

## PERTUMBUHAN ISOLAT RHIZOBAKTERI PELARUT FOSFAT DARI TANAMAN PADI DI MAYONG, JEPARA PADA MEDIA LIMBAH RUMAH PEMOTONGAN HEWAN DAN AIR KELAPA

Rutty Wulandari, Agung Suprihadi, Budi Raharjo

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang, Semarang 50275 Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690  
E-mail : [ruttywulandari@yahoo.co.id](mailto:ruttywulandari@yahoo.co.id)

### Abstract

The farmers are now turning towards the use of biofertilizer. The biofertilizer is living microbes applied to the soil in order to help facilitate or provide certain nutrients for plants. Previous study found that B4 isolate has proven capable of solubilizing phosphate so that it could be used as an agent that was inoculated in biofertilizer. The fertilizer can be formulated by modifying the alternative growth media in the liquid form that has potential, which is slaughterhouse waste and coconut water. Both media contain organic matters which support the growth of bacteria. This study aimed to test the potential of slaughterhouse waste and coconut water as a medium for the growth of B4 isolate. Methods of research conducted by Randomized Block Design, in which consists of five treatments namely P<sub>1</sub> (100% coconut water), P<sub>2</sub> (25% slaughterhouse waste & 75% coconut water), P<sub>3</sub> (50% slaughterhouse waste & 50% coconut water), P<sub>4</sub> (75% slaughterhouse waste & 25% coconut water), and P<sub>5</sub> (100% slaughterhouse waste). The measured variable was the number of bacteria in the organic waste media during the 48 hours incubation period. Data on the number of bacteria was analysed by ANOVA test then continued with Duncan and LSD further tests. The results showed that P<sub>4</sub> treatment significantly different from other treatments, with the highest number of bacteria ( $1,9 \times 10^{11}$ CFU/mL) at 18 hours incubation. The density of bacterial population in the five formula medias every 3 hours during the 48 hours incubation period showed significantly different, except at 0, 3, 12, and 45 hours incubation.

Key words: biofertilizer, phosphate, slaughterhouse waste, coconut water.

### Abstrak

Para petani kini mulai beralih pada penggunaan pupuk hayati. Pupuk hayati merupakan mikroba hidup yang diberikan ke dalam tanah untuk membantu tanaman memfasilitasi atau menyediakan unsur hara tertentu bagi tanaman. Penelitian sebelumnya didapatkan isolat B4 yang telah teruji mampu melarutkan fosfat sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen yang diinokulasikan dalam pupuk hayati. Pupuk tersebut dapat diformulasi dengan memodifikasi media tumbuh alternatif berbentuk cair yang berpotensi yaitu limbah Rumah Pemotongan Hewan (RPH) dan air kelapa, yang mana memiliki kandungan bahan organik pendukung pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi limbah RPH dan air kelapa sebagai media untuk pertumbuhan isolat B4. Metode penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok, di mana terdiri dari lima perlakuan yaitu P<sub>1</sub> (100% air kelapa), P<sub>2</sub> (25% limbah RPH & 75% air kelapa), P<sub>3</sub> (50% limbah RPH & 50% air kelapa), P<sub>4</sub> (75% limbah RPH & 25% air kelapa), dan P<sub>5</sub> (100% limbah RPH). Variabel yang diukur adalah jumlah bakteri dalam media limbah organik selama masa inkubasi 48 jam. Data jumlah bakteri dianalisis dengan ANOVA kemudian uji lanjut dengan Duncan dan LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P<sub>4</sub> berbeda signifikan dengan perlakuan yang lain dengan jumlah bakteri tertinggi ( $1,9 \times 10^{11}$ CFU/mL) pada jam ke 18. Kepadatan populasi bakteri pada kelima formula media setiap 3 jam selama masa inkubasi 48 jam menunjukkan berbeda

nyata, kecuali jam ke 0, 3, 12, dan 45.

Kata kunci : pupuk hayati, fosfat, limbah rumah pemotongan hewan , air kelapa.

## Pendahuluan

Fosfat ditanah tidak bisa sepenuhnya diserap oleh tanaman, hanya 25% yang mampu diserap oleh tanaman sedangkan 75% terikat oleh Al didalam tanah. Tanaman hanya mampu menyerap fosfat dalam bentuk ion, yaitu  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^-$  dan  $PO_4$ . Pupuk anorganik telah lama dimanfaatkan oleh para petani di Indonesia, tak terlepas pula di Jepara. Marwoto dan Hasanuddin (2012) menyatakan bahwa pemakaian pupuk anorganik yang melebihi ambang batas maksimum dapat mengakibatkan kerusakan pada tanah, air, hewan, dan manusia, sehingga para petani mulai beralih pada penggunaan pupuk hayati.

Pupuk hayati merupakan mikroba hidup yang diberikan ke alam tanah sebagai inokulan untuk membantu tanaman memfasilitasi atau menyediakan unsur hara tertentu bagi tanaman (Simanungkalit, 2001). Menurut penelitian sebelumnya didapatkan tujuh isolat dari rhizosfer tanaman padi di desa Kuanyar, Mayong, Jepara yang telah teruji mampu melarutkan fosfat. Berdasarkan hal tersebut, isolat-isolat rhizobakteri memiliki potensi dalam memperbaiki pertumbuhan tanaman padi yang mengalami defisiensi unsur fosfor (Rao, 1994). Pembuatan pupuk hayati harus mempertimbangkan substansi

bahan atau media yang dikomposisikan untuk propagasi mikroba. Media propagasi ini harus mengandung komponen penting yang mendukung daya viabilitas dan pertumbuhan mikroba yang diinokulasi di dalamnya. Masyarakat mulai melakukan inovasi dalam hal membuat komposisi pupuk hayati berbahan dasar media yang berpotensi, salah satunya dengan memanfaatkan limbah bahan organik. Limbah rumah pemotongan hewan yang berbentuk cair memiliki kandungan protein, lemak, asam organik, nitrogen, dan  $NH_4-N$  (Baller et al., 1982). Tingginya kandungan bahan organik pada limbah tersebut maka limbah rumah pemotongan hewan berpotensi menjadi media tumbuh alternatif untuk isolat rhizobakteri pelarut fosfat. Air kelapa termasuk kategori limbah dan mengandung nitrogen, karbohidrat, potassium, mineral, dan beberapa vitamin (Quimio, 1984). Kedua limbah tersebut memiliki bau yang tidak enak dan dapat mencemari lingkungan akan tetapi memiliki kandungan bahan organik yang tinggi sehingga dengan mengkombinasikan kedua macam limbah organik tersebut, kemungkinan dapat digunakan sebagai media tumbuh alternatif berbentuk cair untuk isolat rhizobakteri pelarut fosfat dari *Oryza sativa* L.

## Metode Penelitian

### Pemilihan Isolat Rhizobakteri Pelarut Fosfat Tertinggi

Tujuh kultur kerja hasil isolasi rhizosfer tanaman padi di desa Kuanyar, Mayong, Jepara diinokulasikan pada medium Pikovskaya (dengan

menggunakan metode difusi cakram kertas) yang telah disiapkan terlebih dahulu dan dituangkan ke dalam cawan petri seril serta dibiarkan hingga memadat. Masing-masing kultur kerja diambil sebanyak 1 ose dan dilarutkan dalam 10 mL akuades steril hingga menjadi suspensi dengan

menggunakan vortex. Selanjutnya suspensi di masukkan ke dalam cawan petri steril tanpa medium yang di dalamnya telah berisi kertas saring steril untuk mengikat inokulum (Rao, 1982). Kertas saring dipindahkan kedalam cawan petri yang berisi medium Pikovskaya yang telah memadat, diinkubasikan pada suhu kamar kurang lebih 27°C selama 3-7 hari (Rao, 1982). Zona bening yang terbentuk pada masing-masing isolat dihitung indeks pelarutan fosfatnya. Hasil isolat bakteri pelarut fosfat yang memiliki indeks pelarutan fosfat paling tinggi selanjutnya dilakukan karakterisasi dan diinokulasikan kedalam formula media limbah. Indeks Pelarutan Fosfat dihitung menggunakan rumus (Rao, 1982) :

$$IP; \frac{A - B}{A}$$

Keterangan :

A : Diameter Zona bening

B : Diameter Koloni

IP : Indeks Pelarutan Fosfat

Karakterisasi Isolat Pelarut Fosfat Tertinggi

a. Uji Pengecatan Spora

Uji pengecatan spora dilakukan dengan cara meneteskan Klein A (Carbolfuchsin), Klein B (Asam sulfat), dan Klein C (Methylen biru 1%) pada sampel (kultur umur 72 jam) dengan waktu yang berbeda pada masing-masing Klein (Hadieutomo, 1985).

b. Uji Hidrolisis Protein

Uji hidrolisis protein dilakukan dengan cara menginokulasikan sampel pada medium Skim Milk Agar dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2-4 hari dan diamati adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni (Fardiaz, 1989).

c. Uji Hidrolisis Lemak

Uji hidrolisis lemak dilakukan dengan menginokulasikan sampel pada medium

NA+margarin 1%+phenol red dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam serta amati warna merah yang terbentuk pada bagian bawah koloni (Widyastuti, 2011).

d. Uji Reduksi Nitrat

Uji reduksi Nitrat dilakukan dengan cara menginokulasikan sampel pada medium NB+KNO<sub>3</sub> dan diinkubasi selama 24-48 jam. Suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 30.000 dan diambil supernatannya sebanyak 5mL. Supernatan ditambahkan dengan reagen sulfanilic acid dan diamati adanya perubahan warna supernatan (Hadieutomo, 1985).

Penentuan Kadar Protein Kasar Pada Limbah Rumah Pemotongan Hewan dan air kelapa (Metode Kjeldahl)

Sampel dimasukkan kedalam labu Kjeldahl, lalu ditambahkan dengan 1 gram CuSO<sub>4</sub> dan 2,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Sampel didestruksi selama 2 jam pada suhu 100°C. Hasil destruksi didinginkan lalu dimasukkan kedalam labu bulat yang telah diberi batu didih dan ditambah dengan 50 ml aquades serta 15mL NaOH 50% w/v dan dilakukan distilasi. Distilat ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 10mL HCl 0,02 N, 4 tetes metil merah dan 4 tetes metilen biru hingga volume total mencapai 40 mL. Larutan dalam erlenmeyer dititrasi dengan larutan NaOH yang telah distandarisasi dengan larutan H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 0,02 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi hijau. Volume NaOH yang digunakan untuk titrasi dicatat (Horwitz, 2000).

Penentuan Kadar Karbohidrat Pada Limbah Rumah Pemotongan Hewan dan Air Kelapa (Metode Cleg-Anthrone)

Sampel ditimbang 2,5 gram dan dipindahkan secara kuantitatif kedalam gelas ukur 100 mL bertutup. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL aquades dan aduk dengan menggunakan gelas pengaduk untuk mendispersikan sampel seluruhnya. Sampel ditambahkan 13 mL asam perklorat 52% dan diaduk dengan gelas pengaduk selama kurang lebih 20 menit. Gelas pengaduk dicuci diatas larutan (air cucian masuk kedalam larutan) dan larutan diencerkan menjadi 100 mL. Larutan dicampur merata, disaring dan dimasukkan kedalam labu takar 250 mL. Gelas ukur dicuci dengan aquades dan masukkan ke labu takar hingga tepat sampai tanda tera serta dikocok (Apriantono, 1989).

Ekstrak sampel 10 mL diencerkan hingga 100 mL dengan aquades. Sampel diambil 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Blanko dibuat dengan memasukkan 1 mL aquades kedalam tabung reaksi dan memasukkan 5 mL pereaksi Anthrone kedalam masing-masing tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup dan di campur merata serta di panaskan dengan penangas air 100°C selama 12 menit. Larutan dipindahkan kedalam kuvet dan dibaca absorbansi pada 630 nm (Apriantono, 1989). Kadar karbohidrat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Total Available Carbohydrate} = \frac{25 \times b}{a \times W}$$

Keterangan : W : berat sampel (gram)  
a : absorban glukosa standar  
b : absorban sampel

**Pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat Terpilih Pada Formula Media Limbah Rumah Pemotongan Hewan dan Air Kelapa**

Limbah organik yang digunakan berupa limbah cair dari limbah Rumah

Pemotongan Hewan (RPH) dan air kelapa. Kedua limbah tersebut dilakukan formulasi terhadap komposisi tiap jenisnya. Komposisinya yaitu dengan perbandingan keduanya masing-masing LRPH (Limbah Rumah Pemotongan Hewan) : 100% AK (Air Kelapa)(P1), 25% LRPH : 75% AK(P2), 50% LRPH : 50% AK(P3), 75% LRPH : 25% AK(P4), 100% LRPH : 0 AK (P5) dan kontrol (Media Luria Broth) (P0). Limbah RPH dididihkan terlebih dahulu dengan pengadukan secara terus-menerus sebelum dicampurkan dengan air kelapa. Media limbah organik yang telah diformulasi diatur pHnya dengan penambahan HCl dan NaOH hingga netral kemudian disterilkan pada autoklaf (Rustam, 2009).

Isolat terpilih yang sebelumnya telah ditumbuhkan pada Media NB selama masa inkubasi 9 jam, diinokulasikan kedalam media limbah yang telah diformulasi secara terpisah dan aseptis dengan ketentuan 50:1 yaitu tiap 1 mL inokulum bakteri pada 50 mL media limbah. Sediaan diinkubasi pada rotary shaker dengan kecepatan 150 rpm. Pertumbuhan isolat pada masing-masing media yang telah diformulasi diamati dengan mengukur populasi isolat dan pH kultur setiap 3 jam (Rustam, 2009).

**Pengukuran Total Populasi Bakteri**  
Penghitungan populasi bakteri dilakukan dengan metode Total Plate Count (TPC).

Jumlah bakteri per mL dapat ditentukan dengan menghitung koloni yang tumbuh dari masing-masing pengenceran. Penentuan jumlah bakteri per mL dengan menggunakan rumus :

Jumlah bakteri per mL sampel =  
jumlah koloni x faktor pengenceran  
(Fardiaz, 1989).

### Pengujian Aktivitas Pelarutan Fosfat Isolat

Isolat yang diinokulasikan pada media limbah yang telah diformulasi di uji aktivitasnya dalam melarutkan fosfat selama masa inkubasi 48 jam sebanyak 2 kali pada jam ke 0 dan 48 jam dengan menggunakan metode difusi cakram kertas. Isolat yang telah diketahui jumlah populasinya diambil sebanyak 1 ose dan dilarutkan dalam 10 mL akuades steril hingga menjadi suspensi dengan menggunakan vortex. Selanjutnya suspensi di masukkan ke dalam cawan petri steril tanpa

medium yang didalamnya telah berisi kertas saring steril untuk mengikat inokulum (Rao, 1982). Kertas saring dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi medium Pikovskaya yang telah memadat, diinkubasikan pada suhu kamar kurang lebih 27°C selama 3-7 hari (Rao, 1982). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan faktor kombinasi konsentrasi limbah rumah pemotongan hewan dan air kelapa sebagai perlakuan dengan 3 kali pengulangan setiap perlakuan. Data pertumbuhan bakteri diuji normalitas dan homogenitasnya dengan software SPSS versi 20 dan dilanjutkan dengan uji ANOVA. Uji lanjut (uji beda) ditentukan dengan uji Duncan dan uji LSD (Hanafiah, 2000).

### Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil penapisan bakteri pelarut fosfat pada tanah sawah di desa Kuanyar, kecamatan Mayong, kabupaten Jepara didapatkan tujuh isolat yang mampu melarutkan fosfat. Tujuh isolat tersebut dipilih yang mampu melarutkan fosfat tertinggi

sebagai inokulum pada formula media limbah RPH dan air kelapa. Isolat yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat paling tinggi dibuktikan dengan nilai Indeks Pelarutan Fosfat yang paling tinggi pula.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Indeks Pelarutan Fosfat dari Ketujuh Isolat Rhizobakteri Pelarut Fosfat

Isolat	Diameter zona bening	Diameter koloni	Indeks pelarut fosfat
B4	2,7	2,3	0,15
B9	2,3	2,0	0,13
A1	2,4	2,2	0,08
A14	2,5	2,3	0,08
A5	2,7	2,5	0,07
A7	2,7	2,5	0,07
A9	2,7	2,6	0,04

Berdasarkan hasil pengukuran indeks pelarutan fosfat dari ketujuh isolat bakteri pelarut fosfat (Tabel 1.),

didapatkan isolat B4 yang mampu menghasilkan Indeks Pelarutan Fosfat paling tinggi sehingga diindikasikan

memiliki kemampuan melarutkan fosfat paling tinggi. Hal ini berarti isolat tersebut memiliki potensi yang lebih tinggi untuk melarutkan fosfat dibandingkan dengan isolat yang lain sehingga isolat tersebut yang dipilih untuk langkah berikutnya yaitu karakterisasi dan aplikasi pada formula media limbah RPH dan air kelapa.

Isolat rhizobakteri yang mampu melarutkan fosfat paling tinggi adalah isolat B4. Isolat B4 telah dilakukan karakterisasi pada penelitian sebelumnya. Hasil karakterisasi isolat B4 yaitu koloni berbentuk bulat dengan tepian tidak beraturan, elevasi datar, dan berwarna putih krem, sel berbentuk batang dan bersifat gram positif, bersidat anaerob fakultatif dan motil. Berdasarkan uji biokimia, isolat mampu menghidrolisis pati, mampu memfermentasi glukosa, mampu memproduksi indol, mampu memproduksi katalase.

Berdasarkan karakteristik genus *Bacillus* menurut Holt et al. (1994), isolat B4 mengarah ke genus *Bacillus* akan tetapi masih membutuhkan uji

biokimia yang lain. uji lanjutannya adalah pewarnaan spora dan uji reduksi nitrat, serta membutuhkan uji hidrolisis protein dan lemak.

Hasil pewarnaan spora menunjukkan bahwa isolat B4 membentuk spora yang berbentuk oval dan terletak di bagian tengah. Isolat B4 mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis protein. Hal ini terlihat dari terbentuknya areal bening di sekeliling koloni karena isolat B4 mampu memecah kasein media Skim Milk Agar. Isolat B4 juga tidak mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Hal ini terlihat dari tidak terbentuknya warna merah pada bagian bawah koloni. Isolat B4 mampu mereduksi nitrat terlihat dari terbentuknya warna merah pada media NB+1% KNO<sub>3</sub> setelah ditetesi reagen sulfanilic acid.

Formula media limbah RPH dan air kelapa dilakukan pengukuran protein dan karbohidrat yang bertujuan untuk mengetahui kandungan nutrisi pada masing-masing formula yang menunjang laju pertumbuhan isolat B4 pada perlakuan (Tabel 2.).

Tabel 2. Hasil pengukuran protein dan karbohidrat pada masing-masing perlakuan

No	Perlakuan	Protein (%)	Karbohidrat (%)
1.	LRPH : AK = 50% : 50% (P <sub>2</sub> )	0,67	2,56
2.	LRPH : AK = 25% : 75% (P <sub>3</sub> )	0,92	3,60
3.	LRPH : AK = 75% : 25% (P <sub>4</sub> )	1,56	2,10

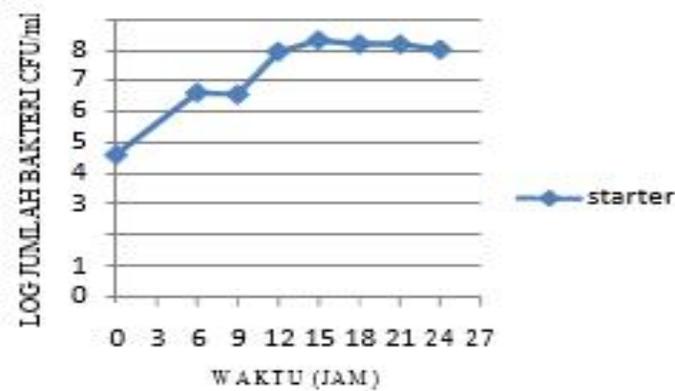
Isolat B4 sebelum diinokulasikan ke dalam formula media limbah dibuat kurva pertumbuhan untuk menentukan fase midlog karena ketika fase tersebut kecepatan laju pertumbuhan tinggi. Pengamatan selama preparasi tersebut menunjukkan bahwa isolat B4 mencapai fase midlog pada jam ke 9 yaitu  $3,8 \times 10^6$  CFU/ml sehingga isolat

B4 dengan masa inkubasi 9 jam diinokulasikan pada masing-masing perlakuan yang sebelumnya telah diaktivasi terlebih dahulu pada media NB (Gambar 1.)

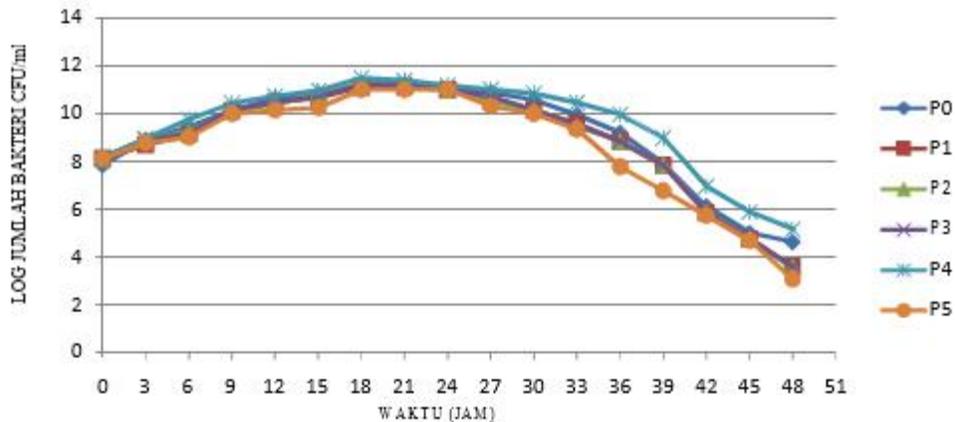
Pengamatan jumlah bakteri pada jam ke 0 menunjukkan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata (Gambar 2.). hal ini dikarenakan jumlah populasi bakteri awal yang diinokulasikan pada

masing-masing perlakuan sehingga relatif sama. Keunggulan suatu produk pupuk hayati ditentukan oleh jumlah populasi, viabilitas mikroba dalam kurun waktu tertentu, dan efikasinya pada tanaman di lapangan (Husen, 2001). P<sub>3</sub> dan P<sub>4</sub> mengalami puncak fase log pada jam ke 18 sebesar 1,5x10<sup>11</sup> CFU/ml dan 1,9x10<sup>5</sup> CFU/ml, sedangkan P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, dan P<sub>5</sub> mengalami puncak fase log pada jam ke 21 dengan log jumlah bakteri yaitu

1,4x10<sup>11</sup> CFU/ml, 1,15x10<sup>11</sup> CFU/ml, 1,2x10<sup>11</sup> CFU/ml, dan sebesar 1,07x10<sup>11</sup> CFU/ml sehingga P<sub>4</sub> memiliki jumlah bakteri yang lebih tinggi dengan waktu yang lebih singkat. Berdasarkan hal tersebut P<sub>4</sub> lebih optimal sebagai pupuk ayati dan memenuhi syarat teknis jumlah populasi mikroba pada pupuk hayati tunggal, yaitu >10<sup>8</sup> CFU/ml (Husen, 2001).



Gambar 1. Kurva perumbuhan isolat B4 pada media NB selama masa inkubasi 24 jam



Gambar 3. Kurva pertumbuhan isolat B4 pada masing-masing formula media selama masa inkubasi 48 jam

Secara keseluruhan P<sub>5</sub> memiliki jumlah bakteri paling rendah diantara yang lainnya dan kontrol. Hal ini dikarenakan P<sub>5</sub> hanya terdiri dari limbah RPH tanpa adanya air kelapa sehingga kandungan protein tinggi

dan kandungan karbohidrat tidak ada. Menurut Baller et al. (1982) menunjukkan bahwa kandungan protein pada Limbah Rumah Potong Hewan yang berupa darah adalah 680-790 g/kg dan tidak

memiliki kandungan karbohidrat. Kandungan protein yang terlalu tinggi menyebabkan meningkatkan emisi dari nitrogen yang dapat menghalangi perkembangbiakan bakteri. Kontrol (Luria Bertani) lebih mampu menunjang pertumbuhan isolat B4 karena kontrol terdiri dari NaCl, Yeast ekstrak, dan tripton yang merupakan sumber nutrisi yang optimal untuk pertumbuhan bakteri. Umumnya bakteri membutuhkan air (Available Water) yang lebih banyak dari kapang dan ragi. Sebagian besar dari bakteri dapat tumbuh dengan baik pada aw mendekati 1,00. Ini berarti bakteri dapat tumbuh dengan baik dalam konsentrasi gula dan garam yang rendah kecuali bakteri-bakteri yang memiliki toleransi terhadap konsentrasi gula dan garam yang tinggi. Media untuk sebagian besar bakteri mengandung gula tidak lebih dari 1% dan garam tidak lebih dari 0,85% (larutan garam fisiologis). Konsentrasi gula 3%-4% dan garam 1-2% dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri (Muchtadi, 1989).

Pengamatan pada P<sub>4</sub> (25% air kelapa : 75% LRPH) memiliki jumlah bakteri yang tinggi dibandingkan dengan kontrol dan formula media yang lain karena memiliki kandungan protein yaitu 1,56% dan kandungan karbohidrat yaitu 2,10% sehingga ratio C/N yang dihasilkan rendah dibandingkan dengan formula media yang lain yaitu 1,35. Menurut Goldman et al. (1987) menyatakan bahwa kultur bakteri mampu hidup dengan adanya sumber C dan N, dimana rentang rasio C/N antara 1,3-1,0 (tergantung spesies masing-masing). Rasio C/N yang rendah akan meningkatkan laju pertumbuhan bakteri (Touraties, et al., 1999).

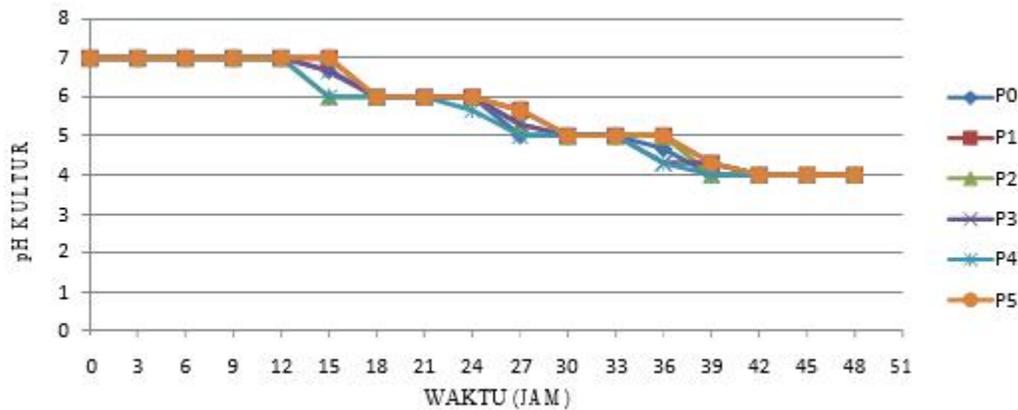
Media P<sub>3</sub> (50% air kelapa : 50% LRPH) dan media P<sub>2</sub> (75% air kelapa : 25% LRPH) memiliki jumlah bakteri cenderung lebih rendah daripada kontrol. Hal ini dikarenakan media P<sub>3</sub> memiliki kandungan protein yaitu 0,67% dan kandungan karbohidrat yaitu 2,56% sehingga ratio C/N yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan media P<sub>4</sub> yaitu 3,82. Media P<sub>2</sub> memiliki kandungan protein yaitu 0,92% dan kandungan karbohidrat yaitu 3,60% sehingga ratio C/N yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan media P<sub>3</sub> dan media P<sub>4</sub> ratio C/N yang tinggi menunjang fungsi untuk tumbuh, sedangkan C/N yang rendah menunjang bakteri untuk tumbuh (Rousk et al., 2007).

Media P<sub>1</sub> juga memiliki jumlah bakteri cenderung lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, dimana kandungan proteinnya sangat sedikit karena tidak terdapatnya konsentrasi limbah Rumah Potong Hewan sama sekali. Menurut Quimio (1984) kandungan protein air kelapa hanya 0,1% dan kandungan karbohidrat 4%. Kadar karbohidrat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah 3-4% (Muchtadi, 1989). Keadaan ini sangat mengganggu berbagai reaksi biologis dan kimiawi dalam sel sehingga berdampak dengan laju pertumbuhan yang tidak optimal karena memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi yaitu 4%. Menurut Brock & Madigan (1991) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah faktor nutrisi dan faktor fisik. Faktor fisik meliputi pH, suhu, potensial reduksi-oksidasi, dan tekanan osmotik. pH medium biakan juga mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, untuk pertumbuhan bakteri juga terdapat rentang pH yang optimal untuk

pertumbuhan.

Pengamatan pertumbuhan isolat B4 pada masing-masing formula media juga diikuti dengan pengukuran pH setiap pengambilan sampel yaitu setiap 3 jam selama masa inkubasi 48 jam. Berdasarkan Gambar 3. Menunjukkan bahwa pH masing-masing perlakuan semakin lama masa inkubasi semakin menurun atau bersifat semakin asam. Selama pertumbuhan

bakteri, pH medium akan berubah akibat produk-produk metabolisme yang dihasilkan oleh bakteri (Brock & Madigan, 1991). Isolat B4 mengeluarkan asam-asam organik selama pertumbuhan sehingga pH medium semakin menurun. Isolat B4 pada kelima formula media memiliki proses metabolisme yang sama hal ini dibuktikan dengan penurunan pola pH yang sama pula



Gambar 3. Rata-rata hasil pengukuran pH tiap 3 jam selama 48 jam [ada masing-masing perlakuan sebanyak 3 kali pengulangan

Isolat B4 memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat. Pengukuran aktivitas pelarut fosfat dilakukan sebanyak 2 kali selama masa inkubasi 48 jam pada masing-masing perlakuan. Pengukuran dilakukan jam ke 0 dan 48 dengan cara menginokulasikan isolat pada medium Pikovskaya (Tabel 3.). Zona bening yang dihasilkan mengindikasikan bahwa isolat tetap memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat ketika berada pada formula media limbah. Mikroba pelarut fosfat dalam aktivitasnya akan membebaskan sejumlah asam organik, seperti asam sitrat, glutamat, suksinat, laktat, oksalat, glioksalat, malat, fumarat, tartarat, dan asam alfaketo butirrat (Rao,

1982). Secara keseluruhan aktivitas pelarutan fosfat pada masing-masing perlakuan mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan jumlah bakteri yang semakin menurun pada jam ke 48 sehingga asam organik yang dihasilkan juga menurun.

Tabel 3. Rata-rata hasil pengukuran indeks pelarutan fosfa pada masing-masing perlakuan sebanyak 3 kali pengulangan

Waktu	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>
0	0,38	0,39	0,37	0,39	0,37
48	0,22	0,20	0,23	0,22	0,22

Tan (1982) menjelaskan bahwa meningkatkan asam organik tersebut biasanya diikuti dengan penurunan

pH yang tajam sehingga berakibat terjadinya pelarutan fosfat. Kelima formula media mengalami penurunan pH sehingga asam organik yang dihalkan pun meningkat. Asam organik yang meningkat menyebabkan indeks pelarutan fosfat pada jam ke 0 dan 48 hampir sama.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa isolat B4 mampu tumbuh pada kelima formula media limbah Rumah Pematangan Hewan dan air kelapa. Formula media P<sub>4</sub> yang merupakan kombinasi antara limbah RPH 75% dan Air Kelapa 25% mampu menunjang pertumbuhan isolat B4 sebesar  $1,9 \times 10^{11}$  CFU/ml yang optimal dibanding kontrol dan formula media yang lain.

### Daftar Pustaka

- Apriantono, A. 1989. Analisis Pangan. IPB Press. Bandung.
- Baller, G, Bethke, U, & Wiemer, H. J. 1982. The Situation Regarding The Possibilities of Water Utilization in The Food Industry "Gurke III". Schlachthoefe. Bureau.
- Brock, T.D. & M.T. Madigan. 1991. Biology of Microorganism 6<sup>th</sup> Ed. Prentice Hall. New Jersey.
- Fardiaz S. 1989. Mikrobiologi Pangan Penuntun Praktek Laboratorium. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Goldman, J. C & M. Dennet. 1987. Regulation of Gross Growth Efficiency and Ammonium Regeneration in Bacteria by Substrate C : N Ratio. Limnol Oceanogr. 32(6) : 1239-1252.
- Hadioetomo RS. 1985. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Jakarta: PT Gramedia.
- Hanafiah, K.A. 2000. Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Holt, J.G. et al,. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition. A Waverly Company. USA. Horwitz, William. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International 17th ed. AOAC International. Gaithersburg.
- Husen, E. 2001. Kajian Sistem Kendali Mutu Pupuk Hayati Pra-Komersialisasi. Balai Besar Litbang Sumber Daya Lahan Pertanian. Bogor.
- Marwoto dan Hasanuddin. 2012. Prospek Penggunaan Mikroba Antagonis Sebagai Pengandali Hayati Penyakit Utama Pada Tanaman Hias dan Sayuran. Jurnal Litbang Pertanian. 31(1) : 12-20.
- Muchtadi, D. 1989. Petunjuk Laboratorium Evaluasi Nilai Gizi Pangan. IPB. Bogor.
- Quimio, T.H. 1984. Coconut Water as A Growth Medium for Edible and Pathogenic Fungi. The Philippine Agriculturist. 67(1) : 1-8.
- Rao, N.S. 1982. Biofertilizer in Agriculture. IBH Publishing Co. New Delhi.
- \_\_\_\_\_. 1994. Soil Microorganism and Plant Growth. Oxford and IBH Publishing Co. London.
- Rousk, J & E. Baath. 2007. Fungal and Bacterial Growth in Soil with Plant Materials of Different C/N Ratios. Federation of European Microbiological. 5(62) : 258-267.
- Rustam et al. 2009. Kajian Pembiakan Bakteri Kitinolitik *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. Pada Limbah Organik

- Dan Formulasinya Sebagai Pesticida Hayati (Bio- Peptide). Jurnal Litbag Pertanian. 17(3) : 849-858.
- Simanungkalit, R.D.M. Aplikasi Pupuk Hayati dan Pupuk Kimia: Suatu Pendekatan Terpadu. Buletin AgroBio. 4 (2): 56-61.
- Tan, K. H. 1982. Principles of Soil Chemistry. Marcel Decker Inc. New York.
- Touraties, F & L. Legendre. 1999. Model of Bacterial Growth Influenced by Substrate C:N Ratio and Concentration. Aquatic Microbial Ecology. 2(19) : 105-118.
- Widhyastuti, H,. 2011. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Fermentasi Tradisional Cincalok dan Tempoyak. Universitas Tanjungpura. Pontianak.