

KEMAMPUAN PELARUTAN FOSFAT OLEH BAKTERI TERMOFILIK PADA VARIASI SUHU DAN pH

Ningtyas Yuniar Respati^{1, a)}, Evy Yulianti², Anna Rakhmawati³

¹ Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.

² Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.

³ Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.

a) tyasrespati01@gmail.com

Abstrak. Sebagian besar keberadaan fosfat dalam tanah sebagai unsur esensial bagi tanaman dalam bentuk terikat. Fosfat terikat harus diubah menjadi bentuk tersedia bagi tanaman melalui proses pelarutan dan mineralisasi yang dipengaruhi oleh bakteri pelarut fosfat. Salah satu Bakteri Pelarut Fosfat adalah bersifat termofilik yang aktivitasnya dipengaruhi oleh suhu dan pH. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui suhu dan pH yang optimal serta pengaruhnya terhadap aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri pelarut fosfat termofilik pasca erupsi Merapi. Penelitian ini dilakukan dengan menguji aktifitas pelarutan fosfat isolat bakteri termofilik D75, D92, dan D110a yang diperoleh dari kali Gendol atas pasca erupsi Merapi. Isolat yang mempunyai aktifitas pelarutan fosfat paling tinggi dilihat dari tingginya nilai kadar fosfat terlarut. Uji aktivitas pelarutan fosfat dilakukan dengan menanam 10% starter isolat bakteri ke dalam 90% medium *Pikovskaya* yang memiliki pH 5, 7, dan 9 dan diinkubasi pada suhu 45°C, 55°C, dan 65°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki kemampuan melarutkan fosfat yang berbeda-beda terhadap suhu lingkungan dan pH media. pH media *Pikovskaya* mengalami penurunan menjadi asam. Aktivitas pelarutan fosfat isolat D75 optimal pada suhu 45°C dan pH 7 dengan kadar fosfat 6,620 ppm pada jam ke-30, isolat D92 suhu 45°C dan pH 7 dengan kadar fosfat 4,638 ppm pada jam ke-39, dan isolat D110a suhu 65°C dan pH 7 dengan kadar fosfat 3,972 pada jam ke-9. Pelarutan fosfat paling baik dari ketiga isolat adalah isolat D75 pada suhu 45°C dan pH 7.

Kata kunci: bakteri temofilik dan kadar fosfat terlarut

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tanaman membutuhkan fosfat dalam jumlah besar karena fosfat merupakan unsur makro bagi 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.

Oleh karena itu, petani melakukan penambahan unsur fosfat dari luar dengan cara pemupukan. Namun, 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 melalui 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).

Salah satu Bakteri pelarut fosfat 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 pada suhu tinggi misalnya dalam proses fermentasi pada pembuatan pupuk organik.

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 dari isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi 2010 tetapi belum mengarah pada optimasi pelarutan fosfat dengan suhu dan pH tertentu.

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 optimasi pelarutan fosfat pada variasi suhu dan pH. tiga isolat terpilih bakteri pelarut fosfat dari isolat bakteri termofilik pasca erupsi merapi 2010 di uji aktivitas pelarutan fosfat pada variasi suhu dan pH.

Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui suhu dan pH yang optimal serta pengaruhnya terhadap aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri pelarut fosfat termofilik pasca erupsi Merapi.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *autoclave* (All American no.25X), botol kultur, erlenmeyer (Pyrex), gelas beker (Pyrex), *hot plate*, inkubator (EYELA SU-600N), jarum ose, kamera (Polytron), kulkas (Samsung), Laminar Air Flow (SHIMADZU), lampu spiritus, *magnetic stirrer*, mikropipet (SOCOREX), oven (UCHIDA IST-150D), tabung reaksi (Pyrex), pipet ukur, timbangan analitik (AND HF-300), sentrifus, spektrofotometer UV-VIS, labu takar, vorteks, tabung cuvet, tabung endorf, labu ukur, pH meter, pH stick, termometer, kertas payung, tisu gulung, kapas, kain kassa, kertas label, rak tabung reaksi, korek api, aluminium foil, plastik, dan plastik wrap.

Bahan yang digunakan meliputi isolat bakteri termofilik, alkohol 70%, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, NaCl, KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, glukosa, yeast ekstrak, akuades, Media *Nutrient Agar* (NA), Media *Nutrient Broth* (NB), H_2SO_4 , $(\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O})$, $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, Asam askorbat, KH_2PO_4 , larutan standar induk titrisol, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Teknik Pengumpulan Data

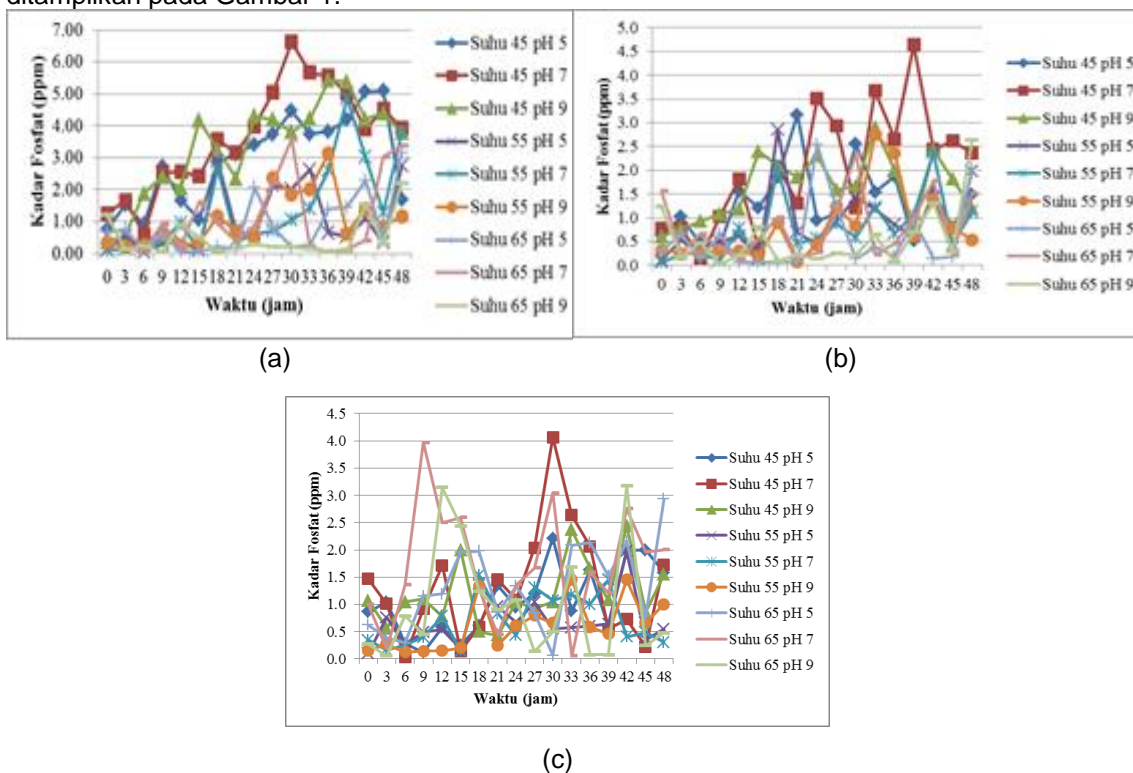
Penelitian dilakukan dengan melakukan peremajaan Isolat Bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) *plate miring* dengan metode gores yang diinkubasi pada suhu 55 °C selama 24-48 jam. Bakteri yang sudah tumbuh selanjutnya ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) yang di *shaker* pada suhu inkubasi 55 °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. Uji kemampuan BPF melarutkan P dalam media *Pikovskaya* cair menggunakan Metode Asam Askorbat. Masing-masing sampel diambil 10 ml kemudian disentrifuse. Supernatan diambil sebanyak 2 ml kemudian direaksikan dengan reagen asam askorbat sebanyak 0,5 ml. Pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 880 nm. Data hasil pengukuran dianalisis menggunakan kurva standar KH_2PO_4 .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Kurva aktivitas pelarutan fosfat isolat bakteri termofilik D75, D92, dan D110a pada media *Pikovskaya* dengan perlakuan suhu 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9 ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kadar Fosfat Isolat D75 (a), D92 (b), dan D110 (c) pada Media *Pikovskaya*

Dilihat dari kurva pelarutan fosfat isolat D75, D92, dan D110a yang ditumbuhkan pada media *Pikovskaya* dengan suhu inkubasi 45 °C, 55 °C, dan 65 °C dan variasi pH 5, 7, dan 9 memiliki aktivitas pelarutan fosfat yang berbeda-beda.

Hasil kadar fosfat terlarut isolat bakteri D75 pada suhu inkubasi 45 °C dan variasi pH 5, 7, dan 9 (Gambar 1.a) terlihat bahwa kadar fosfat tertinggi dilihat dari waktu inkubasi dan tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan isolat D75 dengan perlakuan suhu inkubasi 45 °C optimum pada pH 7 yang menghasilkan kadar fosfat sebesar 6,620 ppm pada jam ke-30. Perlakuan suhu 55 °C jika dilihat dari tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan optimal pada pH 7 dengan kadar fosfat terlarut sebesar 4,861 ppm pada jam ke-39. Jika dilihat dari cepatnya waktu inkubasi maka optimum pada pH 9 karena menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 3,139 ppm hanya dalam waktu 36 jam.

Berbeda halnya dengan kadar fosfat terlarut isolat bakteri D75 pada suhu inkubasi 65 °C dan variasi pH 5, 7, dan 9 (Gambar 1.a) jika dilihat dari tingginya kadar fosfat terlarut yang

dihasilkan optimum pada pH 7 dengan kadar fosfat sebesar 3,577 ppm dan cepatnya waktu inkubasi pada jam ke-30.

Berdasarkan cepatnya waktu inkubasi dan tingginya kadar fosfat bebas yang dihasilkan isolat bakteri termofilik D75 dengan perlakuan suhu inkubasi 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9 memiliki suhu optimal 45 °C dengan perlakuan pH 7 yang menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 6,620 ppm pada jam ke-30 (Gambar 1.a).

Isolat bakteri termofilik D92 (Gambar 1.b) dengan perlakuan suhu inkubasi 45 °C optimum pada pH 7 dilihat dari tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan sebesar 4,638 ppm pada jam ke-39. Jika dilihat dari cepatnya waktu inkubasi maka optimum pada pH 5 yang menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 3,168 ppm hanya dalam waktu 21 jam. Isolat bakteri termofilik D92 dengan perlakuan suhu inkubasi 55 °C optimum pada pH 5 dilihat dari cepatnya waktu inkubasi dan tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan sebesar 2,847 ppm pada jam ke-18. Isolat bakteri termofilik D92 dengan perlakuan suhu inkubasi 65 °C optimum pada pH 9 dilihat dari cepatnya waktu inkubasi dan tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan sebesar 2,640 ppm pada jam ke-48.

Berdasarkan tingginya kadar fosfat bebas yang dihasilkan isolat bakteri termofilik D92 dengan perlakuan suhu inkubasi 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9 memiliki suhu optimal 45 °C dengan perlakuan pH 7 yang menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 4,638 ppm pada jam ke-39.

Kurva pelarutan fosfat isolat D110a (Gambar 1.c) terlihat pada perlakuan suhu inkubasi 45 °C optimum pada pH 7 dilihat dari cepatnya waktu inkubasi dan tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan sebesar 4,068 ppm pada jam ke-30. Isolat bakteri termofilik D110a dengan perlakuan suhu inkubasi 55 °C optimum pada pH 5 dilihat dari tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan sebesar 1,979 ppm pada jam ke-42. Jika dilihat dari cepatnya waktu inkubasi maka optimum pada pH 7 yang menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 1,543 ppm hanya dalam waktu 18 jam.

Isolat bakteri termofilik D110a dengan perlakuan suhu inkubasi 65 °C optimum pada pH 7 dilihat dari cepatnya waktu inkubasi dan tingginya kadar fosfat terlarut yang dihasilkan sebesar 3,972 ppm pada jam ke-9.

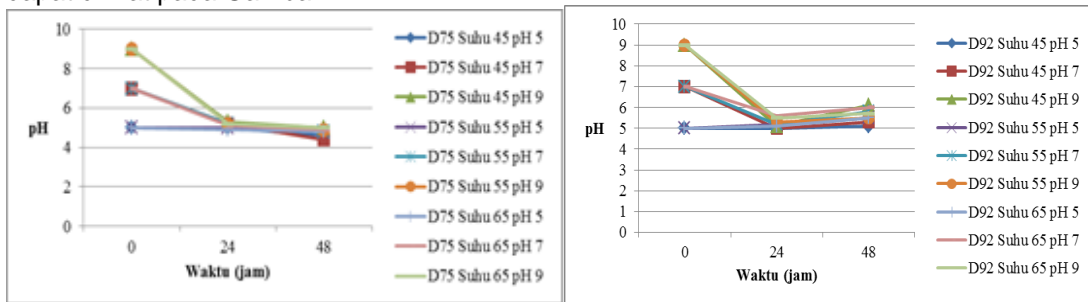
Berdasarkan tingginya kadar fosfat bebas yang dihasilkan isolat bakteri termofilik D110a dengan perlakuan suhu inkubasi 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9 memiliki suhu optimal 45 °C dengan perlakuan pH 7 yang menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 4,068 ppm pada jam ke-30. Jika dilihat dari cepatnya waktu inkubasi maka isolat bakteri termofilik D110a dengan perlakuan suhu inkubasi 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9 memiliki suhu optimal 65 °C dengan perlakuan pH 7 yang menghasilkan kadar fosfat bebas sebesar 3,972 ppm hanya dalam waktu 30 jam.

Pelarutan kadar fosfat yang dilakukan bakteri termofilik disertai perubahan pH pada media *Pikovskaya*. Pengukuran pH dilakukan pada media *Pikovskaya* yang telah diinokulasi dengan isolat bakteri termofilik D75, D92, dan D110a yang diinkubasi pada suhu 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9. Hasil pengukuran pH pada media *Pikovskaya* ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran pH pada Media *Pikovskaya*

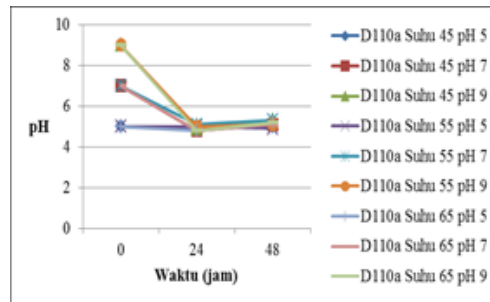
Jenis Isolat	Waktu (jam)	Suhu 45			Suhu 55			Suhu 65		
		pH 5	pH 7	pH 9	pH 5	pH 7	pH 9	pH 5	pH 7	pH 9
D75	0	5	7	9	5	7	9	5	7	9
	24	5	5.2	5.3	5	5	5.1	4.9	4.8	4.9
	48	4.6	4.4	5	5.1	5.3	6.1	5	5.1	5.3
D92	0	5	7	9	5	7	9	5	7	9
	24	5	5.2	5.2	5.2	5.2	5.3	5	5.1	5
	48	4.8	4.8	4.9	5.5	5.8	5.5	4.9	5.3	5.1
D110a	0	5	7	9	5	7	9	5	7	9
	24	4.9	5.1	5.2	5.1	5.6	5.5	4.8	4.8	4.8
	48	4.8	4.9	5	5.5	6	5.7	5.2	5.1	5.2

Berdasarkan hasil pengukuran pH media *Pikovskaya* pada isolat bakteri D75, D92, dan D110a menunjukkan penurunan dikarenakan pH pada jam ke-24 dan jam ke-48 lebih rendah daripada pH awal. Rendahnya pH membuat suasana media *Pikovskaya* menjadi semakin asam. Jika dibandingkan antara pH pada jam ke-24 dan jam ke-48 ada beberapa media pikosvkaya dengan isolat tertentu yang mengalami kenaikan pH. Media *Pikovskaya* dengan isolat D75, D92, dan D110a pada suhu inkubasi 45 °C tetap mengalami penurunan pH sampai jam ke-48, berbeda dengan media *Pikovskaya* dengan isolat D75, D92, dan D110a pada suhu inkubasi 55 °C dan 65 °C mengalami kenaikan pH pada jam ke-48. Penurunan pH dapat dilihat pada Gambar 2.



(a)

(b)



(c)

Gambar 2. Kurva Penurunan pH Media *Pikovskaya* pada Isolat Bakteri Termofilik D75 (a), D92 (b), dan D110a (c)

Hasil analisis secara statistik dilakukan dengan menggunakan analisis *Analysis of Variances* (ANOVA) dan DMRT. Hasil uji DMRT pengaruh jenis isolat, suhu inkubasi dan pH terhadap aktivitas pelarutan fosfat pada media *Pikovskaya* dapat diketahui pada Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4.

Tabel 2. Hasil Uji DMRT Pengaruh Jenis Isolat terhadap Kadar Fosfat Bebas Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi 2010 pada Media *Pikovskaya*

Jenis Isolat	Ulangan	Kadar Fosfat Bebas
D75	27	4,1070 ^a
D92	27	2,9118 ^b
D110a	27	2,6418 ^c

Keterangan: kode huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha : 0.05$)

Tabel 3. Hasil Uji DMRT Pengaruh Suhu terhadap Pelarutan Fosfat Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi 2010 pada Media *Pikovskaya*

Perlakuan Suhu	Ulangan	Kadar Fosfat Bebas
45 °C	27	4,0621 ^a
55 °C	27	2,6487 ^b
65 °C	27	2,9497 ^c

Keterangan: kode huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% (α : 0.05)

Tabel 4. Hasil Uji DMRT Pengaruh pH terhadap Pelarutan Fosfat Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi 2010 pada Media *Pikovskaya*

Perlakuan pH	Ulangan	Kadar Fosfat Bebas
5	27	2,9795 ^{ac}
7	27	3,7782 ^b
9	27	2,9029 ^{ac}

Keterangan: kode huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% (α : 0.05)

Berdasarkan analisis statistik diketahui kadar fosfat optimum dari ketiga jenis bakteri pada medium *Pikovskaya* pada perlakuan suhu 45 °C, 55 °C, dan 65 °C serta variasi pH 5, 7, dan 9 optimum pada isolat D75 perlakuan suhu 45 °C, dan pada pH 7.

PEMBAHASAN

Suhu yang optimum untuk pertumbuhan dan pelarutan fosfat bebas pada isolat D75, D92, dan D110a berbeda-beda. Hal tersebut menunjukkan bahwa masing-masing isolat D75, D92, dan D110a memiliki kemampuan adaptasi dan tumbuh yang berbeda-beda terhadap suhu lingkungan di sekitar media kultur. Isolat pada perlakuan suhu tertentu yang menyebabkan pertumbuhannya kurang optimal dapat disebabkan suhu yang terlalu rendah ataupun suhu yang terlalu tinggi. 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.

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).

Suhu untuk pelarutan fosfat yaitu 45 °C, 55 °C, dan 65 °C merupakan suhu yang mendekati titik didih sehingga menyebabkan perubahan polifosfat menjadi ortofosfat berlangsung cepat, sehingga menyebabkan ketersediaan fosfat terlarut dalam media semakin banyak. Ortofosfat merupakan bentuk fosfat yang dapat dimanfaatkan secara langsung (terlarut) sedangkan polifosfat harus terlebih dahulu mengalami hidrolisis membentuk ortofosfat. Kecepatan ini meningkat dengan menurunnya nilai pH (Effendi, 2003 dalam Sianturi, 2010).

Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum, yaitu pH dimana bakteri dapat mencapai pertumbuhan optimal. Berdasarkan analisis kurva dan statistik, pH yang optimum untuk pelarutan fosfat D75, D92, dan D110a pada medium *Pikovskaya* pada perlakuan suhu 45 °C, 55 °C, dan 65 °C dan pH 5, 7, dan 9 berbeda-beda. Hal tersebut juga menunjukkan bahwa masing-masing isolat D75, D92, dan D110a memiliki kemampuan adaptasi dan tumbuh yang berbeda-beda terhadap pH media kultur.

Kurva pelarutan fosfat isolat bakteri memiliki pola turun naik (fluktuatif). Hal tersebut disebabkan kondisi kultur yang di dalamnya terjadi pengendapan dan pelarutan kembali

terhadap fosfat organik atau anorganik yang dihasilkan, hal ini justru menunjukkan sangat efektifnya sistem penyerapan P yang terjadi untuk mendukung bioktifitasnya sehingga menyebabkan pola turun naik secara periodik atau tidak secara periodik (Suliasih dan Rahmat, 2006: 23:26; Illmer dan Schinner, 1995: 257). Perubahan konsentrasi fosfat juga diduga karena fosfat terlarut yang dihasilkan digunakan kembali oleh bakteri untuk proses metabolisme (Irawan, 2016: 75) atau sebagai sumber energi dan nutrisi (Illmer dan Schinner, 1992: 389), sehingga mengurangi konsentrasi fosfat terlarut dalam medium sebagai sumber energi.

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 2). 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).

Berdasarkan analisis statistik jenis isolat, pH, dan suhu optimal untuk pertumbuhan dan pelarutan fosfat pada media *Pikovskaya* menunjukkan bahwa untuk pelarutan fosfat jenis isolat bakteri termofilik yang paling bagus dalam melarutkan fosfat adalah isolat D75 (Tabel 2) dengan suhu inkubasi 45 °C (Tabel 3) dan pH 7 (Tabel 4).

Kemampuannya dalam melarutkan fosfat masih lebih unggul isolat D75 dibanding isolat D92 dan D110a. Hal ini dikarenakan setiap bakteri pelarut fosfat (BPF) menghasilkan jenis dan jumlah asam organik berbeda dan ada kemungkinan satu jenis BPF menghasilkan lebih dari satu jenis asam organik. Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa isolat bakteri D75 menghasilkan asam organik yang memiliki konstanta stabilitas (log K) lebih tinggi dibandingkan asam organik yang dihasilkan oleh isolat D100a dan D92 sehingga semakin tinggi konstanta stabilitas (log K) maka semakin tinggi pula kemampuan asam organik dalam melarutkan fosfat. Sebaliknya isolat D110a dan D92 menghasilkan asam organik yang mempunyai konstanta stabilitas (log K) yang lebih rendah dibanding D110a sehingga kemampuan asam organik dalam melarutkan fosfat menurun dengan menurunnya konstanta stabilitas (log K).

Urutan konstanta stabilitas (log K) menurut urutan sebagai berikut: asam sitrat > oksalat > tartar > malat > laktat > glukonat >asetat > format (Santosa, 2007: 39). Kemampuan pelarutan berdasarkan jenis asam organik yang dihasilkan misalnya asam trikarboksilik (cis-aconitik dan asam sitrat) dan asam dikarboksilik (oksalat, malonat, fumarat, dan asam tartrat) lebih efektif daripada asam mono-karboksilat (glikolat, piruvat, dan asam salisilat) dalam pelarutan fosfat. Jenis asam organik tersebut ditentukan oleh sifat genetic, fisiological, nutrisi, dan kondisi pertumbuhan kulturnya (Reyes et al., 2007: 69-75).

Kemampuan melarutkan fosfat pada isolat bakteri termofilik di media *Pikovskaya* optimal pada suhu 45 °C dengan pH awal 7. pH awal tersebut kemudian mengalami penurunan pH pada pH 7 mengalami penurunan sampai jam ke-48 menjadi 4,6.

Perubahan pH tersebut menjadi pH asam dikarenakan akumulasi asam-asam organik dari bakteri pelarut fosfat yang disekresikan untuk melarutkan fosfat pada media. pH kemudian sedikit mengalami kenaikan tetapi masih dalam kondisi pH yang asam dikarenakan asam-asam organik berikatan dengan Ca sehingga asam organik yang berada pada media menjadi berkurang.

Reaksi tersebut menjelaskan bahwa asam organik ($14H^+$) yang disekresikan bakteri pelarut fosfat membuat pH media menjadi asam, kemudian berikatan dengan $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ sehingga terjadi peristiwa hidrolisis yang menyebabkan terpisahnya Ca dari $H_2PO_4^-$, dan menghasilkan zat sisa H_2O . $H_2PO_4^-$ merupakan fosfat bebas terlarut dalam media.

Asam-asam organik yang relatif kaya akan gugus-gugus fungsional karboksil ($-COO^-$) dan hidroksil ($-OH$) yang bermuatan negatif membentuk senyawa kompleks dengan ion (kation) Ca yang disebut chelate. Asam-asam organik meng-chelate Ca, mengakibatkan fosfat terlepas dari ikatan $Ca_3(PO_4)_2$ sehingga meningkatkan kadar fosfat-terlarut dalam media. Keadaan ini akan meningkatkan ketersediaan fosfat dalam larutan media *Pikovskaya*.

Aktivitas pelarutan fosfat optimal pada pH awal 7. Jika pH diatas netral maka P menjadi kurang tersedia karena diikat oleh Ca menjadi senyawa kurang tersedia. Unsur tersebut akan tersedia kembali bila pH diturunkan. Jadi ketersediaan P sangat dipengaruhi oleh pH media. Bentuk-bentuk ion fosfat yang ada juga bergantung pada pH media dan pada media psikovkaya yang berubah menjadi media dengan kondisi masam kemungkinan besar didominasi ion $H_2PO_4^-$.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Aktivitas pelarutan fosfat pada isolat D75 dan D92 yang memiliki suhu dan pH optimal yang sama yaitu pada suhu 45 °C dan pH 7, sedangkan pada isolat D110a memiliki suhu dan pH optimal dalam melarutkan fosfat yaitu suhu 65 °C dan pH 7.

Pelarutan fosfat jenis isolat bakteri termofilik yang paling baik dalam melarutkan fosfat adalah isolat D75 dengan suhu inkubasi 45 °C dan pH 7.

Saran

Perlu dilakukan karakterisasi isolat bakteri termofilik secara molekuler untuk mengetahui penyebab perbedaan kemampuan pelarutan fosfat, diperlukan uji lanjut untuk mengetahui jenis asam organik yang dihasilkan dan dilakukan penelitian lanjutan mengenai jenis fosfat yang terlarut dalam media.

DAFTAR PUSTAKA

- Dawes, I.W., and I.W. Sutherland, *Microbial Physiology*, edited by John Wiley and Sons, (Toronto, New York, 1976).
- Evy, Yulianti and Anna, R, 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, *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*, (Raja Grafindo Persada, Jakarta, 2007), pp.292.
- Illmer. P., & F. Schiner, Solubilization of Inorganic Phosphate By Microorganisms Isolated From Forest Soil. *Journal Soil Biol and Biochem*, 24, 389-395 (1992).
- Illmer. P., & F. Schiner, Solubilization of Inorganic Calcium Phosphate-Solubilization Mechanisms. *Journal Soil Biol and Biochem*, 7, 257-263 (1995).
- Prescott, *Microbiology 1th edition*, (Mc Graw-Hill Companies, Inc, California, 2002), pp.122-126.
- Reyes, I., A. Valery., and Z. Valdúz, Phosphatase Solubilizing Microorganism Isolate from Rhizospheric and Bulk Soil of Colonizer Plants at an Abandoned Rock Phosphate Mine, edited by E. Velazquez and C. Rodriguez-Barrueco, *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*, 69-75 (2007).
- Santosa, E., dan Rohani, C.B.G, Mikroorganisme Pelarut Fosfat dalam Rasti Saraswati, Edited by Edi Husein, dan RDM Simanungkalit, *Metode Analisis Biologi Tanah*, (Balai Besar LITBANG, Bogor, 2007), pp. 39-145.
- Setiawati, T.C., dan Mihardja, P.A, Identifikasi dan Kuantifikasi Metabolit Bakteri Pelarut Fosfat dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai. *Jurnal Tanah Trop*, 13 (III), 233-240 (2008).
- Sianturi, D, Uji Kandungan Fosfat Sebagai P₂O₅ dalam Berbagai Merek Pupuk Fosfat Komersial Secara Spektrofotometri, (*Skripsi*, Universitas Sumatera Utara, 2010).
- Suliasih dan Rahmat, Aktivitas Fosfatase dan Pelarutan Kalsium Fosfat oleh Beberapa Bakteri Pelarut Fosfat. *Jurnal Biodiversitas*, 8(I), 23-26 (2006).
- Yelti, S.C., Delita, Z., Fibriarti, B.L., Formulasi Biofertilizer Cair Menggunakan Bakteri Pelarut Fosfat Indigenus Asal Tanah Gambut Riau. *Jurnal JOM FMIPA*, 1(II), 651-662 (2014).

