

Viabilitas Rhizobakteri *Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3 pada Media Pembawa Tanah Gambut Disubstitusi dengan Padatan Limbah Cair Industri Rokok

Lailia Noviana dan Budi Raharjo

Laboratorium Mikrobiogenetika Jurusan Biologi FMIPA Undip
nefyn_alqudsy@yahoo.com

Abstrak

Pemotongan subsidi pupuk oleh pemerintah Indonesia membuat petani mencari alternatif pupuk yang relatif lebih murah yaitu pupuk hayati. Pupuk hayati merupakan pupuk yang diinokulasi dengan mikroba yang bermanfaat bagi tanaman. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3 telah terbukti dapat melarutkan fosfat, yang berperan dalam pertumbuhan tanaman, sehingga bakteri ini dapat dimanfaatkan sebagai agen yang diinokulasikan dalam pupuk hayati. Pupuk ini dapat diformulasi dengan memodifikasi media pembawa yang berpotensi yaitu tanah gambut dan padatan limbah cair industri rokok, yang mana memiliki kandungan bahan organik pendukung viabilitas bakteri tersebut. Penelitian ini bertujuan mengetahui viabilitas bakteri pada media pembawa dan formula yang efektif sebagai dasar pembuatan pupuk hayati. Metode penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap, di mana terdiri dari lima perlakuan yaitu F1 (100% tanah gambut), F2 (75% tanah gambut & 25% padatan limbah), F3 (50% tanah gambut & 50% padatan limbah), F4 (25% tanah gambut & 75% padatan limbah), dan F5 (100% padatan limbah). Variabel yang diukur adalah jumlah populasi bakteri per gram dalam media pembawa selama masa penyimpanan 30 hari. Hasil penelitian dianalisis variansinya dengan ANOVA kemudian uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan F5 pada T1 (masa penyimpanan 10 hari), berbeda signifikan dengan perlakuan yang lain dengan viabilitas bakteri tertinggi (2.30×10^{11} CFU). Viabilitas bakteri pada akhir masa penyimpanan tidak berbeda signifikan pada kelima perlakuan, dan jumlah bakteri memenuhi jumlah minimum inokulan yang harus ada dalam media pembawa sebelum digunakan ke lapangan.

Kata kunci : Pupuk hayati, *Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3., Tanah gambut, padatan limbah cair industri rokok

PENDAHULUAN

Pencabutan subsidi pupuk mengakibatkan naiknya harga pupuk, sehingga petani mencari pupuk alternatif yaitu pupuk hayati (Simanungkalit, 2001).

Pupuk hayati ini berasal dari bahan-bahan organik yang diinokulasi dengan mikroba yang dapat mengolah bahan-bahan organik menjadi bahan anorganik yang berguna bagi tanaman.

Penelitian terdahulu telah mendapatkan isolat genus *Bacillus* yang teruji dapat melarutkan fosfat (Raharjo, 2004). Berdasarkan alasan tersebut, isolat *Bacillus* ini mempunyai potensi dalam memperbaiki tanaman budidaya yang mengalami defisiensi fosfor (Rao, 1994),

Pembuatan pupuk hayati harus mempertimbangkan substansi bahan atau media yang dikomposisikan. Media atau bahan pembawa ini harus mengandung komponen penting yang mendukung daya viabilitas dan pertumbuhan mikroba yang diinokulasi ke dalamnya. Tanah

gambut merupakan bahan pembawa yang telah umum digunakan sebagai media pembawa pada pembuatan pupuk hayati karena mengandung serasah organik yang tinggi (Ambak & Melling, 2000).

Inovasi dalam pengkomposisian pupuk hayati berbahan dasar media yang berpotensi terus dilakukan hingga saat ini. Padatan limbah cair industri rokok PT. Djarum yang dihasilkan dari Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) mengandung unsur hara organik berupa nitrogen, karbon organik, fosfor, kalium dan unsur hara lainnya (Anonim, 2008). Unsur tersebut dapat diproses oleh mikroba menjadi bahan anorganik yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Hal ini menjelaskan bahwa padatan limbah cair rokok mempunyai potensi sebagai media substitusi dari tanah gambut yang akan diaplikasikan pada tanah yang miskin fosfat terlarut.

Berbeda dengan tanah gambut, meskipun padatan limbah cair industri rokok mengandung

bahan organik, di sisi lain juga mengandung bahan-bahan yang belum diketahui tingkat bahayanya terhadap pertumbuhan bakteri ini. Oleh karena itu perlu dilakukan uji kemampuan (viabilitas) bakteri tersebut di dalam media pembawa ini.

Pupuk Hayati

Pupuk hayati merupakan mikroba hidup yang diberikan ke dalam tanah sebagai inokulan untuk membantu tanaman memfasilitasi atau menyediakan unsur hara tertentu bagi tanaman. Oleh karena itu, pupuk hayati sering juga disebut pupuk mikrob. Setidak-tidaknya ada tiga faktor yang mendorong meningkatnya perhatian terhadap aplikasi pupuk hayati di Indonesia akhir-akhir ini, yaitu krisis ekonomi yang terjadi pada tahun 1997, pencabutan subsidi pupuk oleh pemerintah pada tahun 1998, dan timbulnya kesadaran terhadap potensi pencemaran lingkungan melalui penggunaan pupuk kimia yang berlebihan dan tidak efisien (Fadinap dalam Simanungkalit, 2001).

Negara Indonesia sendiri telah menggunakan pupuk hayati dalam bentuk inokulan bakteri bintil akar untuk menginokulasi kedelai dalam skala besar pada tahun 1981 di daerah-daerah transmigrasi (Jutono dalam Simanungkalit, 2001). Padahal pembuatan inokulan skala laboratorium telah dimulai pada tahun 1938 di *Plantkundige* Institut dan Laboratorium Treub di Bogor. Jamur mikoriza adalah sekelompok jamur tanah yang diketahui dapat berfungsi sebagai pupuk hayati. Sekalipun keberadaan jamur mikoriza sudah diketahui lebih dari 100 tahun yang lalu, namun penggunaannya sebagai pupuk hayati mungkin baru mulai sejak Mosse pada tahun 1957 mengetahui peran jamur mikoriza dalam penyerapan fosfor oleh tanaman (Simanungkalit, 2001).

Secara tradisional dikenal dua tipe inokulan rhizobia, yaitu inokulan yang mengandung satu strain (strain tunggal) dan yang multistrain (strain ganda). Inokulan multistrain mengandung strain-strain dari dua kelompok inokulan seperti strain dari clover dicampur dengan media atau suatu campuran strain yang berasal dari satu kelompok (Roughley dalam Simanungkalit, 2001). Sekarang ini dikenal juga inokulan yang mengandung campuran dua atau lebih spesies dengan fungsi

yang sama atau berbeda (Tabel 2.1.). Inokulan yang mengandung dua atau lebih spesies pupuk hayati dengan fungsi yang berbeda disebut pupuk hayati majemuk (Simanungkalit & Saraswati dalam Simanungkalit, 2001). Adapun contoh dari pupuk semacam ini adalah Rhizo-plus yang mengandung bakteri penambat nitrogen (*Bradyrhizobium* dan *Sinorhizobium*) dan bakteri pelarut fosfat, *Bacillus* dan *Micrococcus* (Simanungkalit, 2001).

Tanah Gambut

Lahan gambut merupakan deposit karbon, seperti halnya minyak bumi dan batubara. Jika dipelajari proses evolusi pembentukannya, deposit batubara senantiasa dimulai dari proses pembentukan gambut (*peat*) terlebih dahulu, kemudian deposit gambut mengalami deposisi bahan baru di atas gambut dan gambut selanjutnya mengalami kompresi membentuk batubara muda (*lignite*) dan kompresi lanjut dari batubara muda ini akan membentuk batubara/*ant rachite* (Mulyanto, 2002).

Lahan gambut merupakan suatu ekosistem yang unik dan rapuh, karena lahan ini berada dalam suatu lingkungan rawa, yang terletak di belakang tanggul sungai (*backswamp*). Oleh karena dalam lingkungan rawa, maka lahan ini senantiasa tergenang dan tanah yang terbentuk pada umumnya merupakan tanah yang belum mengalami perkembangan, seperti tanah-tanah aluvial (*Entisols*) dan tanah-tanah yang berkembang dari tumpukan bahan organik, yang lebih dikenal sebagai tanah gambut atau tanah organik atau *Histosols* (Mulyanto, 2002).

Gambut terbentuk dari serasah organik yang terdekomposisi secara anaerobik dimana laju penambahan bahan organik lebih tinggi daripada laju dekomposisinya. Gambut tropis umumnya berwarna coklat kemerahan hingga coklat tua (gelap) tergantung tahapan dekomposisinya. Kandungan air yang tinggi dan kapasitas memegang air 15-30 kali dari berat kering, rendahnya *bulk density* (0.05-0,4 g/cm³) dan porositas total diantara 75-95% menyebabkan terbatasnya penggunaan mesin-mesin pertanian dan pemilihan komoditas yang akan diusahakan (Ambak & Melling, 2000).

Ketebalan horison organik, sifat *subsoil* dan frekuensi luapan air sungai mempengaruhi

komposisi kimia gambut. Pada tanah gambut yang sering mendapat luapan, semakin banyak kandungan mineral tanah sehingga relatif lebih subur. Tanah gambut tropis mempunyai kandungan mineral yang rendah dengan kandungan bahan organik lebih dari 90%. Menurut Andriesse (1988) secara kimiawi gambut bereaksi masam (pH di bawah 4). Gambut dangkal pH lebih tinggi (4,0-5,1), gambut dalam (3,1-3,9). Kandungan N total tinggi tetapi tidak tersedia bagi tanaman karena rasio C/N yang tinggi. Kandungan unsur mikro khususnya Cu, B dan Zn sangat rendah (Subagyo, dkk., 1996).

***Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3**

Menurut Raharjo (2004) bakteri secara makroskopis membentuk koloni berwarna putih krem, secara mikroskopis sel berbentuk batang dan tersusun streptobasil, Gram positif. Spora berbentuk oval dan terletak sentral. Berdasarkan uji biokimia, isolat ini menunjukkan kemampuan produksi asam dalam fermentasi glukosa, tidak tahan asam, memproduksi indol, mengubah indikator metal merah menjadi merah oleh asam yang diproduksinya, kemampuan menghasilkan asetil-metil karbinol dari asam organik hasil fermentasi karbohidrat, tidak dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon, produksi katalase, mampu menghidrolisis gelatin, produksi amilase (hidrolisis amilum). Kesemua ciri tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan *Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3.

Kandungan Limbah Industri

Air limbah yang berasal dari limbah industri dan perdagangan biasanya mempunyai komposisi senyawa organik dan garam-garam anorganik yang berbeda dari air limbah domestik. Ini dapat terlihat dari kadar zat organik yang tinggi atau perbandingan garam-garam yang tinggi (Kusnoputranto, 1984).

Laporan Data Hasil Analisa Laboratorium Sucofindo terhadap padatan limbah cair industri rokok PT. Djarum (2008) menerangkan bahwa pada padatan hasil pengolahan IPAL mengandung bahan-bahan yang terdiri dari unsur makro, unsur mikro dan unsur lain. Unsur makro berupa bahan organik, Nitrogen, Karbon organik, Fosfor dalam bentuk P₂O₅, dan Kalium. Unsur mikro terdiri dari Kobalt, Kromium, Tembaga dan Nikel. Unsur lain

yang terkandung yaitu Kalsium, Magnesium, Besi, Aluminium, dan Mangan.

Faktor-faktor yang Mempengaruhi Viabilitas Mikroba

Menurut Pelczar & Chan (2005) menjelaskan bahwa bertahan hidupnya suatu spesies dan kelangsungan pertumbuhannya di dalam komunitas biologis membutuhkan suatu kemampuan untuk menyesuaikan diri terhadap perubahan keadaan lingkungan. Adaptasi fenotipik merupakan respons mikroba terhadap perubahan terbatas yang bersifat sementara. Misalnya, banyak spesies mikroba dapat tumbuh dalam selang suhu yang luas, namun aktivitas metaboliknya tidak selalu sama pada suhu-suhu ekstrim di dalam selang tersebut. *Bacillus* akan membentuk endospora sehingga resisten terhadap suhu yang tinggi dan menyebabkan dapat bertahan hidup lama.

Setiap mikroba akan tumbuh dengan baik di dalam lingkungannya hanya selama kondisinya menguntungkan bagi pertumbuhan dan untuk mempertahankan dirinya. Begitu terjadi perubahan fisik atau kimiawi, seperti misal habisnya nutrisi atau terjadinya perubahan radikal dalam hal suhu atau pH (Pelczar & Chan, 2005). Adapun faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi viabilitas mikroba menurut Pelczar & Chan (2005) antara lain :

Suhu

Karena semua proses pertumbuhan bergantung pada reaksi kimiawi dan karena laju reaksi-reaksi ini dipengaruhi oleh suhu, maka pola pertumbuhan bakteri dapat sangat dipengaruhi oleh suhu. Suhu juga mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan Mikroba. Keragaman suhu dapat juga mengubah proses-proses metabolik tertentu serta morfologi sel.

Atmosfer gas

Gas-gas utama yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri ialah oksigen dan karbon dioksida. Bakteri memperlihatkan keragaman yang luas dalam hal respons terhadap oksigen bebas, dan atas dasar ini maka mudah sekali membagi mereka menjadi empat kelompok : aerobik, anaerobik, anaerobik fakultatif, dan mikroaerofilik.

Kemasaman atau kebasaaan (pH)

pH optimum pertumbuhan bagi kebanyakan bakteri terletak antara 6,5 dan 7,5. Namun, beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan sangat masam atau sangat alkalin. Bagi kebanyakan spesies, nilai pH minimum dan maksimum ialah antara 4 dan 9.

Faktor lain-lain

Beberapa kelompok bakteri mempunyai persyaratan tambahan. Sebagai contoh, organisme fotoautotrofik (fotosintetik) harus diberi pencahayaan, karena cahaya adalah sumber energinya. Pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh keadaan tekanan osmotik (tenaga atau tegangan yang terhimpun ketika air berdifusi melewati membran) atau tekanan hidrostatis (tegangan zat alir). Bakteri tertentu, yang disebut bakteri halofilik dan dijumpai di air asin, hanya tumbuh bila mediumnya mengandung konsentrasi garam yang tinggi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Kultur stok Rhizobakteri (*Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3), tanah gambut Rawapening, padatan limbah industri rokok PT. Djarum Kudus, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, NA, dan NB.

Metode

Preparasi Tanah Gambut dan Padatan Limbah

Tanah gambut dan padatan limbah yang sudah dikeringanginkan, disaring dengan saringan 30 mesh. Tanah gambut diukur pH-nya dan diautoklaf sebanyak dua kali pada 121°C, 2 atm, selama 15-20 menit. Kapasitas lapang tanah dapat ditentukan dengan mengeringkan 50 g tanah pada suhu 80° C selama 24 jam. Setelah diautoklaf dan didinginkan, sampel tanah tersebut dilembabkan dengan akuabides steril untuk mencapai kapasitas lapang (O' Callaghan *et al.*, 2001).

Pembuatan medium pertumbuhan Nutrient Broth (NB) dan Nutrient Agar (NA)

Medium pertumbuhan NB dibuat dengan memasukkan NB sebanyak 8 gram ke dalam erlenmeyer ukuran 1 liter. Campuran bahan-bahan tersebut kemudian dilarutkan dengan 1 liter aquades dan diaduk. Larutan medium dipanaskan dalam penangas air hingga semua bahan larut homogen, kemudian dilakukan penyesuaian pH.

Larutan medium disterilkan dalam autoklaf pada 121°C, 2 atm, selama 15-20 menit.

Medium pertumbuhan NA dibuat dengan memasukkan NA 23 gr untuk setiap 1000 mL. Larutan medium dipanaskan sambil diaduk di atas penangas air hingga semua bahan larut homogen. Volume media dikembalikan seperti semula, kemudian dilakukan penyesuaian pH. Media ini disterilkan dalam autoklaf pada 121°C, 2 atm, selama 15-20 menit.

Peremajaan dan Pemeliharaan Kultur

Kultur murni bakteri pelarut fosfat *Bacillus* sp. DUCC-BR-K1.3 ditumbuhkan pada medium NA dengan metode *streaking plate* (goresan agar) yang dibuat agar miring (*slant agar*) dua seri yaitu sebagai kultur stok kedua dan kultur kerja. Kultur stok pertama dan kedua disimpan kembali pada suhu inkubasi 16° C.

Pengecatan Gram dan Pengamatan Morfologi Bakteri

Pengecatan Gram ini bertujuan untuk mengetahui morfologi bakteri dan untuk membedakan antara bakteri gram positif dan negatif, sehingga dapat dipastikan bahwa kultur yang dipakai benar-benar murni. Preparat yang telah dilakukan pengecatan Gram selanjutnya diamati di bawah mikroskop. Bakteri yang dikultur ini merupakan gram positif sehingga tampak berwarna ungu dan morfologinya berbentuk streptobasil.

Penumbuhan Kultur Kerja

Kultur kerja dalam agar miring diinkubasi semalam pada suhu 37° C. Kultur ini kemudian diinokulasi ke dalam erlenmeyer berisi 60 mL media NB, kemudian diinkubasi 24 jam pada *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm.

Aktivasi Kultur Kerja dan Produksi Inokulum

Kultur dalam 60 mL NB kemudian dipindahkan ke dalam tiga erlenmeyer berisi 100 mL NB. Proses pengaktifan dilakukan dengan inkubasi pada *rotary shaker* selama 12 jam sebagai fase mid log dari pertumbuhan bakteri *Bacillus* DUCC-BR-K.1.3 (Anggraeni, 2008). Kultur yang telah aktif inilah yang akan menjadi inokulum.

Penghitungan Total Populasi Bakteri Inokulum

Penghitungan populasi bakteri ini 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 :

$$\text{Jumlah bakteri per mL sampel} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{faktor pengenceran}}$$

Pengukuran Optical Density (OD) inokulum bakteri

Inokulum 5 mL dimasukkan ke dalam cuvet, selanjutnya akan diukur nilai absorbansi dan transmitansinya menggunakan spektrofotometer. Panjang gelombang yang digunakan yaitu 600 nm. Kepadatan populasi bakteri dibandingkan dengan kurva tumbuh penelitian sebelumnya (Anggraeni, 2008).

Aplikasi Bakteri pada Tanah Gambut dan Padatan Limbah

Bakteri diaplikasi dengan ketentuan tiap 15 mL inokulum bakteri pada 50 gram media pembawa, yang mana pada percobaan ini dibuat lima perlakuan yaitu : F1 (100 % Tanah gambut), F2 (75% Tanah gambut & 25% Padatan limbah), F3 (50% Tanah gambut & 50% Padatan limbah), F4 (25% Tanah gambut & 75% Padatan limbah), F5 (100% Padatan limbah)

Volume inokulum yang diberikan ke dalam setiap media pembawa harus sama, sedangkan setiap formula mempunyai kapasitas lapang yang berbeda akibat dari perbedaan komposisi media yang menyusunnya. Proses pengukuran kapasitas lapang dilakukan untuk mencapai kondisi jenuh air. Kapasitas lapang yang belum terpenuhi setelah pemberian inokulum pada media dapat dilakukan dengan penambahan aquabidest (Tabel 3.1). Rumus untuk mengetahui kapasitas lapang dari media menurut Siswanto (2006) adalah :

$$\text{Kapasitas Lapang} = \frac{\text{Berat Kering (BK)}}{\text{Berat Basah (BB)}} \times 100 \%$$

Tabel 1. Pencapaian kapasitas lapang pada setiap media pembawa dengan penambahan inokulum dan aquabidest.

Perlak.	Penambahan pada 50 gr (berat kering)		Berat basah (gr)	Kapasitas lapang $\frac{(BB-BK)}{BK} \times 100 (\%)$
	Inokulum (ml)	Aquabidest (ml)		
F1U1	15	0	61.7	23.4
F1U2	15	0	62.8	25.6
F1U3	15	0	62.8	25.6
F2U1	15	20	68.2	36.4
F2U2	15	20	67.7	35.4
F2U3	15	20	67	34
F3U1	15	30	77.6	55.2
F3U2	15	30	76.8	53.6
F3U3	15	30	80.7	61.4
F4U1	15	35	80.8	61.6
F4U2	15	35	81.4	62.8
F4U3	15	35	79.1	58.2
F5U1	15	35	84.8	69.6
F5U2	15	35	83.6	59.2
F5U3	15	35	81.9	63.8

Uji Kemampuan Hidup Mikroba pada Media Pembawa

Uji kemampuan hidup mikroba berdasarkan daya viabilitas dan jumlah koloni populasi bakteri. Penentuan daya viabilitas bakteri pada media pembawa dengan metode TPC.

Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan perbandingan antara media pembawa yaitu tanah gambut dan substitusinya berupa padatan limbah cair industri rokok, yang mana pada percobaan ini dibuat lima perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Data yang diperoleh dianalisis dengan software SPSS versi 13. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan statistik uji Kolmogorov-Smirnov Z. Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan statistik uji

Levene Statistic. Analisa sidik ragam (Ansira) dengan taraf kepercayaan 95 % untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan statistik uji *Oneway ANOVA*. Uji lanjut (uji beda) ditentukan dengan uji Duncan Jarak Berganda atau *Duncan Multiple Range Test (DMRT)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan selama preparasi media menunjukkan bahwa F1 (100% tanah gambut)

memiliki pH 5.5 sebelum penambahan CaPO_4 (Tabel 4.1.). Hal ini menunjukkan bahwa tanah gambut memiliki pH yang asam. Sementara itu kondisi untuk F2, F4 dan F5 masih tergolong asam sehingga perlu dinetralkan. Berbeda dengan F3 (50 % tanah gambut dan 50% padatan limbah), formula ini telah mencapai pH netral tanpa penambahan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Tabel 2. Hasil Pengukuran pH pada media pembawa sebelum penambahan inokulum

Perlakuan	Penetralan pH dengan Penambahan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2/5$ 0 gr (gr)	pH	
		Sebelum ditambah $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Sesudah ditambah $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
F1	1.5	5.5	7
F2	0.5	6	7
F3	0	7	7
F4	0.5	6	7
F5	0.5	6	7

Kondisi pH merupakan faktor yang mempengaruhi viabilitas bakteri dalam media pembawanya. Oleh karena *Bacillus* sp. DUCC-BR-K.1.3 merupakan bakteri yang dapat mengalami pertumbuhan optimum pada pH netral dan tidak tahan asam (Raharjo, 2004), maka kenetralan pH media pembawa akan sangat berpengaruh terhadap viabilitasnya.

Adapun penambahan aquabidest steril bertujuan untuk menyediakan kelembaban yang sesuai dengan kebutuhan bakteri. Molekul air ini juga akan berikatan dengan partikel media pembawa sehingga akan tercipta rongga-rongga udara yang mana dapat diisi oleh gas seperti oksigen sebagai pendukung viabilitas bakteri ini yang bersifat aerob. Perlakuan F1 tidak dilakukan penambahan aquabidest steril karena menurut Ambak & Melling (2000) tanah gambut mempunyai porositas yang tinggi (75-95%), yang berarti mudah untuk menyimpan air. Penambahan inokulum (berupa cairan) telah menyebabkan antarpartikel tanah gambut saling berikatan dan mengikat cairan inokulum membentuk suatu partikel berukuran lebih besar, sehingga tercipta rongga-rongga udara dalam botol sampel yang baik untuk aerasi bakteri. Selain itu, menurut Ainsworth & Alfred (1968), organisme membutuhkan cairan air untuk menjalankan fungsi

biologisnya antara lain untuk proses metabolisme yang dilakukan oleh sel. Apabila proses ini berjalan optimal dengan adanya faktor yang mendukung, maka mikroba dapat bertahan hidup atau bahkan tumbuh dengan baik pada lingkungannya.

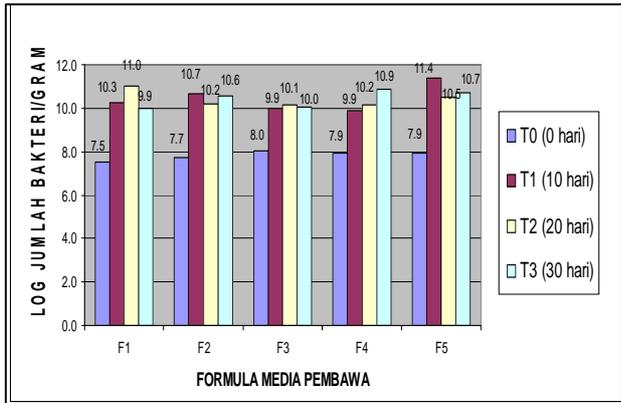
Inokulum yang ditambahkan ke dalam masing-masing formula yaitu 15 mL per 50 gram. Inokulum ini mengandung kepadatan populasi bakteri $\pm 4.2 \times 10^{12}$ per mL yang mana jumlah ini sama dengan 1.26×10^{12} bakteri per gram dalam setiap botol sampel media pembawa. Jumlah ini telah memenuhi jumlah minimum inokulan yang harus ada dalam media pembawa pada awal penyimpanan yaitu 10^8 per gram media pembawa (Rao, 1982). Pengukuran kerapatan optis inokulum umur 12 jam (Tabel 4.2.) dengan menggunakan spektrofotometer yang dibandingkan dengan hasil dari penelitian sebelumnya menunjukkan nilai absorbansi yang lebih besar, sedangkan sebaliknya dengan nilai transmitansinya. Hal ini menunjukkan bahwa populasi bakteri umur 12 jam (mid log) ini telah mencapai target absorbansi dan tranmitansi yang diharapkan. Absorbansi diterima jika \geq absorbansi peneliti terdahulu sedangkan transmitansi diterima jika \leq transmitansi peneliti terdahulu. Nilai tersebut juga menunjukkan bahwa kepadatan populasi bakteri pada umur 12 jam penelitian sekarang lebih besar dibanding dengan penelitian sebelumnya, yaitu lebih besar dari 1.3×10^8 CFU (sel/mL), jika dilihat dari kurva standar pertumbuhan peneliti sebelumnya berdasarkan metode TPC.

Tabel 3. Hasil Pengukuran *Optical Density* (OD) *Bacillus* sp DUCC-BR-K.1.3.Umur 12 Jam dan Perbandingan dengan Penelitian Sebelumnya.

	1	2	3	rata-rata	Anggraeni (2008)
Absorbansi	1.1	1.01	1	1.0367	0.949
Transmitansi	9	9.5	10	9.5	11.25

Penentuan viabilitas (daya hidup) bakteri pelarut fosfat *Bacillus* sp. DUCC-BR-K.1.3 pada media pembawa berdasarkan jumlah koloni selama masa penyimpanan 30 hari dilakukan dengan metode TPC. Hasil TPC ini juga menunjukkan adanya perubahan jumlah populasi akibat

pertumbuhan maupun kematian sel. Sejumlah sel dalam suatu populasi mungkin mengalami kematian selama proses produksi biomassa dan awal penyimpanan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan jumlah inokulum yang tajam pada saat T0 setelah diaplikasi ke dalam media pembawa menurun dari jumlah inokulum awal 1.26×10^{11} sel/gram menjadi $10^7 - 10^8$ sel/gram. Hal ini disebabkan bakteri mengalami fase adaptasi kehidupan dalam media pembawanya yang bersifat solid. Perbedaan karakteristik media yang kontras antara media pertumbuhan awal yaitu NB dengan media pembawa (tanah gambut dan padatan limbah) akan menyebabkan kematian sel-sel yang tidak adaptif. Proses seleksi populasi terjadi pada masa awal setelah inokulasi ke dalam media pembawa. Sel-sel bakteri akan berkompetisi mendapatkan nutrient dan komponen lain yang essential (seperti oksigen dan air) untuk mendukung pertumbuhan selanjutnya. Hasil penghitungan jumlah populasi bakteri per gram media pembawa (bentuk Log) yang dihitung pada T0, T1, T2, dan T3 dapat dilihat pada Gambar 4.1. di bawah



Keterangan: F1 = 100% tanah gambut, F2 = 75 % tanah gambut : 25% padatan limbah, F3 = 50% tanah gambut : 50 % padatan limbah, F4 = 25% tanah gambut : 75% padatan limbah, F5 = 100% padatan limbah

Gambar 1. Histogram kepadatan populasi bakteri (log jumlah sel/ g) setelah diinokulasikan pada media pembawa selama 30 hari

Kontrol yang menjadi pembanding adalah viabilitas bakteri pada masa penyimpanan awal (T0). Berdasarkan Gambar 4.1 dapat diketahui bahwa bakteri ini mempunyai viabilitas yang

tinggi pada semua formula media pembawa. Hal ini diperlihatkan dengan adanya kenaikan yang begitu pesat antara jumlah bakteri pada kontrol (T0) dengan jumlah bakteri setelah penyimpanan 10 hari (T1) pada semua formula media pembawa.

Kenaikan jumlah bakteri yang begitu pesat disebabkan nutrient yang tersedia untuk pertumbuhan tersedia cukup banyak. Sumber nutrient ini berasal dari NB (dengan kandungan ekstrak daging, pepton, dan NaCl), zat-zat organik yang terkandung media pembawa dan sel-sel bakteri yang mati pada awal inokulasi. Sumber karbon yang dapat dimanfaatkan pada masa penyimpanan awal oleh bakteri berasal dari ekstrak daging yang terkandung dalam NB dan dari sel-sel bakteri yang telah mati. Karbon berperan penting dalam viabilitas bakteri karena merupakan tulang punggung (*backbone*) berbagai molekul organik yang mana ikut serta dalam anabolisme struktur dan komponen sel. Melimpahnya sumber karbon ini, menyebabkan terjadi kenaikan jumlah sel yang begitu pesat dalam masa penyimpanan 10 hari. Sumber N bagi bakteri diperoleh dari pepton yang terkandung pada NB. Unsur N berperan dalam pembentukan asam nukleat dan protein yang sangat vital bagi proses sintesis DNA dan RNA serta pembentukan enzim (peran regulasi sel atau mengkatalis jalannya berbagai reaksi biologis dan kimiawi dalam sel).

Berdasarkan Gambar 4.1. dapat dilaporkan bahwa tiap formula mengalami fluktuasi jumlah populasi bakteri yang berbeda selama masa penyimpanan 30 hari. Jumlah sel pada F1 (100% tanah gambut) mengalami kenaikan jumlah pada masa penyimpanan 10 hari (T1) dan masa penyimpanan 20 hari (T2), dimana pada T2 jumlah sel mencapai jumlah tertinggi (1.11×10^{11} sel/gram), kemudian pengukuran pada T3 mengalami penurunan jumlah.

Jumlah sel yang ada pada F2 (75 % tanah gambut : 25% padatan limbah) menunjukkan fluktuasi yang tidak begitu tajam (masih dalam jumlah 10^{10} sel/gram) antar waktu pengukuran. Jumlah sel tertinggi pada saat T1 yaitu 4.51×10^{10} sel/gram.

Formula F3 (50% tanah gambut : 50 % padatan limbah) juga menunjukkan fluktuasi jumlah sel yang tidak begitu tajam antar waktu

pengukuran. Fluktuasi jumlah ini hanya berkisar dari 10^9 dan 10^{10} sel/gram dari T1 hingga (T3) masa penyimpanan 30 hari. Jumlah sel tertinggi yaitu 1.39×10^{10} sel/gram pada T2, kemudian pengukuran pada T3 mengalami penurunan jumlah.

Adapun pada formula F4 (25% tanah gambut : 75% padatan limbah), viabilitas bakteri semakin mengalami kenaikan pada tiap waktu pengukuran. Akhir masa penyimpanan (T3), F4 mencapai jumlah sel tertinggi yaitu 7.01×10^{10} sel/gram.

Jumlah sel pada F5 (100% padatan limbah) menunjukkan fluktuasi jumlah populasi yang tidak begitu tajam. Fluktuasi jumlah ini hanya berkisar dari 10^{10} sampai 10^{11} sel/gram antar waktu pengukuran dari T1 hingga T3. Jumlah sel tertinggi yaitu pada saat T1 yaitu 2.30×10^{11} CFU.

Hasil uji statistik viabilitas bakteri berdasarkan waktu menunjukkan bahwa terdapat perbedaan viabilitas bakteri pada media pembawa tiap waktu pengukuran. Adapun jumlah sel tertinggi pada T0 ditunjukkan pada F3 yaitu 1.06×10^8 CFU, akan tetapi berdasarkan analisis sidik ragam dengan *Oneway ANOVA* kelima perlakuan memiliki rata-rata nilai yang tidak berbeda secara signifikan.

Berdasarkan hasil DMRT pada T1 menunjukkan bahwa perlakuan F5 berbeda signifikan (beda nyata) dengan perlakuan F1, F2, F3, dan F4. Perlakuan F5 pada T1 menunjukkan rata-rata jumlah sel tertinggi (2.30×10^{11} sel/gram).

Adapun pada T2 menunjukkan bahwa perlakuan F5 pada T2 menunjukkan rata-rata jumlah sel tertinggi (3.15×10^{10} CFU), akan tetapi berdasarkan hasil DMRT jumlah ini menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan (beda tidak nyata) dengan perlakuan lainnya. Hal ini dapat juga disimpulkan bahwa semua perlakuan mempunyai pengaruh yang sama terhadap viabilitas bakteri.

Adapun pada T3 perlakuan F4 menunjukkan rata-rata jumlah sel tertinggi (7.01×10^{10} CFU), akan tetapi berdasarkan hasil DMRT jumlah ini tidak terdapat perbedaan yang signifikan (beda nyata) dengan perlakuan lainnya. Hal ini dapat diartikan semua perlakuan mempunyai pengaruh yang sama terhadap viabilitas bakteri.

Perubahan jumlah populasi bakteri pada media pembawa dipengaruhi oleh beberapa faktor

yaitu nutrisi, suhu, pH, aerasi (ketersediaan oksigen) dan adanya senyawa toksik yang mungkin terkandung dalam media pembawa. Ketersediaan nutrisi merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi viabilitas bakteri pada media pembawa. Pada saat nutrisi dari medium NB telah habis di akhir-akhir masa penyimpanan, di mana mendekati fase stasioner bakteri akan memanfaatkan media pembawa sebagai sumber nutrient. Media pembawa berupa tanah gambut merupakan serasah organik yang terdekomposisi secara anaerobik dimana laju penambahan bahan organik lebih tinggi daripada laju dekomposisinya (Ambak & Melling, 2000), di mana akan menjadi substrat yang akan diurai oleh bakteri dalam kondisi miskin oksigen (dalam botol tertutup rapat). Padatan limbah juga merupakan bahan yang mengandung banyak senyawa organik seperti karbon, nitrogen, fosfor, kalium, dan unsur lain, yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrient untuk melangsungkan hidupnya dalam media tersebut. Menurut Kirsop & Snell (1984) menjelaskan bahwa kemungkinan adanya perubahan karakteristik kultur yang disimpan pada media pembawa (membentuk populasi resisten). Perubahan karakteristik kultur bakteri yang disimpan ini yaitu dengan kemampuannya membentuk endospora, dimana sel bakteri akan dapat bertahan hidup dalam kondisi yang ekstrim (kondisi nutrient, aerasi yang minim dan munculnya senyawa toksik hasil dari metabolisme sel). Kemampuan bakteri bertahan hidup menjadi semakin lama dalam media pembawanya. Adapun pengurangan jumlah sel yang bertahan hidup mungkin terjadi karena seleksi sel yang masih hidup dari suatu populasi resisten.

Berdasarkan data rata-rata jumlah bakteri/gram pada T3 semua formula masih menunjukkan viabilitas di atas batas minimum inokulan yang harus ada pada media pembawa. Menurut Rao (1982), jumlah minimum inokulan yang harus terkandung dalam media pembawa pada 15 hari sebelum aplikasi ke lapangan adalah 10^7 sel/gram, sedangkan jumlah inokulan pada kelima perlakuan hingga hari ke-30 penyimpanan (T3) yaitu pada level 10^9 - 10^{10} CFU. Hal ini berarti semua perlakuan masih mempunyai potensi untuk disimpan lebih lama lagi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Viabilitas tertinggi *Bacillus* sp. DUCC-BR-K.1.3 pada media pembawa selama masa penyimpanan 30 hari tercapai pada T1 (masa penyimpanan 10 hari) yaitu 2.30×10^{11} CFU pada perlakuan F5.
2. Akhir masa penyimpanan (T3) menunjukkan bahwa kelima formula media pembawa berbeda secara tidak nyata atau berbeda tidak signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainsworth, G. C. & Alfred S. S. 1968. The Fungi an Advanced Treatise Vol III (The Fungal Population). Academic Press, New York and London.
- Ambak, K., and Melling, L., 2000. Management Practices for Sustainable Cultivation of Crop Plants on Tropical Peatlands. Proc. of The International Symposium on Tropical Peatlands 22-23 November 1999. Bogor-Indonesia : 119.
- Andriess, 1988. Nature and Management of Tropical Peat Soils. *FAO Soils Bulletin 59*. Food and Agriculture Organisation of The United Nations. Rome.
- Anggraeni, Y. M. 2008. Produktivitas dan Aktivitas Selulase *Bacillus* sp. DUCC-BR-K.1.3 dengan Penambahan Mg^{2+} . *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Diponegoro, Semarang.
- Anonim. 2008. Laporan Hasil Analisis Laboratorium Sucofindo terhadap Padatan Limbah Cair Industri Rokok PT. Djarum Kudus. Hasil Analisis Laboratorium Sucofindo. PT. Djarum. Kudus.
- Elfiati, D. 2005. Peranan Mikroba Pelarut Fosfat terhadap Pertumbuhan Tanaman. *e-USU Repository*. Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.
- Kirsop, B. E and Snell, J. J. S. 1984. Maintenance of Microorganisms A Manual of Laboratory Methods. Academic Press Inc., London.
- Kusnopranto, H. 1984. Air Limbah dan Ekskreta Manusia. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Universitas Indonesia, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Jakarta.
- Mulyanto B. dan Basuki S. 2002. Pengelolaan Lahan Gambut secara Ekologis Untuk Kesejahteraan Masyarakat. Center for Wetlands Studies Department of Soil Sciences – Faculty of Agriculture Bogor Agricultural University, Bogor.
- Normasari, Aulina N. P., Agustina D. K., Kristina. A. E. K., Zaldy C. 2006. Formula Pupuk Biologi Pelarut Fosfat dengan Menggunakan Tanah Gambut sebagai Agen Pembawa Mikroba. Laporan Program Kreativitas Mahasiswa Penelitian. Universitas Diponegoro, Semarang.
- O'Callaghan, M., Gerard E. M., Johnson V. W. 2001. Effect of Soil Moisture and Temperature on Survival of Microbial Control Agents. Paper from 54th Conference Proceedings of the New Zealand Plant Protection Society Incorporated. 128-135. New Zealand
- Pelczar, M. J. and Chan, E. C. S. 2005. Elements of Microbiology. *Alih bahasa* : Hadioetomo, dkk. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Raharjo, B. 2004. Penapisan Rhizobakteri Tahan Tembaga (Cu) dan Mampu Mensintesis IAA dari Rizosfer Kedelai (*Glycyne max* L.). *Tesis*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rao, N. S .S. 1982. Biofertilizer in Agriculture. Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi, India.
- _____. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Simanungkalit, R.D.M. Aplikasi Pupuk Hayati dan Pupuk Kimia: Suatu Pendekatan Terpadu. *Buletin AgroBio* 4 (2): 56-61
- Siswanto, D., Suharjo. 2006. Komunitas Kapang Tanah di Lahan Kritis Berkapur DAS Bantas pada Musim Kemarau. *Biscientiae* 1 (2) : 1-14
- Subagyo, Marsoedi dan Karama, S., 1996. Prospek Pengembangan Lahan Gambut untuk Pertanian dalam Seminar Pengembangan Teknologi Berwawasan Lingkungan untuk Pertanian pada Lahan Gambut, 26 September 1996. Bogor.

