

# Keanekaragaman dan Potensi Kapang Pelarut Fosfat dari Pulau Poteran, Sumenep, Madura

Jean I. P. Akbar, Nengah D. Kuswytasari  
Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)  
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia  
*e-mail*: kuswytasari@bio.its.ac.id

**Abstrak**— Fosfor merupakan unsur makro penting yang dibutuhkan oleh tumbuhan dalam proses sintesis protein. Namun, unsur P-tersebut di tanah cenderung sedikit dikarenakan terikat oleh beberapa logam, salah satunya Ca yang dominan ditemukan pada tanah Pulau Poteran, Sumenep, Madura. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genus-genus kapang yang dapat melarutkan fosfat terikat dari Pulau Poteran. Isolasi dilakukan di lima titik berbeda dengan kualitas fisik tanah yang berbeda, serta parameter yang diukur adalah indeks kelarutan fosfat (IKF) melalui zona bening yang terbentuk pada medium selektif Pikovskaya padat. Hasil menunjukkan hanya empat isolat yang mampu membentuk zona bening pada medium, diduga termasuk dalam genus *Aspergillus*. Rerata IKF yang terbentuk masing-masing isolat:  $IKF_A = 0,15$ ;  $IKF_B = 0,13$ ;  $IKF_C = 0,06$ ;  $IKF_D = 0,08$ .

**Kata Kunci**— *Aspergillus*, Fosfat, IKF, Pulau Poteran.

## I. PENDAHULUAN

PULAU Poteran merupakan salah satu pulau kecil di Indonesia yang memiliki ciri khas tanah berupa batuan induk kapur dan mediteran merah [1]. Hal tersebut derajat keasaman (pH) tanah tinggi (basa), dimana berpengaruh pada kecocokan tanaman terhadap unsur hara yang tersedia, yaitu rendahnya ketersediaan unsur mikro dan juga fosfat karena terikat oleh  $Ca^{2+}$ .

Fosfor (P) termasuk salah satu unsur hara makro yang dibutuhkan oleh tumbuhan. Fungsi fosfor yaitu sebagai penyusun adenosin triphosphate (ATP) yang terkait dalam metabolisme tumbuhan [2]. Menurut [3], tumbuhan menyerap fosfat dalam bentuk ion fosfat anorganik, terutama  $H_2PO_4^-$  dan  $HPO_4^{2-}$ . Namun, ketersediaan fosfat dapat sangat rendah yang disebabkan karena fosfat berikatan dengan unsur Ca pada tanah basa menjadi  $Ca_3(PO_4)_2$ , dimana fosfat terikat tersebut tidak dapat diserap oleh tumbuhan, sehingga harus diubah menjadi bentuk anorganik.

Salah satu alternatif untuk meningkatkan efisiensi penyerapan fosfat dari dalam tanah adalah memanfaatkan kelompok mikroorganisme pelarut fosfat, yaitu kapang. Kapang (*molds*) adalah jamur berfilamen. Kapang di alam memiliki peranan yang besar, salah satunya bersimbiosis dengan akar tanaman [4]. Kapang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat di dalam tanah dengan bantuan enzim fosfatase [5]. Beberapa kapang yang telah diketahui mampu melarutkan fosfat, diantaranya dari genus *Penicillium* dan *Aspergillus*, serta *Trichoderma*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genus-genus kapang hasil isolasi tanah dari Pulau Poteran yang dapat melarutkan fosfat.

## II. METODOLOGI

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2013 hingga bulan Juni 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA-ITS.

### B. Isolasi Kapang Pelarut Fosfat

Isolasi dari tanah dilakukan secara komposit [6] di lima titik berbeda dengan koordinat P1 (S 07°03'48.0" E 113°57'02.8"), P4 (S 07°04'21.4" E 114°01'31.8"), P5 (S 07°05'28.3" E 114°03'10.6"), P7 (S 07°05'17.8" E 113°59'14.8"), dan P8 (S 07°05'21.9" E 113°56'30.3"), masing-masing diambil lima sub-titik yang berbeda. Tiap sampel tanah dilarutkan dengan metode pengenceran bertingkat hingga pengenceran  $10^{-4}$ , lalu sebanyak 0,1 ml suspensi diinokulasikan ke dalam medium PDA *Chloramphenicol* 100% steril dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang [7].

Koloni yang tumbuh dihitung jumlahnya dengan perhitungan sebagai berikut [8]:

$$CFU = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Koloni yang tumbuh di medium PDA dimurnikan hingga mendapat koloni tunggal/murni yang selanjutnya diinokulasi ke dalam tabung reaksi berisi medium padat miring secara duplo. Satu tabung untuk proses uji, sedangkan satu tabung lainnya untuk sediaan biakan yang disimpan dalam lemari es pada suhu 4°C.

Selanjutnya, kapang diseleksi dengan medium selektif Pikovskaya untuk mengetahui kapang yang dapat melarutkan fosfat, dibuktikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni, dengan komposisi medium:  $Ca_3(PO_4)_2$  2,5 gr, Natrium klorida (NaCl) 0,1 gr, Amonium sulfat  $((NH_4)_2SO_4)$  0,25 gr, Kalium klorida (KCl) 0,1 gr,  $MnSO_4$  1,25 mg, Magnesium sulfat anhidrat  $(MgSO_4 \cdot 7H_2O)$  0,05 gr,  $FeSO_4$  1,25 mg, *yeast extract* 0,25 gr, dan 100 mg *Chloramphenicol* (untuk medium selektif cair), serta 5 gr agar, dilarutkan dengan akuades hingga 500 ml dalam Erlenmeyer, dan disterilkan dengan autoklaf.

### C. Uji Kualitatif Kelarutan Fosfat

Uji kualitatif kelarutan fosfat dilakukan dengan menghitung rata-rata zona bening yang dihasilkan tiap isolat pada medium Pikovskaya padat. Pengamatan dilakukan saat diameter isolat kapang yang diuji mencapai 3 cm, dan



dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Pengamatan yang dilakukan adalah ada tidaknya zona bening dan selanjutnya apabila isolat membentuk zona bening, diperoleh indeks reduksi fosfatnya dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks Kelarutan Fosfat} = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}}$$

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Isolasi Kapang Pelarut Fosfat

Metode pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara acak (komposit) pada daerah perakaran tanaman di setiap titik pengambilan. Daerah perakaran dipilih karena secara fisiologis, mikroorganisme lebih aktif dalam mensekresikan enzim pelarut fosfat yang berperan dalam proses hidrolisis P organik menjadi P anorganik, dibanding dengan mikroba yang hidup jauh dari daerah perakaran [9], serta mampu mengefisienkan P-anorganik, sehingga dapat meningkatkan P tersedia.

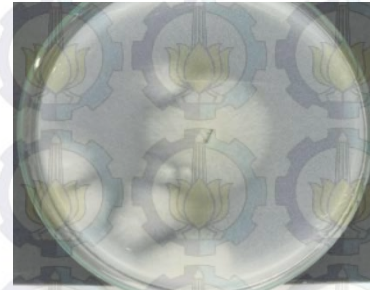
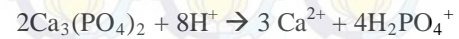
Pulau Poteran memiliki tanah dengan pH antara netral hingga basa, yaitu antara 7,32-8,22, dikarekan bahan dasar tanah yang terbentuk berasal dari batuan induk kapur dan mediteran merah. Koloni kapang yang ditemukan di setiap titik memiliki jumlah yang berbeda, diduga dipengaruhi oleh derajat keasaman dan kualitas fisik tanah. Hasil pengukuran pH tanah dan kualitas fisik tanah, serta jumlah koloni kapang yang ditemukan pada setiap titik *sampling* disajikan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1  
Analisis pH Dan Kualitas Tanah, Serta Jumlah Koloni Tiap Titik Pengambilan Sampel

Lokasi	Koordinat	pH Tanah	Deskripsi	Jumlah Koloni (CFU/ml)
Titik 1	S 07°03'48.0" E 113°57'02.8"	7,74	Tanah pasir berbatu, kering, berwarna merah kecoklatan, banyak seresah	$6,7 \times 10^3$
Titik 4	S 07°04'21.4" E 114°01'31.8"	8,18	Tanah berpasir, kering, warna kuning kecoklatan, dan tanah berlumpur, berwarna coklat kehitaman	$3,67 \times 10^4$
Titik 5	S 07°05'28.3" E 114°03'10.6"	7,84	Tanah liat berhumus, sedikit berpasir, berwarna merah	$4,83 \times 10^4$
Titik 7	S 07°05'17.8" E 113°59'14.8"	7,32	Tanah berpasir, kering, berwarna merah	$2,67 \times 10^4$
Titik 8	S 07°05'21.9" E 113°56'30.3"	8,22	Tanah lumpur berbatu, berwarna coklat kehitaman	$1,15 \times 10^5$

Kapang dapat diketahui mampu melarutkan fosfat jika diinokulasikan di atas medium selektif Pikovskaya padat, yang dibuktikan dengan pembentukan zona bening di sekitar koloni. Menurut [10], zona bening yang terbentuk merupakan P

terlarut yang dihasilkan oleh reaksi asam organik, misalnya enzim fosfatase, dimana P terikat pada  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  diubah menjadi P tersedia seperti persamaan berikut [11]:



Gambar 3.1 Pembentukan Zona Bening Salah Satu Isolat

Hanya empat isolat yang mampu melarutkan fosfat pada medium Pikovskaya, diduga keempat isolat tersebut termasuk ke dalam genus *Aspergillus*. Keempat isolat yang ditemukan memiliki persamaan karakteristik morfologi makroskopik dan mikroskopik, yakni warna tepi koloni putih, membentuk garis radial, memiliki tetes eksudat, hifa berseptat, tidak berwarna (hyalin), konidia berwarna hyalin hingga hijau, berbentuk *globose*, kasar, kepala konidial (vesikel) berbentuk *globose* hingga *subglobose*, konidiofor halus, dan dinding berwarna hyalin kecokelatan. Sedangkan perbedaan tiap isolat disajikan pada tabel 3.2.

Tabel 3.2  
Karakteristik Pembeda Tiap Isolat

Pembeda	<i>Aspergillus</i> sp.1	<i>Aspergillus</i> sp.2	<i>Aspergillus</i> sp.3	<i>Aspergillus</i> sp.4
Titik	P5	P8	P8	P1
Warna permukaan koloni	Hijau kecokelatan	Hijau kecokelatan	Hijau kecokelatan	Hijau keabuan hingga hitam
Warna sebalik koloni	Putih	Putih	Cokelat kehitaman dengan tepi putih	Cokelat gelap dengan tepi putih
Tetes eksudat	Bening	Kuning	Hitam	Hitam
Lingkar konsentris	Ada	Ada	Ada	Tidak ada
Kepala konidial	<i>Biseriate</i>	<i>Biseriate</i>	<i>Uniseriate</i>	<i>Uniseriate</i>
Sifat lain	-	-	Membentuk <i>cleistothecia</i>	-

Kemampuan keempat isolat dalam melarutkan fosfat secara kualitatif pada medium Pikovskaya padat yang ditunjukkan pada tabel 3.3. Indeks kelarutan fosfat (IKF) didapatkan dari diameter zona bening yang terbentuk dibanding diameter koloni yang tumbuh. Zona bening tersebut diduga menunjukkan bahwa fosfat terikat telah diubah menjadi ion fosfat anorganik yang dapat larut dalam air. Pelarutan P terjadi karena adanya reaksi enzimatik yang



dihasilkan oleh kapang, seperti fosfatase, fitase, firofosfatase, dan metafosfatase, dimana masing-masing enzim tersebut memiliki reaksi yang menghasilkan fosfat yang tersedia (ortofosfat) [12].

Tabel 3.3  
Hasil Uji Kualitatif Kelarutan Fosfat

Lokasi	Isolat	DK	DZB	Rerata IKF	Keterangan*
P5	A	3,49	4,01	0,15	hari ke-3
P8	B	3,1	3,51	0,13	hari ke-4
P8	C	3,41	3,62	0,06	hari ke-4
P1	D	3,86	4,16	0,08	hari ke-3

\*hari ke-x diameter isolat mencapai 3 cm

Keterangan: IKF= Indeks Kelarutan Fosfat; DK= Diameter Koloni; DZB= Diameter Zona Bening.

Pada tabel 3.3 menunjukkan bahwa isolat A memiliki IKF tertinggi yaitu 0,15, sedangkan isolat lain yaitu B=0,13, D=0,08, dan C=0,06. Hal ini terjadi diduga karena isolat A memiliki aktivitas lebih tinggi dalam mensekresikan enzim pelarut fosfat, seperti fosfatase, namun dalam penelitian ini aktivitas enzim yang mungkin digunakan dalam melarutkan fosfat belum diukur. Perbedaan tiap isolat *Aspergillus* dalam melarutkan fosfat pada medium Pikovskaya padat juga terjadi dalam penelitian [13], yaitu sebanyak tiga isolat (*A. awamori*, *A. foetidus*, dan *A. aculeatus*) yang mampu membentuk zona bening pada medium dengan kelarutan fosfat yang berbeda.

Selain itu, menurut [14] dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pembentukan *halozone* meningkat diikuti dengan peningkatan diameter koloni, dan mencapai titik maksimal dalam membentuk *halozone* pada hari ke-2 hingga 4 perlakuan. Hal ini sesuai dengan hasil di atas bahwa *halozone* dapat dilihat sesuai dengan diameter koloni yang mencapai 3 cm.

#### IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Hanya empat isolat yang mampu membentuk zona bening pada medium selektif Pikovskaya padat, diduga mendekati genus *Aspergillus*, dengan masing-masing nilai indeks kelarutan fosfatnya (IKF) sebesar:  $IKF_A = 0,15$ ;  $IKF_B = 0,13$ ;  $IKF_C = 0,06$ ;  $IKF_D = 0,08$ .

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Ibu Dra. Nurlita Abdulgani, M.Si., dan Ibu Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji, atas kritik, saran dan masukannya demi kesempurnaan jurnal ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada keluarga atas do'a dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman seperjuangan angkatan 2010, dan seluruh pihak yang tidak dapat saya sebut satu persatu.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] S. Supriyadi. "Kesuburan tanah di lahan kering Madura". *Embryo*. Vol. 4 (2007) 124-131.
- [2] A. Domberrmann and T. Fairhurst. 2000. "Rice nutrient disorders and nutrient management". Philippines: International Rice Research Institute (IRRI).
- [3] D. Elfiati. "Peranan mikroba pelarut fosfat terhadap pertumbuhan tanaman". Medan: Jurusan Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara (2005).
- [4] L. Boddy, R. Watling, and A. F. Lyon. "Fungi and disturbance". *Proc. of the Royal Society of Edinburgh B*. 94 (1999) 1-188.
- [5] J. E. Cunningham and C. Kuiack. "Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*". *Applied and Environmental Microbiol.* Vol. 58 (1992) 1451-1458.
- [6] H. Suganda, A. Rachman, dan Sutono. "Petunjuk pengambilan contoh tanah". Jakarta: Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian (2006).
- [7] M. Ilyas. "Kelimpahan dan keragaman kapang pada sampel tanah di sekitar kawasan Taman Nasional Gunung Ciremai, Jawa Barat". *Jurnal Biologi Indonesia*. Vol.5 No.3 (2005) 245-257.
- [8] L. Waluyo. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press (2004).
- [9] R. C. B. Ginting, R. Saraswati dan E. Husen. "Mikroorganisme pelarut fosfat". *Artikel Ilmiah Pupuk Organik dan Pupuk Hayati* (2006).
- [10] H. Yasmin and A. Bano. "Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil of weeds of *Khewra* salt range and attock". *Pak. J. Bot.* Vol. 43 No. 3 (2011) 1663-1668.
- [11] L. E. Susilowati and Syekhfani. "Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from Pb contaminated soils and their potential for dissolving tricalcium phosphate". *Journal of Degraded and Mining Lands Management*. Vol. 1 No. 2 (2014) 57-62.
- [12] K. H. Tan. *Soil Sampling, Preparation, and Analysis, Second Edition*. Florida: Taylor & Francis Group, CRC Press (2005).
- [13] R. Gupta, R. Singal, A. Shankar, R. C. Kuhad, and R. K. Saxena. "A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms". *J. Gen. Appl. Microbiol.* Vol. 40 (1994) 255-260.
- [14] B. C. Walpola and M. Yoon. "In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms". *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7 No. 27 (2013) 3534-3541.