

Endophytic Fungi from Simpei Fern Rhizomes and Its Phosphate Solubilization Activity

Cendawan Endofit dari Rimpang Tumbuhan Pakis Simpei dan Aktivitas Pelarut Fosfat

Windi Nopitasari¹, Dezi Handayani^{1*}, Linda Advinda¹, Irdawati¹

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

* Correspondence author: dezihandayani3252@gmail.com

Abstract

Phosphate is very abundant in the soil, but only a small amount was dissolved. Some fungi have the ability to dissolve phosphates. This fungi is expected to overcome the excessive use of phosphate fertilizers. Those fungi usually found in soil or rhizosphere and sometimes they are endophytic. Rhizome of the simpei fern has endophytic fungi and its phosphate solubilizing activity was not known yet. This study aims to isolate endophytic fungi from rhizome of the simpei fern and to determine its phosphate solubilizing activity. Samples of simpei fern rhizome were taken from Nagari Aka Barayun, Harau District, Lima Puluh Kota District, West Sumatra. Surface sterilization using 0.5% NaOCl. The isolation medium for endophytic fungi used PDA medium and the phosphate solvent activity test used Pikovskaya medium. Six isolates of endophytic fungi were successfully isolated from the rhizome of the simpei fern and only three isolates were able to dissolve phosphate. The isolates are isolates R4, R5, and R6. Phosphate solubilizing activity of isolate R5 was higher than other isolates, although all isolates had a low phosphate solubility index.

Key words : Endophytic fungi, Phosphate solvents, Chimpanzee ferns

Abstrak

Fosfat sangat melimpah dalam tanah, namun hanya sedikit yang terlarut. Beberapa cendawan memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat. Cendawan ini diharapkan dapat mengatasi penggunaan pupuk fosfat yang berlebihan. Cendawan tersebut biasanya terdapat di tanah atau rhizosfer dan terkadang bersifat endofit. Rimpang tumbuhan pakis simpei memiliki cendawan endofit dan belum diketahui aktivitas pelarut fosfatnya. Penelitian ini bertujuan mengisolasi cendawan pelarut fosfat dari rimpang tumbuhan pakis simpei dan mengetahui aktivitas pelarut fosfatnya. Sampel rimpang tumbuhan pakis simpei diambil dari Nagari Aka Barayun, Kecamatan Harau, Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. Sterilisasi permukaan menggunakan NaOCl 0,5%. Medium isolasi cendawan endofit menggunakan medium PDA dan uji aktivitas pelarut fosfat menggunakan medium Pikovskaya. Enam isolat cendawan endofit berhasil diisolasi dari rimpang tumbuhan pakis simpei dan hanya tiga isolat yang mampu melarutkan fosfat. Isolasi tersebut adalah isolat R4, R5, dan R6. Aktivitas pelarut fosfat isolat R5 lebih tinggi daripada isolat lainnya, walaupun demikian semua isolat memiliki indeks kelarutan fosfat yang tergolong rendah.

Kata kunci : Aktivitas pelarut fosfat , Cendawan endofit, Pakis simpei

Pendahuluan

Fosfat merupakan nutrisi penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Tanaman menyerap fosfor dalam bentuk H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-} (Ullrich-Eberius *et al.*, 1984). Namun, sekitar 95-99% keberadaan fosfat di dalam tanah tidak larut dan tidak dapat diserap oleh tanaman (Son *et al.*, 2006), karena fosfat sangat reaktif dan terikat dengan Ca, Mg, Fe dan Al (Sharma *et al.*, 2011). Sekitar 75-90% fosfat pada pupuk tidak dapat diserap tumbuhan akibat terjadinya pengendapan oleh unsur logam (Dandessa & Bacha, 2018). Kekurangan fosfat pada tanaman dapat menyebabkan terganggunya pertumbuhan akar dan terhambatnya penyerapan unsur hara bagi tanaman (Elfiati *et al.*, 2021). Tanaman yang kekurangan fosfat ditandai oleh daun tua berwarna keunguan atau kemerahan (Campbell *et al.*, 2002). Ketersediaan fosfat bagi tanaman dapat diatasi dengan menggunakan pupuk fosfat. Namun, penggunaan pupuk yang terus menerus memberikan dampak negatif seperti terganggunya keanekaragaman mikroba, hilangnya kesuburan tanah dan mengakibatkan penurunan hasil tanaman (Sharma *et al.*, 2013).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengurangi penggunaan pupuk fosfat adalah memanfaatkan mikroba endofit yang terdapat didalam jaringan tumbuhan. Mikroba endofit terdiri dari bakteri dan cendawan (Wilson, 1995). Cendawan berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman (Zani & Anhar, 2021), serta mampu menginduksi ketahanan penyakit pada tanaman (Syahputra & Anhar). Rmn *et al.*, (1983) menyatakan cendawan memiliki kemampuan melarutkan fosfat lebih tinggi daripada bakteri. Cendawan endofit diketahui memiliki enzim fosfatase yang dapat mengubah fosfat yang tidak larut menjadi bentuk terlarut dan dapat diserap oleh tanaman (Elfianti, 2005). Cendawan endofit pelarut fosfat biasanya ditemukan pada daerah rizosfer tanaman (Rao, 1994) atau yang berada di permukaan tanah hingga 25 cm seperti bagian rimpang.

Tumbuhan pakis simpei (*Cibotium barometz* (L.) J. Sm) dimanfaatkan sebagai bahan obat bagi masyarakat (Wu & Yang, 2009). Tumbuhan pakis simpei memiliki rimpang yang ditutupi oleh rambut halus berwarna kuning keemasan (Rugayah *et al.*, 2017). Rimpang tumbuhan pakis simpei diketahui mengandung senyawa asam organik yang dapat melarutkan fosfat (Jia *et al.*, 1996). Asam organik akan melepaskan fosfat yang terikat melalui gugus hidroksil dan karboksilnya (Sharma *et al.*, 2013).

Isolat cendawan endofit URT 4 dan URT 3 dari rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki kemampuan melarutkan fosfat (Wicaksono, 2019). Handayani *et al* (2018), berhasil mengisolasi 7 isolat cendawan endofit dari akar tanaman padi, dan satu isolat memiliki kemampuan melarutkan fosfat dengan indeks kelarutan sebesar 20.45%. Pelawi & Handayani (2021), berhasil mengisolasi 7 cendawan endofit dari rizosfer tanaman temulawak dan isolat RTM3 memiliki indeks kelarutan fosfat sebesar 5.319. Handayani *et al.*, (2011), menyatakan *Penicillium* sp. dan *Aspergillus* sp. memiliki aktivitas pelarut fosfat dengan indeks kelarutan fosfat sebesar 0.69 dan 0.35. Berdasarkan uraian diatas, cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei mungkin memiliki aktivitas pelarut fosfat.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2023 di Laboratorium Penelitian Biologi Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital, *erlenmeyer*, *beaker glass*, *hot plate stirrer*, *autoclave*, cawan petri, jarum ose, jangka sorong, dan kamera digital. Bahan yang digunakan adalah isolat cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei aquades, alkohol 70%, dextrose, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4\text{H}_2\text{O}$, K_2SO_4 , MnSO_4 , H_2O , FeSO_4 , *yeast extract*, agar, *tissue*, kapas, *wrapping*, kain kasa, dan spiritus .

Pembuatan medium PDA dan Pikovskaya

Medium PDA ditimbang sebanyak 9,75 dan dilarutkan dengan aquades sampai volumenya 250 mL kedalam Erlenmeyer. Selanjutnya medium dilarutkan dan dihomogenkan diatas *hotplate stirrer*. Sterilisasi medium dalam *autoclave* pada suhu 121 tekanan selama 15 menit. Setelah sterilisasi, tambahkan *ampicillin* dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kemudian tuang ke *petridish* dan diinkubasi selama 24 jam.

Medium pikovskaya dibuat dengan memasukkan 10 gram *dextrose*, 0,2 gram $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 0,5 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 gram $\text{MgSO}_4\text{H}_2\text{O}$, 0,2 gram KCL, 0,5 gram NaCl, 0,002 gram MnSO_4 , 0,002 gram FeSO_4 , 0,5 gram *yeast extract* dan 15 gram Agar kedalam *erlenmeyer*. Kemudian larutkan aquades hingga volumenya 1000 ml, lalu

panaskan medium menggunakan *hotplate with stirrer* hingga mendidih dan homogen. Sterilisasi medium dalam autoclave pada suhu 121°C tekanan selama 15 menit.

Isolasi dan Pemurniaan Cendawan

Sampel rimpang dicuci dengan air mengalir, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan direndam dalam alcohol 70% selama 30 detik, dibilas dengan aquades sebanyak 5 kali, direndam dalam NaOCl 0,05% selama 30 detik dan dibilas kembali dengan aquades sebanyak 5 kali. Setelah sterilisasi permukaan, potong sampel dengan ukuran 1x1 cm dan ditanam langsung pada medium Potato Dextrose Agar (PDA) yang telah ditambah ampicillin dengan konsentrasi 10 µg/mL dan dinkubasi pada suhu ruang selama 5-21 hari. Setiap ada pertumbuhan cendawan dengan morfologi berbeda dipindahkan ke media PDA baru untuk mendapatkan isolat murni.

Uji Aktivitas Pelarut Fosfat

Isolat cendawan endofit dipotong dengan diameter 0,5 cm menggunakan sedotan steril dan dipindahkan ke tengah medium pikovskaya. Pada satu medium diletakkan 3 isolat cendawan dan diinkubasi di suhu ruang. Selanjutnya diameter zona bening dan diameter koloni diukur selama 7 hari. Indeks kelarutan fosfat dihitung berdasarkan rumus berikut:

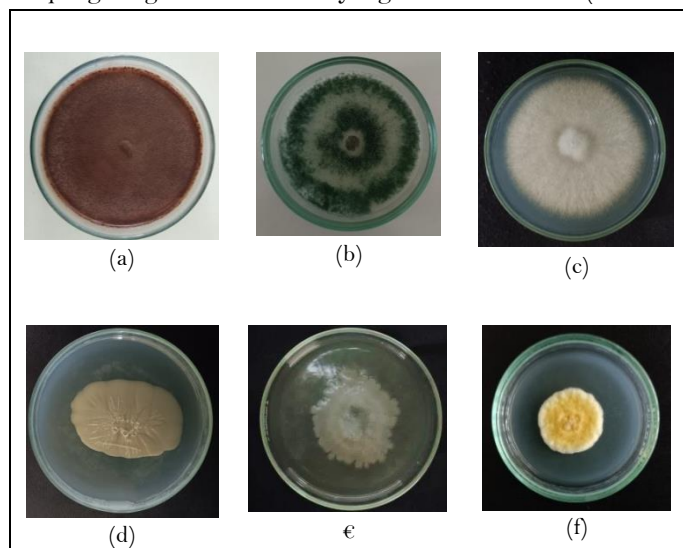
$$IKF = \frac{B - A}{A}$$

Keterangan :

- IKF : Indeks Kelarutan Fosfat
 B : Rata-rata diameter zona bening
 A : Rata-rata diameter zona koloni

Hasil dan Pembahasan

Sebanyak enam isolat cendawan endofit berhasil diisolasi dari rimpang tumbuhan pakis simpei. Morfologi setiap isolat ditampilkan pada Gambar 1. Jumlah ini lebih banyak daripada cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari rimpang paku kepala tupai (*Drynaria quercifolia* J. Smith) yang memiliki 5 isolat (Rusli & Rahmانيar, 2013), dan rimpang *Zingiber ottensii* Val. yang memiliki 2 isolat (Noverita *et al.*, 2009).

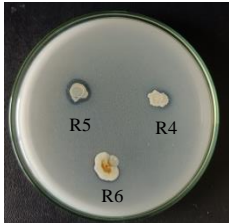


Gambar 1. Morfologi isolat cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei (*Cibotium barometz* (L) J. SM); (a) R1, (b) R2, (c) R3, (d) R4, (e) R5, dan (f) R6.

Pengamatan makroskopis menunjukkan isolat cendawan endofit R1, R2, R3, R6 tergolong pada kapang dan isolat R4 dan R5 tergolong khamir. Kapang dicirikan dengan adanya filamen-filamen yang disebut hifa dan memiliki spora (Benson, 2001). Pertumbuhan kapang mula-mula berwarna putih (Ali, 2005), setelah adanya spora akan terbentuk berbagai warna seperti kuning, jingga, coklat, merah, ungu, pink, hijau, hitam, dan hijau (Conn and Conn 1941). Sedangkan khamir merupakan cendawan bersel satu (Kavanagh, 2005), bentuk sel bulat, ukuran sel lebih besar dari bakteri, bereproduksi dengan cara pertunasan (Kurtzman, 1998), dan sebagian besar koloni menghasilkan lendir (Widiastutik, 2014).

Isolat R1, R2 dan R3 memiliki beberapa morfologi yang sama, seperti bentuk bulat, tekstur seperti kapas, dan pertumbuhan koloni yang cepat. Sedangkan R6 memiliki tekstur seperti granular dan pertumbuhannya lambat. Isolat R4 memiliki tekstur liat, tepi bergelombang, warna putih kecoklatan, dan pertumbuhan cepat. Isolat R5 memiliki tekstur yang licin, tepi bergerigi, warna putih kecoklatan dan berlendir.

Cendawan dikatakan mampu melarutkan fosfat apabila disekitar koloni yang tumbuh pada medium Pikovskaya terbentuk zona bening (Husen, 2003). Hasil uji aktivitas pelarut fosfat sebagian cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei ditampilkan pada Gambar 2. Cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei yang memiliki aktivitas pelarut fosfat hanya 3 isolat yaitu R4, R5, dan R6.



Gambar 2. Uji aktivitas cendawan endofit pelarut fosfat

Zona bening yang dihasilkan pada uji aktivitas cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei terlihat jelas, namun tidak terlalu besar. Zona bening yang paling besar dihasilkan oleh isolat R5. Cendawan pelarut fosfat yang paling baik yaitu memiliki diameter zona bening yang besar dan proses pelarutan fosfat yang tergolong cepat (Ginting *et al*, 2006). Indeks kelarutan fosfat yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit ditunjukkan oleh Tabel 1. Indeks kelarutan fosfat cendawan endofit dari tumbuhan pakis simpei berkisar antara 0,19 hingga 0,49 selama lima hari inkubasi.

Tabel 1. Indeks kelarutan fosfat cendawan endofit dari rimpang tumbuhan pakis simpei

Kode isolat	Indeks Kelarutan Fosfat (IKF) (mm)				
	1	2	3	4	5
R4	-	-	0.32	0.19	0.19
R5	0.43	0.44	0.47	0.49	0.49
R6	-	-	-	0.25	0.26

Keterangan: * (-): tidak ada zona hambat

Zona bening yang dihasilkan oleh ketiga isolat memiliki aktivitas yang berbeda-beda. Isolat R4 menghasilkan zona bening pada hari-3, hari pertama untuk isolat R5, dan hari ke-4 untuk isolat R6. Zona bening yang dihasilkan oleh isolat R5 cenderung stabil setiap hari. Sementara itu, isolat R4 mengalami penurunan pada hari ke-4. Penurunan kelarutan fosfat pada waktu inkubasi dapat disebabkan oleh cendawan yang memanfaatkan fosfat termobilisasi untuk pertumbuhannya (Muleta, 2010). Indeks kelarutan fosfat terbesar dihasilkan oleh isolat R5 pada hari ke-4 yaitu 0,49 mm. Adanya perbedaan nilai indeks kelarutan fosfat tiap isolat disebabkan oleh adanya perbedaan jenis, jumlah dan laju difusi asam organik (Elfianti *et al.*, 2021). Marra *et al.*, (2011) menyatakan kategori kekuatan pelarut fosfat sebagai berikut: <2,00 tergolong rendah, 2,00 ≤ IKF ≤ 4,00 tergolong sedang dan >4,00 tergolong tinggi. Berdasarkan kriteria ini, aktivitas pelarut fosfat yang dihasilkan ketiga isolat cendawan dari rimpang tumbuhan pakis simpei tergolong rendah.

Ucapan Terima Kasih

Ungkapan terima kasih ditujukan kepada pembimbing dan rekan-rekan yang berpartisipasi dalam penelitian dan penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Ali, A. 2005. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*. Makasar: UNM Press.
- Campbell. N.A. & J.B. Reece. 2002. *Biologi Eight Edition*. San Fransisco: Pearson Education
- Conn, H. J., & Conn, J. E. 1941. Value of Pigmentation in Classifying Actinomycetes. *Journal of Bacteriology*, 42(6): 791-799.
- Dandessa, C., & Bacha, K. 2018. Review on Role of Phosphate Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agriculture. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 6(11): 48-55.
- Elfiati, D., Delvian, Hanum, H., Susilowati, A., & Rachmat, H. H. 2021. Potential of Phosphate Solubilizing Fungi Isolated from Peat Soils as Inoculant Biofertilizer. *Biodiversitas*, 22(6): 3042-3048.
- Ginting, R. C., Badia, R. Saraswati & E.F. Husen. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor.
- Handayani, D. 2011. Potensi Aspergillus dan Penicillium Asal Serasah Dipterocarp sebagai Endosimbion Akar Pelarut Fosfat. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Handayani, D., Fifendy, M., & Yesni, V. 2018. Isolation of Phosphate Solubilizing Endophytic Fungi from Rice Plant Root. *Bioscience*, 2(1), 93.
- Husen E. 2003. Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities invitro. *Indonesian J. Agric. Sci*, 4(1):27-31.
- Jia TZ, Li J, Xie SQ, & Zhang JP. 1996. Comparative Research on the Constituents of the Volatile Oil in Rhizome of *Cibotium barometz* (L.) J. Sm and Processed Product. *Journal of Chinese Materia Medica*, 21(4): 216-217.
- Muleta D. Legume responses to arbuscular mycorrhizal fungi inoculation in sustainable agriculture. 2010. *Microbes for Legume Improvement*. Springer: 293-323.
- Pelawi, S. P., & Handayani, D. 2021. Isolasi Cendawan Endofit Pelarut Fosfat dari Rizosfer Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Prosiding SEMNAS Biologi Universitas Negeri Padang*, 1(2), 1-5.
- Rao, N. S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertanaman Tanaman*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Rmn K. Phosphate-Solubilizing Bacteria and Fungi in Various Cultivated and Virgin Alberta Soils. 1983. *Can J Soil Sci*, 63(4):671-678.
- Rugayah, Yulita, K. S., Arifiani, D., Rustiami, H., & Girmasnyah, D. (Eds.). 2017. *Tumbuhan Langka Indonesia*. Bogor: LIPI Press.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. 2013. Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. *Springer Plus*, 2(1): 1-14 .
- Sharma, S., Kumar, V., & Tripathi, R. B. 2011. Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganism (PSMs) From Soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research Scholars*, 1(2): 90-55.
- Son H.-J., Park G.-T., Cha M.-S., & Heo M.-S. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant Pantoea agglomerans R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresource Technology*, 97(2):204-210.
- Syahputra, M. H., dan Anhar, A. 2017. Isolasi Trichoderma spp. dari Beberapa Rhizosfer Tanaman Padi Asal Solok. *Berkala Ilmiah Bidang Biologi*. 1(2): 97-105
- Ullrich-Eberius C.I., Novacky A., & van Bel A.J. E. 1984. Phosphate uptake in Lemna gibba G1: energetics and kinetics. *Planta*. 161:46-52.
- Wicaksono, S. T. 2019. Isolasi Fungi Endofit Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) sebagai Pelarut Fosfat dan Penghasil Fitohormon Auksin Indole-3-Acetic Acid. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Wilson, D. 1995. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos*, 73(2): 274-276.

-
- Wu, Q., & Yang, X. W. 2009. The Constituents of *Cibotium barometz* and Their Permeability in the Human Caco-2 Monolayer Cell Model. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(3), 417–422.
- Yadav J, Verma JP, & Tiwari KN. 2011. Solubilization of Tricalcium Phosphate by Fungus *Aspergillus niger* at Different Carbon Sources and Salinity. *Trends Appl Sci Res*, 6 (6): 606-613.
- Zani, R. Z., & Anhar, A. 2021. Respon *Trichoderma* spp. Terhadap Indeks Vigor Benih dan Berat Kering Kecambah Padi Varietas Sirandah Batumpua. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*. 8(1): 1-6.