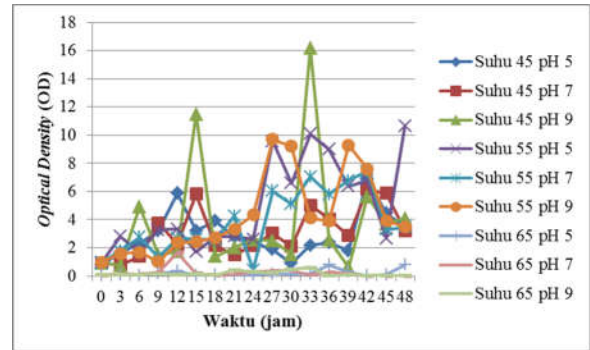
Fase kematian disebabkan karena pertumbuhan sel mulai terhenti dan bakteri telah menghabiskan energi cadangan (ATP) untuk respirasinya, sehingga sel bakteri banyak yang mati (Brock & Madigan, 1991: 152).



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Isolat D75 pada Media *Pikovskaya*



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Isolat D92 pada Media *Pikovskaya*



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Isolat D92 pada Media *Pikovskaya*

Jika dilihat berdasarkan pola pertumbuhan pada grafik, maka pertumbuhan bakteri dari ketiga isolat memiliki bentuk grafik yang naik turun (fluktuatif). Hal ini dikarenakan bakteri mengalami pertumbuhan kembali setelah mengalami penurunan pada grafik pertumbuhan.

Kemampuan isolat bakteri dapat tumbuh kembali karena adanya sumber nutrisi yang berasal dari sel-sel bakteri termofilik lain yang telah mengalami kematian, sehingga sumber nutrisi yang baru tersebut dapat dimanfaatkan bakteri sebagai bahan metabolisme sel bakteri tersebut. Jasad bakteri mengalami penguraian sehingga dapat dijadikan sumber energi bagi sisa bakteri yang masih hidup untuk tumbuh kembali.

Rata-rata, ketiga isolat setelah mencapai fase log (fase eksponensial) mengalami penurunan drastis pada kurva pertumbuhan. Peristiwa tersebut dimungkinkan terjadi karena banyaknya bakteri yang telah mati kemudian mengendap di dasar media cair yang kurang homogen karena kurangnya pengocokan sebelum isolat diukur nilai kekeruhannya.

Hal ini menyebabkan nilai OD yang terukur spektrofotometer menjadi sangat rendah.

Optimasi Suhu dan pH terhadap Pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat Termofilik

Dilihat dari kurva pertumbuhan isolat D75 (Gambar 1), D92 (Gambar 2), dan D110a (Gambar 3) yang ditumbuhkan pada media *Pikovskaya* dengan suhu inkubasi 45 °C, 55 °C, dan 65 °C dan variasi pH 5, 7, dan 9 memiliki aktivitas pertumbuhan optimal yang berbeda-beda. Berikut Tabel Suhu dan pH yang dibutuhkan Isolat D75, D92, dan D110a untuk dapat tumbuh optimal.

Tabel 1. Suhu dan pH Paling Baik pada Pertumbuhan Isolat D75, D92, dan D110a

Jenis Isolat	Optical Density (OD)			
	Suhu (°C)	pH	Nilai OD	Waktu Inkubasi
D75	45	7	6,15	42
	55	7	9,51	12
	65	7	1,74	15
D92	45	7	8,75	6
	55	9	11,69	27
	65	7	1,67	12
D110a	45	9	16,17	33
	55	9	9,71	27
	65	7	1,66	12

Aktivitas pertumbuhan isolat bakteri dilihat dari puncak eksponensialnya menunjukkan isolat D75 memiliki suhu inkubasi optimal 55 °C dan pH optimal 7 yang memiliki puncak eksponensial pada jam ke 12 dengan nilai OD 9,51. Isolat D92 memiliki suhu inkubasi optimal 55 °C dan pH optimal 9 yang memiliki puncak

eksponensial pada jam ke 27 dengan nilai OD 11,69, dan isolat D110a memiliki suhu inkubasi optimal 45 °C dan pH optimal 9 yang memiliki puncak eksponensial pada jam ke 33 dengan nilai OD 16,17.

Perbedaan suhu inkubasi disebabkan karena masing-masing isolat memiliki kemampuan toleran terhadap suhu yang berbeda-beda. Suhu yang terlalu rendah dapat meningkatkan waktu regenerasi dan memperlambat pertumbuhan sel, sedangkan suhu yang terlalu tinggi menyebabkan kematian bakteri karena seiring bertambahnya suhu lingkungan maka akan memperbesar tekanan atau “*stress*” pada sel bakteri sehingga berakibat pada kurang maksimalnya proses fisiologis pada sel bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian suhu optimal untuk pertumbuhan memiliki rentang 45 °C - 65 °C. Hal tersebut disebabkan karena isolat bakteri yang digunakan merupakan isolat bakteri termofilik yang memiliki enzim termostabil, membran lipid jenuh dengan titik lebur tinggi dibanding dengan bakteri lain sehingga mendukung untuk hidup di lingkungan bersuhu tinggi berkisar 45-65 °C (Prescott *et al.*, 2002: 122-126).

Pengukuran pH

Salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap viabilitas suatu bakteri adalah pH. Pertumbuhan bakteri pada media *Pikovskaya* diikuti dengan penurunan pH yang semakin asam ditandai dengan adanya penurunan pada grafik (Gambar 7, 8 dan 9). pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 6,5-7,5.

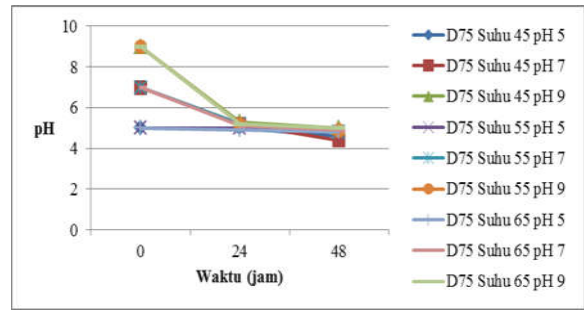
Umumnya pH untuk pertumbuhan bakteri adalah 4 dan 9 (Yelti, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian pH akhir pada semua perlakuan mengalami penurunan. pH akhir pada isolat D75 pada jam ke-24 memiliki rentang 4,8 – 5,3, sedangkan pada jam ke-48 memiliki rentang pH 4,4 – 6,1. Isolat D92 pada jam ke-24 memiliki rentang pH 5 – 5,3, sedangkan pada jam ke-48 memiliki rentang pH 4,9 – 5,8 dan pada isolat D110a pada jam ke-24 memiliki rentang pH 4,8 – 5,6, sedangkan pada jam ke-48 memiliki rentang pH 4,9 – 6. Rentang pertumbuhan ketiga bakteri pelarut fosfat D75, D92, dan D110a masih dalam rentang pH umum tumbuhnya bakteri.

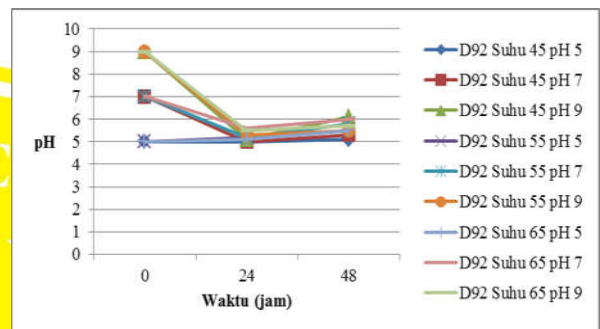
Penurunan pH dari netral menjadi asam dikarenakan sekresi asam-asam organik dari isolat bakteri. Jenis asam organik tersebut ditentukan oleh sifat genetic, fisiological, nutrisi, dan kondisi pertumbuhan kulturnya (Reyes *et al.*, 2007: 69-75).

Asam-asam organik yang dihasilkan tersebut digunakan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) D75, D92, dan D110a untuk melarutkan fosfat-anorganik tak larut. pH kemudian sedikit mengalami kenaikan tetapi masih dalam kondisi pH asam dikarenakan asam-asam organik berikatan dengan Ca sehingga asam organik yang berada pada media menjadi berkurang.

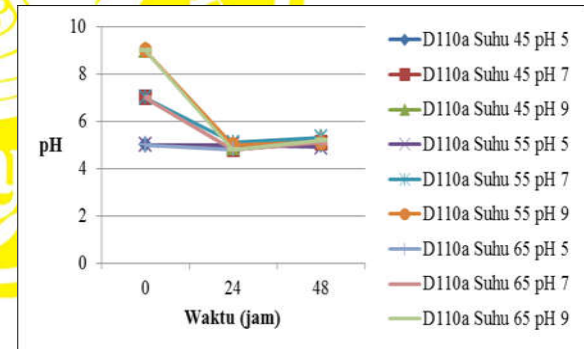
Mikroba menghasilkan asam-asam organik tersebut melalui proses katabolisme glukosa dan siklus trikarboksilat (TCA), yang merupakan kelanjutan dari reaksi glikolisis. Asam-asam ini merupakan substrat untuk proses anabolisme dalam sintesis asam amino dan makromolekul lain (Dawes dan Sutherland, 1976).



Gambar 7. Hasil Pengukuran pH Media *Pikovskaya* pada Isolat Bakteri Termofilik D75



Gambar 8. Hasil Pengukuran pH Media *Pikovskaya* pada Isolat Bakteri Termofilik D92



Gambar 9. Hasil Pengukuran pH media *Pikovskaya* pada isolat bakteri termofilik D110a

Optimasi Jenis Isolat, pH dan Suhu Inkubasi terhadap Pertumbuhan

Berdasarkan hasil uji statistik DMRT maka diketahui jenis isolat, pH, dan suhu inkubasi yang optimal untuk pertumbuhan

bakteri pelarut fosfat pada media *Pikovskaya* yang ditampilkan pada Tabel 2, 3, dan 4.

Tabel 2. Hasil Uji DMRT Jenis Isolat paling baik terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik

Jenis Isolat	Ulangan	Nilai <i>Optical Density</i> (OD)	Kadar Fosfat Bebas
D75	27	5,7246 ^a	4,1070 ^a
D92	27	6,4239 ^b	2,9118 ^b
D110a	27	6,8446 ^c	2,6418 ^c

Tabel 3. Hasil Uji DMRT Suhu yang paling baik terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik

Perlakuan Suhu	Ulangan	Aktivitas Pertumbuhan (OD)
45 °C	27	7,6361 ^a
55 °C	27	9,6909 ^b
65 °C	27	1,6663 ^c

Tabel 4. Hasil Uji DMRT Suhu yang paling baik terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik

Perlakuan pH	Ulangan	Aktivitas Pertumbuhan (OD)
5	27	6,0897 ^a
7	27	5,7291 ^b
9	27	7,1742 ^c

Jenis isolat, pH, dan suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri pada media *Pikovskaya* pada Tabel 2 menunjukkan bahwa untuk pertumbuhan dari ketiga jenis isolat bakteri termofilik paling bagus adalah isolat D110a. Hal ini menandakan bahwa isolat bakteri D110a lebih adaptif terhadap media kultur *Pikovskaya* dan memiliki kemampuan aktif membelah yang lebih

cepat dibanding isolat yang lain karena dapat memanfaatkan sumber nutrisi dan fosfat yang ada dalam media *Pikovskaya*.

Berdasarkan Tabel 3 rata-rata ketiga jenis isolat dapat tumbuh dengan baik pada suhu inkubasi 55 °C dan pH 9 (Tabel 4). Apabila pH dalam suatu media tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim dan berakibat mengganggu pertumbuhan bakteri (Pelczar, 2005). Rata-rata pH optimal pada ketiga isolat berada pada pH 9. pH 9 merupakan pH basa yang membuat kebanyakan bakteri tidak dapat tumbuh, jika dapat tumbuh maka bakteri tersebut termasuk kedalam bakteri oksidasi sulfur. Hal tersebut didukung dengan teori menurut Srikandi (1992: 107) sebagian besar bakteri akan tumbuh optimal pada pH sekitar 6,5-7,5 dan pada pH dibawah 5 dan diatas 8,5 sebagian besar bakteri tidak mampu tumbuh kecuali bakteri asam asetat dan bakteri oksidasi sulfur.

Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktivitas enzim untuk mengkatalisis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Jika pH pertumbuhan bakteri tidak optimum akan mengakibatkan terganggunya pertumbuhan bakteri.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pertumbuhan bakteri optimal pada isolat D75 pada suhu 55 °C dan pH 7, isolat D92 pada suhu 55 °C dan pH 9, dan isolat D110a pada suhu 45 °C dan pH 9. Aktivitas pelarutan fosfat pada isolat D75 dan D92 optimal pada suhu 45 °C dan pH 7,

sedangkan isolat D110a pada suhu 65 °C dan pH 7.

Pertumbuhan isolat bakteri termofilik paling baik dari ketiga isolat adalah isolat D110a pada suhu 55 °C dan pH 9.

Saran

Perlu dilakukan karakterisasi isolat bakteri termofilik secara molekuler untuk mengetahui penyebab perbedaan kemampuan pertumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Brock, T.D., & Madigan, M.T. (1991). *Biology of Microorganisms* (6th ed). Prentice-Hall International, Inc.
- Dawes, I.W., & I.W. Sutherland. (1976). *Microbial Physiology*. John Wiley and Sons (Eds). New York: Toronto.
- Evy, Yulianti. & Anna, R. (2017). Screening and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Isolate of Thermophilic Bacteria. *AIP Conference Proceedings* 1868, 090015 (2017); doi: 10.1063/1.4995207.
- Hanafiah, K.A. (2007). *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Pelczar, M.J; and E.C.S.Chan. (2005). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta: UI press.
- Prescott. (2002). *Microbiology 1th edition*. California: Mc Graw-Hill Companies, Inc.
- Reyes, I., A. Valery., & Z. Valdúz. (2007). Phosphatase Solubilizing Microorganism Isolate from Rhizospheric and Bulk Soil of Colonizer Plants at an Abandoned Rock Phosphate Mine. Di dalam E. Velazquez dan C. Rodriguez-Barrueco (edt). *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*, 69-75.
- Santosa, E., & Rohani, C.B.G. (2007). Mikroorganisme Pelarut Fosfat dalam Rasti Saraswati, Edi Husein, dan RDM Simanungkalit (Ed) *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: Balai Besar LITBANG Sumber Daya Lahan Pertanian.
- Setiawati, T.C., & Mihardja, P.A. (2008). Identifikasi dan Kuantifikasi Metabolit Bakteri Pelarut Fosfat dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai. *Jurnal Tanah Trop*, 13 (III), 233-240.
- Srikandi, F. (1992). *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Gramedia.
- Yelti, S.C., Delita, Z., Fibriarti, B.L. (2014). Formulasi Biofertilizer Cair Menggunakan Bakteri Pelarut Fosfat Indigenus Asal Tanah Gambut Riau. *Jurnal JOM FMIPA*, 1(II), 651-662.