

# Isolation of Phosphate Recruiting Endophytic Fungi from the Leaves of the Symphony Fern Plant (*Cibotium Barometz* (L.) J.Sm)

## Isolasi Cendawan Endofit Pelarut Fosfat Dari Daun Tumbuhan Pakis Simpei (*Cibotium Barometz* (L.) J.Sm)

Safira Nurul Fadila<sup>1</sup>, Dezi Handayani<sup>1\*</sup>, Azwir anhar<sup>1</sup>, Violita<sup>1</sup>

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

\*Correspondence author: [dezihandayani3252@gmail.com](mailto:dezihandayani3252@gmail.com)

### Abstract

Phosphate is one of the elements needed in large quantities for plant growth and development. Phosphate can be found in soil, but generally in the form of bound phosphate, so that it cannot be used by plants. Generally, farmers overcome the availability of phosphate for plants using phosphate fertilizer, but this method is not effective. Another alternative is needed to overcome the availability of phosphate in the soil. One alternative that can be used is to use phosphate-solubilizing endophytic fungi. Phosphate-solubilizing endophytic fungi can be isolated from the leaves of the Simpei fern (*Cibotium barometz* (L.) J.Sm.). The Simpei fern plant contains organic acids, so endophytic fungi isolated from the leaves of the Simpei fern plant are expected to produce the same organic acids and be able to dissolve phosphate. Therefore, this study aims to determine the phosphate solubilizing activity of the leaves of the Simpei fern plant. The samples used were the leaves of the symbiotic fern. The fungus obtained was tested using Pikovskaya medium. Phosphate solubilizing activity is characterized by the formation of a clear zone around the fungus colony. Six isolates of endophytic fungi from the Simpei fern plant were obtained, namely D1, D2, D3, D4, D5, and D6. Two isolates have phosphate solubilizing activity, namely isolates D2 and D4. The highest phosphate solubility index was shown by isolate D2 on the first day of 0.8. The phosphate solubility index of all isolates is low.

**Key words:** *Endophytic fungi, fosfat, isolated, activity*

### Abstrak

Fosfat merupakan salah satu unsur yang dibutuhkan dalam jumlah besar untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Fosfat dapat ditemukan dalam tanah, namun umumnya dalam bentuk fosfat terikat sehingga tidak dapat digunakan tanaman. Umumnya petani mengatasi ketersediaan fosfat bagi tanaman menggunakan pupuk fosfat, namun cara ini tidak efektif. Dibutuhkan alternatif lain dalam mengatasi ketersediaan fosfat dalam tanah. Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah menggunakan cendawan endofit pelarut fosfat. Cendawan endofit pelarut fosfat dapat diisolasi dari daun tumbuhan pakis simpei (*Cibotium barometz* (L.) J.Sm). Tumbuhan pakis simpei mengandung asam organik sehingga cendawan endofit yang diisolasi dari daun tumbuhan pakis simpei diharapkan menghasilkan asam organik yang sama dan mampu melarutkan fosfat. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas pelarut fosfat dari daun tumbuhan pakis simpei. Sampel yang digunakan adalah bagian daun tumbuhan pakis simpei. Cendawan yang didapatkan diuji menggunakan medium *Pikovskaya*. Aktivitas pelarut fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni cendawan. Didapatkan 6 isolat cendawan endofit dari tumbuhan pakis simpei yaitu D1, D2, D3, D4 D5 dan D6. Dua isolat memiliki aktivitas pelarut fosfat yaitu isolat D2 dan D4. Indeks kelarutan fosfat tertinggi ditunjukkan oleh isolat D2 pada hari pertama sebesar 0,8. Indeks kelarutan fosfat semua isolat tergolong rendah.

**Kata kunci:** *Cendawan endofit, fosfat, isolat, aktivitas*

## Pendahuluan

Fosfat merupakan salah satu unsur yang dibutuhkan dalam jumlah besar untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Tanaman umumnya menyerap fosfat dalam bentuk ion yaitu  $H_2PO_4^-$  dan  $HPO_4^{2-}$  (Havlin *et al.*, 1999). Fosfat dapat ditemukan dalam tanah, namun umumnya dalam bentuk fosfat terikat dan hanya 0,1 hingga 0,5% yang dapat digunakan oleh tanaman (Pradhan & Sukla 2005). Umumnya petani mengatasi ketersediaan fosfat bagi tanaman menggunakan pupuk fosfat, namun cara ini tidak efektif karena pupuk fosfat lama - kelamaan akan bereaksi dengan besi, aluminium dan mangan pada tanah asam dan kalsium pada tanah basa dan alkalin, selanjutnya hujan deras akan menyebabkan terjadi reaksi yang merubah fosfat menjadi tidak tersedia dalam tanah sehingga tidak dapat diserap oleh tanaman (Podile and Kishore, 2006; Yasser *et al.*, 2014). Selain itu, penggunaan pupuk fosfat dapat merusak lingkungan, sehingga dibutuhkan alternatif lain dalam mengatasi ketersediaan fosfat dalam tanah. Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah menggunakan mikroba endofit. Mikroba endofit adalah organisme (bakteri dan cendawan) yang hidup di dalam jaringan tumbuhan (Ningsih *et al.* 2013).

Perkembangan bioteknologi berupaya memanfaatkan mikroba yang dijadikan biofertilizer untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman (Aldo dan Anhar, 2021; Nasution dan Fauzi, 2014; Zani dan Anhar, 2021). Salah satu mikroba endofit yang mampu melarutkan fosfat adalah cendawan endofit pelarut fosfat. Handayani *et al.*, (2018) berhasil mengisolasi satu cendawan endofit pelarut fosfat dari akar tanaman padi, isolat (P2B3) mampu melarutkan fosfat dengan indeks kelarutan fosfat sebesar 20,45%. Pelawi dan Handayani (2021) juga berhasil mengisolasi satu cendawan endofit pelarut fosfat dari rhizosfer tanaman temulawak, isolat RTM3(3) mampu melarutkan fosfat dengan indeks kelarutan fosfat sebesar 5,319. Handayani (2011) menyatakan *Aspergillus* dan *Penicillium* mampu melarutkan fosfat dengan indeks kelarutan fosfat berturut-turut sebesar 0,69 dan 0,35.

Cendawan endofit pelarut fosfat dapat diisolasi dari berbagai bagian tumbuhan. Tumbuhan pakis simpei dimanfaatkan oleh masyarakat Tiongkok sebagai bahan obat (Jennifer *et al.*, 2013). Hasil identifikasi bagian dari pakis simpei yang dimanfaatkan yaitu daun, trikoma, batang, akar, rimpang. Bagian tumbuhan yang sering digunakan sebagai sumber cendawan endofit yaitu daun. Noverita *et al.*, (2009) menyatakan daun memiliki sumber nutrisi yang paling besar yang mampu mendukung pertumbuhan cendawan endofit. Haniah (2008) yang berhasil mengisolasi 9 isolat cendawan endofit dari daun sirih (*Piper betle* L.). Hartati *et al.*, (2016) melaporkan tumbuhan pakis simpei yang diambil dari Sumatera Barat mengandung senyawa kimia fenol sebagai antioksidan. Daun pakis simpei diketahui memiliki manfaat sebagai antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid (Desie *et al.*, 2019). Selain itu, tumbuhan pakis simpei mengandung asam organik (Jia *et al.*,) sehingga cendawan endofit yang diisolasi dari daun tumbuhan pakis simpei diharapkan menghasilkan asam organik yang sama dan mampu melarutkan fosfat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas pelarut fosfat dari daun tumbuhan pakis simpei.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari sampai Maret 2023 di Laboratorium Penelitian Terpadu dan Laboratorium Biologi Dasar, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *autoclave*, *vortex*, pisau, *hot plate with stirer*, *laminar air flow*, mikroskop, timbangan digital, cawan petri, beaker glass, pinset, tabung reaksi, bunsen, gelas ukur, erlenmeyer, ose, batang segitiga, spidol, kaca objek, kaca penutup, gelas objek, penggaris, botol semprot, mikropipet, kamera digital, dan jangka sorong.

Sedangkan bahan yang digunakan yaitu tissue steril, plastik bening, *wrapping*, alkohol 70%, aquadest steril, natrium hipoklorit ( $NaOCl$ ), *Potato Dextrose Agar* (PDA), kain kasa, aluminium foil, kapas, *dextrose*,  $Ca_3(PO_4)_2$ ,  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 4H_2O$ , KCL,  $NaCl$   $MnSO_4$ ,  $FeSO_4$ , *yeast extract* dan Agar, sampel dari daun tumbuhan pakis simpei.

### Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian daun tumbuhan pakis simpei, yang diambil dari Nagari Aka Barayun, Kecamatan Harau, Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. Sampel rimpang dibersihkan dan segera diproses di Laboratorium Penelitian Biologi Universitas Negeri Padang.

### Isolasi Cendawan Endofit

Sampel rimpang dicuci dengan air mengalir, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan merendam dalam alkohol 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.

### Pemurnian Cendawan

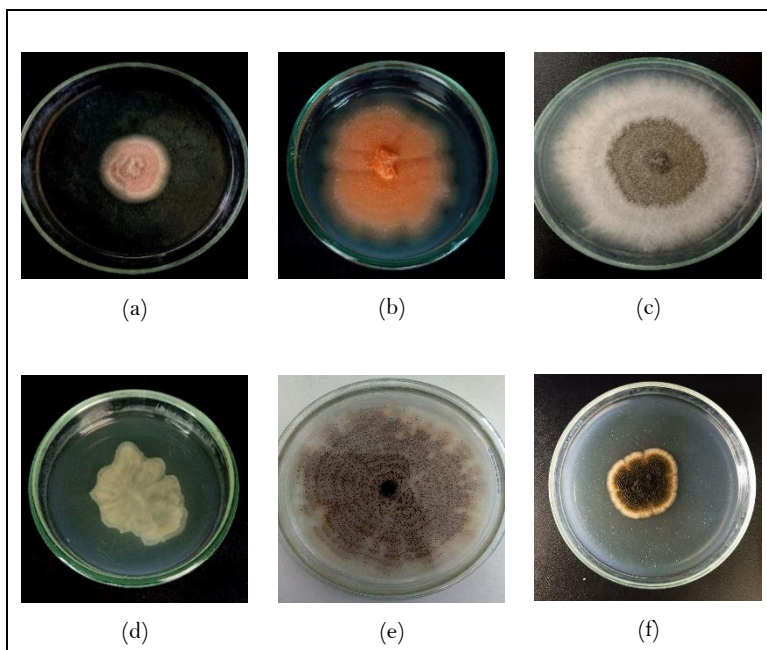
Setiap cendawan yang tumbuh dan memiliki morfologi yang berbeda dipindahkan ke medium PDA baru untuk dimurnikan. Pemandahan dilakukan secara berulang sampai didapatkan isolat murni.

### Uji Aktivitas Pelarut Fosfat

Isolat cendawan yang telah murni diuji potensi pelarut fosfatnya dengan medium *Pikovskaya*. Medium *Pikovskaya* tersebut dilarutkan menggunakan aquades steril hingga volume 1000 ml. Medium *Pikovskaya* kemudian dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras. Setiap cendawan yang murni ditumbuhkan pada media *Pikovskaya*. Isolat yang telah murni dipotong dengan diameter 0,5 cm menggunakan sedotan steril dan dipindahkan secara aseptik ke tengah medium *Pikovskaya* dan diinkubasi pada suhu ruang. Aktivitas pelarut fosfat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni cendawan, cendawan yang membentuk zona bening dihitung indeks kelarutan fosfat (IKF). IKF dihitung dengan cara rata-rata zona bening dikurang rata-rata zona koloni dan dibagi dengan rata-rata zona koloni.

## Hasil dan Pembahasan

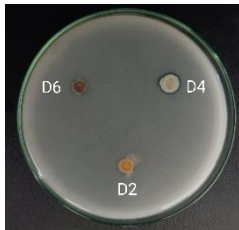
Berdasarkan hasil isolasi didapatkan 6 isolat cendawan endofit yaitu D1, D2, D3, D4 D5 dan D6. Isolat tersebut memiliki karakteristik morfologi makroskopis berbeda seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi cendawan endofit dari daun tumbuhan pakis simpei (*Cibotium barometz* (L.) J. Sm; (a) D1 (b) D2 (c) D3 (d) D4 (e) D5 (f) D6.

Isolat yang didapatkan pada penelitian ini memiliki morfologi yang berbeda-beda, dari 6 isolat 5 diantaranya merupakan kapang dan 1 khamir. Isolat D1 memiliki bentuk koloni bulat, berwarna ungu, tekstur seperti kapas dan permukaan halus. Isolat D2 memiliki bentuk koloni bulat, tepi tidak rata berwarna orange, tekstur seperti kapas dan permukaan halus. Isolat D3 bentuk koloni bulat, warna abu putih, tekstur seperti kapas dan permukaan halus. Isolat D4

bentuk koloni tidak beraturan, warna putih kekuningan, tekstur berlendir dan permukaan licin. Isolat D5 memiliki bentuk bulat, berwarna orange hitam, tekstur seperti kapas dan permukaan agak kasar. Isolat D6 memiliki bentuk koloni bulat, tepi tidak rata, berwarna hijau pekat dengan tepi berwarna orange, tekstur seperti kapas dan permukaan halus. Cendawan endofit dari daun tumbuhan pakis simpei yang memiliki aktivitas pelarut fosfat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji aktifitas cendawan pelarut fosfat

Cendawan endofit yang memiliki aktivitas pelarut fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni cendawan. Berdasarkan penelitian dari 6 isolat 2 diantaranya memiliki aktivitas pelarut fosfat yaitu isolat D2 dan D4. Cendawan yang memiliki aktivitas dihitung indeks kelarutan fosfatnya sesuai dengan rumus indeks kelarutan fosfat, sehingga didapatkan hasil seperti pada Tabel 1.

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

Kode Isolat	Indeks Kelarutan Fosfat (IKF) (mm)	
	1	2
D2	0,8	0,1
D4	0,4	0,1

Cendawan endofit pelarut fosfat dari daun tumbuhan pakis simpei memiliki IKF yang berkisar dari 0,1- 0,8. Indeks kelarutan fosfat tertinggi dihasilkan oleh isolat D2 pada hari pertama sebesar 0,8. Namun, pada hari ke-2, kedua isolat mengalami penurunan indeks kelarutan fosfat. Indeks kelarutan fosfat dikategorikan rendah jika memiliki indeks < 2,00, kategori sedang apabila indeks  $2,00 \geq \text{IKF} \geq 4,00$ , dan kaetegori tinggi jika memiliki indeks > 4,00 (Marra *et al.*, 2011). Berdasarkan kategori indeks kelarutan fosfat aktivitas pelarut fosfat semua cendawan tergolong rendah.

## Ucapan Terima Kasih

Ungkapan terima kasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah ikut berpartisipasi memberikan bantuan kepada penulis demi kelancaran penelitian dan penulisan artikel ini.

## Daftar Pustaka

- Aldo, W., dan Anhar, A. 2021 The Response of Isolate Trichoderma spp on Vigor Index of Local Rice Seeds Varieties Kuriak Kusuik. Prosiding SEMNAS BIO. 1-7.
- Desie, I., Arumsari, A., Miftah, A, M. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol Daun Paku Simpai (*Cibotium Barometz* (L.) J.Sm) dengan Metode Spektrofotometri Uv Vis. *Prosiding Farmasi*. 5 (2) : 373-378.
- Handayani, D. (2011). Potensi Aspergillus dan Penicillium asal Serasah Dipterocarp Sebagai Endosimbion Akar Pelarut Fosfat (*Tesis*). IPB, Bogor.
- Handayani, D., Fifendy, M., & Yesni, V. (2018). Isolation of Phosphate Solubilizing Endophytic Fungi From Rice Plant Root. *Bioscience*, 2(1), 93. <https://doi.org/10.24036/020182110043-0-00>
- Haniah, M. 2008. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) sebagai Antimikroba terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan Candida albicans. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.

- Hartati, S., and Ngatinem Praptosuwiryo, T. 2016. "Isolasi Kandungan Senyawa Kimia Isolasi Kandungan Senyawa Kimia dari Pakis Simpei (*Cibotium barometz*) serta Uji Bioaktivitas Antioksidan, Uji Toksisitas (BSLT) dan Antidiabetes Isolation of Chemical Compounds of Pakis Simpei (*Cibotium barometz*) and Bioactivity Test of Antioxidant, Toxicity (BSLT) and Antidiabetes. *Terap.Indones*, 18(1): 1–10.
- Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale, and W.L. Nelson. (1999). *Soil Fertility and Fertilizers. An Introduction to Nutrient Management*. 6th ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Jennifer, MO, Geigerpetra, KA, Ranker, AC. 2013. Molecular Phylogenetic Relationships of *Cibotium* and Origin of The Hawaiian Endemics. *Journal of American Fern Journal*. Vol. 103(3):141-152.
- Ningsih, A. P., dan Agustien, A. 2013. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kental tanaman pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi UNAND*, 2(3): 207-213.
- Noverita, 2009. Identifikasi Kapang dan Khamir Penyebab Penyakit Manusia pada Sumber Air Minum Penduduk pada Sungai Ciliwung dan Sumber Air Sekitarnya. *Vis Vitalis*, 2 (2): 15-19.
- Pelawi, S. P., & Handayani, D. (2021). Isolasi Cendawan Endofit Pelarut Fosfat dari Rizosfer Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Universitas Negeri Padang*, 1(1), 1–5.
- Podile AR, and Kishore GK. 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Plant-associated bacteria. Gnana-manickam SS, Ed. Springe :195-230.
- Pradhan N, Sukla LB. 2005. Solubilization of Inorganic Phosphates by Fungi Isolated from Agriculture Soil. *Afr J Biotechnol* 5(10):850-854.
- Yasser MM, Massoud ON, Nasr SH. 2014. Solubilization of Inorganic Phosphate by Phosphate Solubilizing Fungi Isolated from Egyptian soils. *Journal of Bio. and Earth Scie.* 4 (1): B83-B90.
- Zani, R. Z., dan Anhar, A. 2021. Respon *Trichoderma* spp. Terhadap Indeks Vigor Benih dan Berat Kering Kecambah Padi Varietas Sirindah Batumpua. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*. 8(1): 1-6.