

## UJI AKTIVITAS KAPANG HASIL ISOLASI TANAH GUNUNG MERAPI DAN HUTAN MANGROVE SUWUNG YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN *BIOFERTILIZER* PADA BERBAGAI TINGKAT SALINITAS

Heri Susanto<sup>1</sup>, Suhartono<sup>1</sup>, dan I Made Sudiana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta, Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun 13220. Indonesia

<sup>2</sup> Puslit Biologi LIPI, Jl Raya Bogor Km 46 Cibinong

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi aktivitas kapang yang berpotensi sebagai Agen biofertilizer yang tahan terhadap kondisi salin. Kapang yang digunakan merupakan hasil isolasi dari tanah lereng Gunung Merapi (GM) dan tanah daerah Hutan Mangrove Suwung (MS). Kapang GM dan MS diuji kemampuannya dalam menghasilkan enzim amilase, selulase dan fosfatase serta kemampuannya dalam menghasilkan fosfat terlarut dan hormon pertumbuhan IAA pada medium dengan variasi kadar NaCl 0%, 2%, 5%, 10% dan 20%. Enzim amilase optimum yang dihasilkan oleh kapang GM adalah 8,783 mmol/jam dan pada kapang MS adalah 11,417 mmol/jam, enzim selulase optimum yang dihasilkan oleh kapang GM adalah 0,144 mmol/jam dan pada kapang MS adalah 0,983 mmol/jam, enzim fosfatase optimum yang dihasilkan oleh kapang GM adalah 0,587 mmol/jam dan pada kapang MS adalah 0,604 mmol/jam, fosfat terlarut optimum yang dihasilkan kapang GM adalah 84,857 ppm dan pada kapang MS adalah 70,352 ppm, hormon IAA optimum yang dihasilkan kapang GM adalah 0,223 ppm dan pada kapang MS adalah 0,510 ppm. Penelitian ini menunjukkan bahwa Kapang GM cenderung lebih tahan terhadap kondisi salin sehingga lebih efektif digunakan sebagai komponen biofertilizer pada daerah dengan salinitas yang relatif tinggi.

Kata kunci : Kapang, Biofertilizer, Salinitas

### Abstrack

*This study aims to obtain information of potentially mold activity as Agent Biofertilizer that are resistant to saline conditions. Mold that is used is the result of isolation from the ground slopes of Mount Merapi (GM) and land area Suwung Mangrove Forest (MS). GM mold and MS tested for their ability to produce the enzyme amylase, cellulase and phosphatase and the ability to produce soluble phosphate and growth hormone IAA in the medium with variations in levels of NaCl 0%, 2%, 5%, 10% and 20%. Optimum amylase enzyme produced by GM mold is 8.783 mmol / h and the MS mold is 11.417 mmol / h, optimum cellulase enzymes produced by GM mold is 0.144 mmol / h and the MS mold is 0.983 mmol / h, the optimum enzyme phosphatase produced by GM mold is 0.587 mmol / h and the MS mold is 0.604 mmol / h, optimum dissolved phosphate produced by GM mold is 84.857 ppm and MS mold is 70.352 ppm, optimum IAA hormone produced by GM mold is 0.223 ppm and the MS mold is 0.510 ppm. This study shows that GM mold tend to be more resistant to saline conditions so that more effective as a component Biofertilizer in areas with relatively high salinity.*

Key Word : Mold, Biofertilizer, Salinity

### I. Pendahuluan

Pemanasan global memacu melelehnya es di kutub bumi sehingga permukaan air laut meningkat, hal ini mengakibatkan dataran yang lebih rendah akan tenggelam dan tekanan air laut ke daratan meningkat. Secara tidak langsung dapat mempengaruhi kadar salinitas yang terdapat di daratan, yang nantinya akan mempengaruhi kondisi mikroba tanah tersebut dimana kadar salinitas yang tinggi menyebabkan cairan didalam sel mikroba tersebut keluar hingga mengalami

kekeringan dan akhirnya mikroba tersebut lisis. Hal ini dapat berpengaruh terhadap produktivitas tanah dan dikhawatirkan akan mendatangkan masalah baru bagi kelangsungan produksi pertanian, terutama tanaman pangan [1,2]. Untuk mengatasi dampak perubahan lingkungan akibat pemanasan global perlu dilakukan langkah pencegahan, salah satunya dengan aplikasi teknologi *biofertilizer* dengan kandungan mikroba fungsional yang tahan terhadap

salinitas. Teknologi *biofertilizer* sepuluh tahun ke depan akan menjadi tulang punggung kemajuan sektor pertanian khususnya pertanian organik di Indonesia. Teknologi *biofertilizer* dapat dilakukan melalui pendekatan baik pupuk organik maupun pupuk hayati [3]. Kedua pendekatan tersebut menggunakan mikroba tanah sebagai kunci optimasi proses mineralisasi dan stimulasi pertumbuhan tanaman.

Mikroba tanah dipandang sangat penting sehingga menjadi salah satu indikator dalam menentukan indeks kualitas tanah. Mikroba tanah diketahui mempunyai peranan penting sebagai komponen teknologi pertanian melalui berbagai proses antara lain dekomposisi bahan organik, mineralisasi senyawa organik, fiksasi hara dan pelarut hara [4]. Hal tersebut tidak lepas dari kemampuan mikroba tersebut dalam menghasilkan enzim amilase, selulase dan fosfatase.

Contoh mikroba yang berperan penting dalam *biofertilizer* adalah dari kelompok kapang. Berbagai spesies kapang seperti *Penicillium*, *Fusarium*, dan *Aspergillus* diketahui berpotensi tinggi sebagai agen *biofertilizer* dalam peranannya melarutkan fosfat terikat menjadi fosfat yang tersedia dalam tanah.

Penggunaan mikroba pelarut fosfat merupakan salah satu pemecahan masalah peningkatan efisiensi pemupukan fosfat yang aman lingkungan, yang sekaligus dapat menghemat penggunaan pupuk fosfat [5].

Penelitian mengenai kapang yang berpotensi sebagai agen *biofertilizer* sudah banyak dilakukan namun belum banyak informasi mengenai pengaruh salinitas terhadap aktivitas kapang dalam peranannya sebagai agen *biofertilizer*.

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas kapang yang berpotensi sebagai agen *biofertilizer* pada berbagai tingkat salinitas. Selain itu, hasil dari penelitian

ini dapat membantu memaksimalkan pemanfaatan kapang juga melengkapi informasi ilmiah yang dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut.

## II. Metodologi Penelitian

### Alat dan Bahan

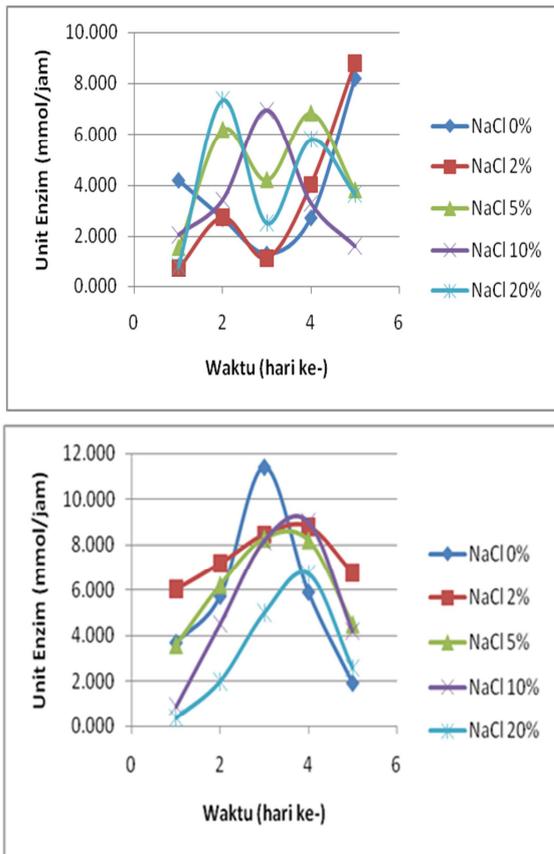
Peralatan yang digunakan adalah botol sampel, microtube Eppendorf sentrifuse H-15 FR Kokusan, mikropipet pipetpal, Laminar Air Flow Sanyo Bioclean Bench, Alat pemanas, kuvet, spektrofotometer Mapada V 1100D, bioshaker incubator BR-300 LF, bioshaker BR-23 FP, tabung reaksi bertutup 10 mL Iwaki, rak tabung reaksi, alat vortex Shibasta TTM-1, Hot plate IKA RH Basic 2, gelas kimia 100mL pyrex, botol aquadest, autoclave Tomy SX-500, inkubator Sanyo, cawan petri, spatula, labu Erlenmeyer 250mL Pyrex, gelas ukur 100mL, stopwatch DT20-501Y, neraca Sartorius, pipet tetes.

Bahan-bahan yang digunakan adalah isolat kapang yang disolasi dari Gunung Merapi pasca erupsi dan Hutan Mangrove Suwung Bali, CMC BD Company, PDA, PDB, Starch Merck, DNS Sigma, alkohol 70%,  $K_2HPO_4$  Merck,  $KH_2PO_4$  Merck,  $(NH_4)_2SO_4$  Merck,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  Merck, glukosa C.V Prima Darmala, agar C.V Prima Darmala,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  Merck,  $Ca_3(PO_4)_2$ , triptofan Merck,  $MgCl_2 \cdot 7H_2O$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  Wako, yeast extract BD Company, fenil fosfat Merck, Merck, NaCl,  $H_2SO_4$  Merck,  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  Merck, asam askorbat Merck,  $K(SbO) \cdot C_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} \cdot H_2O$  Merck, NaOH, KCl Wako.

### Cara Kerja

#### a. Uji Aktivitas Enzim Amilase

Penentuan aktivitas enzim amilase dilakukan dengan cara biakan kapang yang telah ditumbuhkan pada medium amilum cair pada berbagai variasi salinitas yaitu 0%, 2%, 5%, 10% dan 20% NaCl dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf



Gambar 1. Grafik Aktivitas Enzim Amilase (a) Enzim Amilase yang Dihasilkan oleh Kapang GM (b) Enzim Amilase yang Dihasilkan oleh Kapang MS

dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 6000 rpm suhu 4°C. Sebanyak 500 µL supernatan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 500 µL substrat amilum. Kemudian diinkubasi dalam bioshaker 37°C selama 1 jam. Setelah 1 jam, ditambahkan 200 µL DNS, dan dipanaskan selama 7 menit dalam air mendidih. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah bata. Aktivitas amilase diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

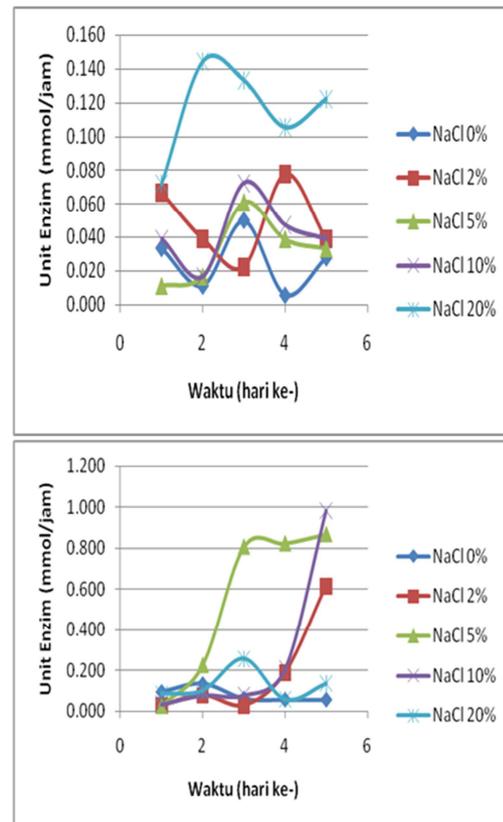
b. Uji Aktivitas Enzim Selulase

Penentuan aktivitas enzim selulase dilakukan dengan cara biakan kapang yang telah ditumbuhkan pada medium CMC cair pada berbagai variasi salinitas yaitu 0%, 2%, 5%, 10% dan 20% NaCl dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf

dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 6000 rpm suhu 4°C. Sebanyak 500 µL supernatan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 500 µL substrat CMC 1%. Kemudian diinkubasi dalam bioshaker 37°C selama 1 jam. Setelah 1 jam, ditambahkan 200 µL DNS, dan dipanaskan selama 7 menit dalam air mendidih. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah bata. Aktivitas selulase diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm

c. Uji Aktivitas Enzim Fosfatase

Penentuan aktivitas enzim fosfatase dilakukan dengan cara biakan kapang yang telah ditumbuhkan pada medium Pikovskaya cair pada berbagai variasi salinitas yaitu 0%, 2%, 5%, 10% dan 20% NaCl dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disentrifugasi selama 5 menit,



Gambar 2. Grafik Aktivitas Enzim Selulase (a) Enzim Selulase yang Dihasilkan oleh Kapang GM (b) Enzim Selulase yang Dihasilkan oleh Kapang MS

dengan kecepatan 6000 rpm, suhu 4°C. Sebanyak 50 µL supernatan, 50 µL fenil fosfat dimasukkan dalam tabung reaksi dan diinkubasi dalam bioshaker 37°C selama 1 jam. Setelah 1 jam, ditambahkan 1 mL aquadest dan 160 µL reagen campuran dan diinkubasi kembali selama 10 menit. Reaksi positif ditandai perubahan warna menjadi biru. Aktivitas fosfatase diukur menggunakan spektrofotometer dengan pajang gelombang 880 nm

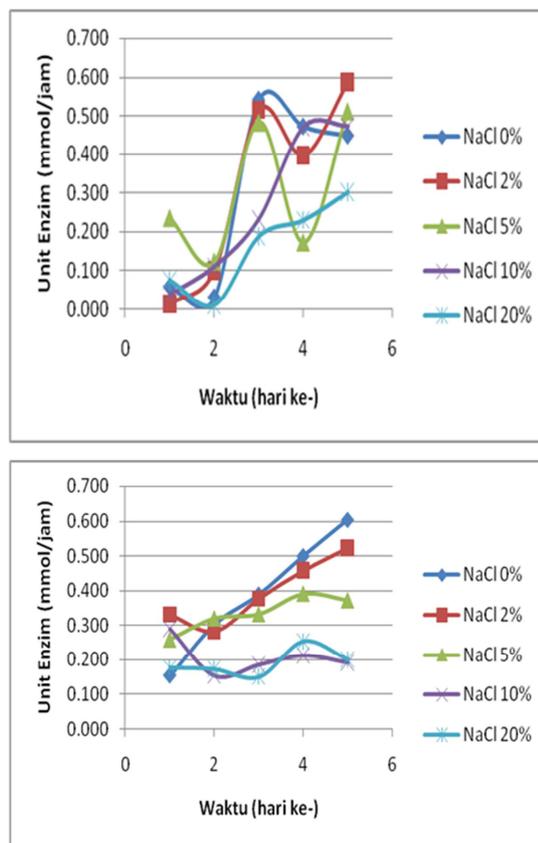
d. Pengukuran Fosfat Terlarut

Pengukuran fosfat terlarut dilakukan dengan cara biakan kapang yang telah ditumbuhkan pada medium Pikovskaya cair pada berbagai variasi salinitas yaitu 0%, 2%, 5%, 10% dan 20% NaCl dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disentrifugasi selama 5 menit, dengan kecepatan 6000 rpm, suhu 4°C. Sebanyak 50 µL supernatan, ditambahkan 160 µL reagen campuran dan diencerkan dengan 1 mL akuades lalu di aduk dengan menggunakan vortex. Kemudian diinkubasi selama 10 menit. Reaksi positif ditandai perubahan warna menjadi biru. Aktivitas fosfatase diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 880 nm.

e. Pengukuran Hormon *Indoleacetic Acid* (IAA)

Pengukuran hormon *Indoleacetic Acid* (IAA) dilakukan dengan cara biakan kapang yang telah ditumbuhkan dalam medium PDB pada berbagai variasi salinitas yaitu 0%, 2%, 5%, 10% dan 20% NaCl dipindahkan kedalam medium triptofan, setelah 1 hari inkubasi dipipet sebanyak 2 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disentrifugasi selama 5 menit, dengan kecepatan 6000 rpm, suhu 4°C. Sebanyak 1,5 mL supernatan ditambahkan 1 mL reagen salkowsky. Sampel didiamkan selama 30 menit, untuk kemudian di ukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Adanya

perubahan warna menjadi merah jambu pada sampel menunjukkan adanya IAA.



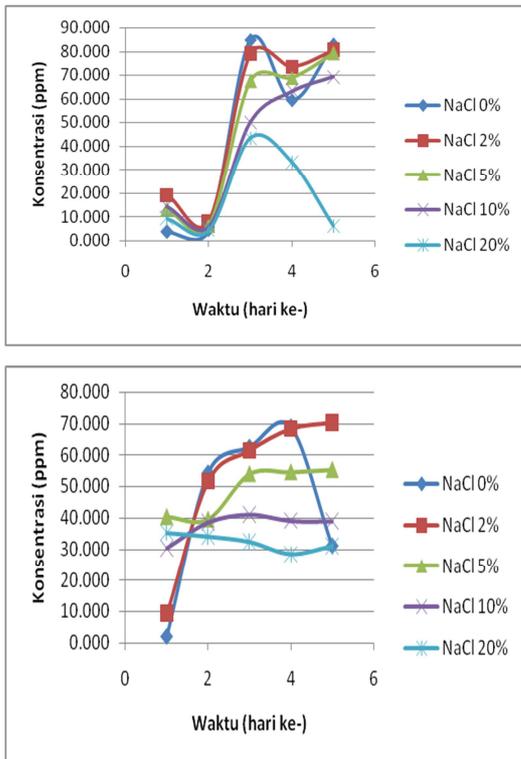
Gambar 3. Grafik Aktivitas Enzim Fosfatase (a) Enzim Fosfatase yang Dihasilkan oleh Kapang GM (b) Enzim Fosfatase yang Dihasilkan oleh Kapang MS

III. Hasil dan Pembahasan

a. Uji Aktivitas Enzim Amilase

Dari grafik (Gambar 1b) menunjukkan bahwa salinitas mempengaruhi kapang MS dalam menghasilkan enzim amilase yaitu semakin besar kadar NaCl yang ditambahkan nilai aktivitas enzim semakin menurun dimana kondisi optimum dalam menghasilkan enzim amilase yaitu tanpa penambahan NaCl (NaCl 0%).

Menurunnya aktivitas enzim karena penambahan kadar NaCl yang tinggi akan menyebabkan tekanan osmotik yang tidak seimbang sehingga menyebabkan sel kapang mengalami kekeringan dan lisis sehingga lambat laun akan mati [2]. Hal tersebut secara langsung akan menurunkan aktivitas enzim amilase yang dihasilkan.



Gambar 4. Grafik Pengukuran Fosfat Terlarut (a) Fosfat Terlarut yang dihasilkan oleh Kapang GM (b) Fosfat Terlarut yang Dihasilkan oleh Kapang MS

Sedangkan grafik pada kapang GM (Gambar 1a) salinitas tidak berpengaruh dalam menghasilkan enzim amilase karena penambahan NaCl pada kadar 2% hingga 20% tidak menurunkan aktivitas enzim amilase. Hal ini karena kapang tersebut memiliki mekanisme khusus untuk beradaptasi pada kondisi *salt stress*. Kemampuan untuk menjalankan mekanisme adaptasi pada kondisi *salt stress* mengakibatkan batas toleransi salinitas yang berbeda-beda pada setiap jenis isolat [6].

b. Aktivitas Enzim Selulase

Berdasarkan hasil pengukuran (Gambar 2) diketahui bahwa kapang GM dan kapang MS mampu menghasilkan enzim selulase pada berbagai tingkat salinitas walaupun dalam jumlah yang sedikit. Dalam menghasilkan enzim selulase kapang MS mempunyai kemampuan yang lebih besar dibandingkan kapang GM dimana kapang MS mampu

menghasilkan aktivitas enzim terbesar yaitu 0,983 mmol perjam pada kadar NaCl 10% sedangkan aktivitas enzim terbesar kapang GM hanya 0,144 mmol perjam pada kadar NaCl 20%

Berdasarkan hasil pengukuran menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kemampuan dalam menghidrolisis selulosa dari masing-masing kapang. Menurut Pelczar dan Chan<sup>7</sup> (1986), perbedaan kemampuan dalam menghidrolisis selulosa dipengaruhi oleh kemampuan suatu organisme dalam menyintesis enzim yang spesifik. Untuk menyintesis suatu enzim yang spesifik, suatu organisme harus mempunyai gen struktural untuk itu pada kromosomnya. Gen struktural menentukan struktur enzim dalam hal urutan asam-asam aminonya.

c. Aktivitas Enzim Fosfatase

Berdasarkan grafik (Gambar 3a) diketahui bahwa kapang GM dapat menghasilkan aktivitas enzim optimum pada hari ke-5 sebesar 0,587 mmol perjam yaitu pada penambahan NaCl sebesar 2%. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa penambahan NaCl sebesar 2% merupakan batas toleransi salinitas untuk kapang GM dalam menghasilkan enzim fosfatase terbesar dimana untuk penambahan NaCl diatas 2% enzim fosfatase yang dihasilkan akan semakin kecil

Berdasarkan Grafik (Gambar 3b) diketahui bahwa penambahan NaCl menghambat kapang MS dalam menghasilkan enzim fosfatase yaitu semakin banyak NaCl yang ditambahkan akan semakin menurunkan nilai aktivitas enzim fosfatase yang dihasilkan walaupun penurunannya tidak terlalu signifikan dimana aktivitas enzim fosfatase terendah dihasilkan pada penambahan NaCl tertinggi (NaCl 20%) yang hanya mampu menghasilkan enzim dibawah 0,3 mmol perjam sedangkan aktivitas enzim optimum yang dihasilkan kapang MS sebesar 0,604

mmol perjam yaitu tanpa penambahan NaCl (NaCl 0%).

Menurunnya aktivitas enzim karena penambahan kadar NaCl yang tinggi akan menyebabkan tekanan osmotik yang tidak seimbang sehingga menyebabkan sel kapang mengalami kekeringan dan lisis sehingga lambat laun akan mati [2]. Hal tersebut secara langsung akan menurunkan aktivitas enzim fosfatase yang dihasilkan.

#### d. Fosfat Terlarut

Berdasarkan hasil pengukuran (Gambar 4) diketahui bahwa kapang GM dan kapang MS mampu melarutkan fosfat pada berbagai tingkat salinitas. Penambahan NaCl baik pada kapang GM maupun kapang MS akan menurunkan kadar fosfat terlarut yang dihasilkan. Menurunnya aktivitas enzim karena penambahan kadar NaCl yang tinggi akan menyebabkan tekanan osmotik yang tidak seimbang sehingga menyebabkan sel kapang mengalami kekeringan dan lisis sehingga lambat laun akan mati [2]. Hal tersebut secara langsung akan menurunkan jumlah fosfat yang terlarut.

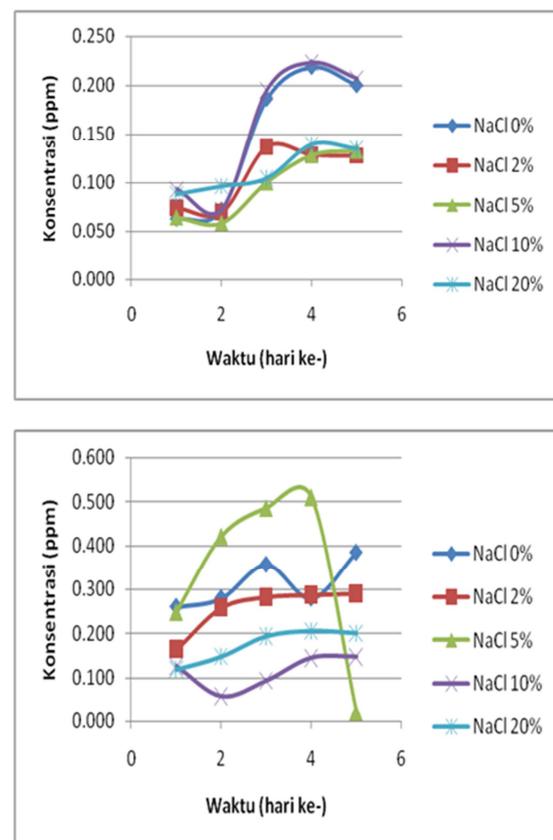
Dari data aktivitas enzim fosfatase dan fosfat terlarut (Gambar 3 dan Gambar 4) diketahui bahwa pola grafik antara aktivitas enzim fosfatase dengan fosfat terlarut hampir sama karena aktivitas enzim fosfatase merupakan indikator mikroba dalam kemampuannya melarutkan fosfat yaitu jika enzim fosfatase yang dihasilkan besar maka fosfat terlarut yang dihasilkan juga besar.

#### e. Hormon *Indoleacetic Acid*

Berdasarkan grafik (Gambar 5) diketahui bahwa penambahan NaCl tidak menghambat atau menurunkan kemampuan kapang GM maupun MS dalam menghasilkan hormon IAA dimana pada kapang GM hormon IAA tertinggi dihasilkan pada penambahan NaCl sebesar 10% yaitu pada hari ke-4 sebesar 0,223 ppm sedangkan pada kapang MS hormon IAA

tertinggi dihasilkan pada penambahan NaCl sebesar 5% juga pada hari ke-4 sebesar 0,510 ppm Hal ini karena kapang tersebut memiliki mekanisme khusus untuk beradaptasi pada kondisi *salt stress*. Kemampuan untuk menjalankan mekanisme adaptasi pada kondisi *salt stress* mengakibatkan batas toleransi salinitas yang berbeda-beda pada setiap jenis isolat [6].

Berdasarkan grafik (Gambar 5) diketahui juga bahwa hormon IAA optimum pada berbagai salinitas baru terjadi pada hari ke-4 baik pada kapang GM maupun MS. Hal tersebut dimungkinkan bahwa energi yang terbentuk sebagian digunakan terlebih dahulu untuk pembentukan biomassa sebelum memproduksi hormon IAA secara utuh.



Gambar 5. Grafik Hormon Pertumbuhan IAA (a) Hormon Pertumbuhan IAA yang Dihasilkan oleh Kapang GM (a) Hormon Pertumbuhan IAA yang Dihasilkan oleh Kapang MS

#### IV. Kesimpulan Dan Saran

##### Kesimpulan

Kapang GM cenderung lebih toleran terhadap salinitas karena adanya penambahan NaCl tidak menurunkan aktivitas kapang tersebut, berbeda halnya dengan kapang MS dimana semakin besar kadar NaCl aktivitas kapang tersebut akan semakin menurun.

##### Saran

Perlu dilakukan pencarian mikroba potensial selain kapang yang toleran terhadap

salinitas dengan aktivitas yang lebih besar untuk diaplikasikan langsung ketanaman.

#### V. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan segalanya pada penulis, kedua orang tua, Drs. Suhartono, M.Kes., Prof Dr I Made Sudiana, M.Sc., Kepala bidang Mikrobiologi dan seluruh staf Puslit Mikrobiologi LIPI yang telah banyak membantu.

#### Daftar Pustaka

- [1] Sari, N.A., Fauziah, R.N. dan Nurbaety, A.T. 2009. Pengaruh Suhu dan Salinitas terhadap Viabilitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Bacillus* sp. Bogor : IPB.
- [2] Wichern, J., Wichern, F. and Joergensen, R.G. 2006. Impact of Salinity on Soil Microbial Communities and the Decomposition of Maize in Acidic Soil. *Geoderma*. 137: 100-108.
- [3] Simanungkalit, R.D.M. 2006. Prospek Pupuk Organik dan Hayati. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Dalam: Simanungkalit, R.D.M., Suriadikarta, D.A., Saraswati, R., Setyorini, D. & Hartatik, W. (eds.). 2006. Pupuk Organik dan Pupuk Hayati: Organic Fertilizer and *Biofertilizer*. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian: iii + 283 hal.
- [4] Karlen D.L., Hurley, E.G. and Mallarino, A.P. 2006. Crop Rotation on Soil Quality at Three Northern Corn/Soybean Belt Location. *Agron. J.* 98:484-495.
- [5] Saraswati, R. 1999. Teknologi Pupuk Mikroba Multiguna Menunjang Keberlanjutan Sistem Produksi Kedelai. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 4(1):1-9.
- [6] Petrovic, A., Gunde-Cimerman, N. and Plemenitas, A. 1999. *Salt stress* Affects Sterol Biosynthesis in the Halophilic Black Yeast *Hortaea Werneckii*. *FEMS Microbiology Letters* 180 (1999) 325-330.
- [7] Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. Jakarta : UI Press.