

# Isolation of Phosphate Solubilizing Endophytic Fungi from Simpei Fern Roots (*Cibotium barometz* (L) J.Sm)

## Isolasi Cendawan Endofit Pelarut Fosfat dari Akar Tumbuhan Pakis Simpei (*Cibotium barometz*(L) J.Sm)

Celsi Ananda<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 solubilizing fungi are fungi that are able to change insoluble phosphate into free phosphate, so they can be uptake by plantse asily. Phosphate solubilizing fungi can be isolated from soil or rhizosphere or endophytic fungi. Endophytic fungi can be found on roots, stems or leaves of plants. Plant roots are a good habitat for phosphate solubilizing fungi, including simpei ferns (*Cibotium barometz* (L) J.Sm) roots. The aim of this study was to isolate the endophytic fungi from simpei ferns roots, and to determine its phosphate solubilizing ability. The research was carried out at the General Biology Laboratory of FMIPA UNP from January to March 2023. The sample of simpei fern roots was from Harau Valley, Harau District, Lima Puluh Kota Regency, West Sumatra. Potato Dextrose Agar (PDA) was used as an isolating medium and Pikovskaya as phosphate solubilizing assay. Surface sterilization using NaOCl 0,5%. The results showed that 6 pure isolates of the fungi were successfully isolated. There are two isolates that have phosphate solubilizing activity, namely AK5 and AK6. The greatest solubility index was obtained on the third day for AK5 and AK6 isolates. Solubilizing index was 0,2 and classified as low category.

**Keywords:** *Endophytic Fungi, Phosphate Solubilizing Activity, Simpei Ferns Roots*

### Abstrak

Cendawan pelarut fosfat merupakan cendawan yang mampu mengubah fosfat yang tidak larut menjadi fosfat bebas, sehingga dapat diserap oleh tanaman dengan mudah. Cendawan pelarut fosfat diisolasi dari tanah atau rizosfer, atau cendawan endofit. Cendawan endofit dapat ditemukan pada akar, batang atau daun tumbuhan. Akar tanaman merupakan habitat yang baik bagi cendawan pelarut fosfat, antara lain akar tumbuhan pakis simpei (*Cibotium barometz* (L) J.Sm). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi cendawan endofit dari akar tumbuhan pakis simpei, dan untuk mengetahui kemampuan melarutkan fosfatnya. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Umum FMIPA UNP pada bulan Januari hingga Maret 2023. Sampel akar tumbuhan pakis simpei berasal dari Lembah Harau, Kecamatan Harau, Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. Potato Dextrose Agar (PDA) digunakan sebagai media isolasi dan Pikovskaya sebagai uji pelarut fosfat. Sterilisasi permukaan menggunakan NaOCl 0,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 6 isolat murni cendawan berhasil diisolasi. Terdapat dua isolat yang memiliki aktivitas pelarut fosfat yaitu AK5 dan AK6. Indeks kelarutan terbesar diperoleh pada hari ketiga untuk isolat AK5 dan AK6. Indeks kelarutan adalah 0,2 dan tergolong kategori lemah.

**Kata kunci:** *Cendawan Endofit, Aktivitas Pelarut Fosfat, Akar Pakis Simpei*

## Pendahuluan

Fosfat adalah unsur makro yang bersifat esensial untuk tanaman yang memiliki manfaat sebagai sumber nutrisi terbesar dalam proses fisiologis tanaman (Campbell *et al.*, 2002). Fosfat dapat ditemukan didalam tanah berupa asam organik dan mineral (Schachtman *et al.*, 1998). Kandungan fosfat di dalam tanah cukup tinggi, namun hanya 0,1% sampai 0,5% dari jumlah fosfat yang dapat digunakan oleh tanaman (Pradhan & Sukla, 2006). Unsur hara fosfat sebagian terdapat dalam bentuk senyawa kompleks terikat oleh koloid tanah dan sulit mengalami degradasi sehingga menjadi endapan yang tertinggal dalam tanah (Suranti *et al.*, 2005; Yasser *et al.*, 2014). Umumnya petani menambahkan pupuk fosfat untuk mengatasi masalah kekurangan fosfat pada tanaman. Pemberian pupuk fosfat secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan lingkungan. Alternatif lain untuk mengatasi masalah ketersediaan fosfat adalah memanfaatkan cendawan pelarut fosfat (Suyono & Citraresmini, 2010).

Cendawan pelarut fosfat adalah mikroorganisme yang dapat melepaskan fosfat yang terikat oleh komponen tanah menjadi tersedia bagi tanaman dan berguna di bidang pertanian (Pelawi & Handayani, 2021). Cendawan pelarut fosfat memiliki keuntungan yaitu tidak mengandung racun, aman digunakan, ramah lingkungan dan mudah diperbanyak (Ouahmane *et al.*, 2007). Cendawan pelarut fosfat biasanya diisolasi dari tanah atau rizosfer, namun cendawan ini belum tentu kompatibel dengan tanaman inang, sehingga isolasi cendawan endofit terutama cendawan indigenous lebih baik karena memiliki kemampuan beradaptasi yang tinggi sehingga mampu menyediakan fosfat yang baik bagi tumbuhan (Gusnawaty *et al.*, 2014). Mekanisme cendawan dalam melarutkan fosfat terjadi secara biologis dan kimia. Mekanisme pelarutan fosfat secara biologis terjadi karena cendawan tersebut memiliki enzim fosfatase yang mampu memutus fosfat tidak tersedia menjadi fosfat tersedia sedangkan mekanisme secara kimia terjadi karena cendawan tersebut menghasilkan asam organik berupa asam sitrat, suksinat, glutamat dan oksalat (Hanafiah *et al.*, 2009).

Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi cendawan pelarut fosfat dari beberapa jenis tanaman. Handayani *et al.*, 2018 berhasil mengisolasi satu cendawan pelarut fosfat dari akar tanaman padi dengan indeks kelarutan 20,45%. Sedangkan (Syamsia, Abubakar Idhan, 2016) berhasil mengisolasi 12 isolat cendawan pelarut fosfat yang bervariasi antara 8,92 – 10,86 mgL/l dari tanaman pare lambau. Kemudian penelitian yg dilakukan (Pelawi & Handayani, 2021) berhasil mengisolasi 7 isolat dimana satu diantaranya berpotensi melarutkan fosfat yaitu isolat RTM3(3) dengan indeks kelarutan fosfat pada hari ke-1 yaitu 5,319. Berdasarkan uraian diatas, maka besar peluang untuk mendapatkan cendawan endofit yang berpotensi melarutkan fosfat dari akar tanaman jenis lainnya. Salah satunya dari akar tanaman pakis simpei. Untuk mendapatkan isolat cendawan endofit pelarut fosfat tersebut maka perlu dilakukan penelitian dengan judul Isolasi Cendawan Endofit Pelarut Fosfat dari Akar Pakis Simpei (*Cibotium barometz* (L) J.Sm ).

## Bahan dan Metode

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2023 di Laboratorium Biologi Umum 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 akar tumbuhan pakis simpei, aquades, alkohol 70%, dextrose,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4$ , *yeast extract* agar, *tissue*, kapas, wrapping, kain kasa, dan spiritus.

### Pembuatan medium PDA dan Pikovskaya

Sebanyak 9,75g medium PDA ditimbang dan dimasukkan kedalam *erlenmeyer* kemudian dilarutkan dengan aquades sampai volumenya 250 ml. Selanjutnya medium dilarutkan dan dihomogenkan di atas *hot plate stirrer*. Sterilisasi medium dalam *autoclave* pada suhu 102°C tekanan selama 15 menit. setelah sterilisasi

tambahkan *ampicillin* dengan konsentrasi 10µg/mL kemudian tuang ke cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam. Medium Pikovskaya dibuat dengan memasukkan 10g *dextrose*, 0,2g  $Ca_3(PO_4)_2$ , 0,5g  $(NH_4)_2SO_4$ , 0,1g  $MgSO_4 \cdot H_2O$ , 0,2g KCL, 0,5g Nacl, 0,002g  $MnSO_4$ , 0,002g  $FeSO_4$ . 0,5g yeast extract dan 15g agar ke dalam *erlenmeyer*. Kemudian dilarutkan dengan aquades hingga volumenya 1000 ml, lalu panaskan medium menggunakan *hot plate stirrer* hingga mendidih dan homogen. Sterilisasi medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C tekanan selama 15 menit.

### Isolasi dan Pemurnian Cendawan

Akar pakis *simpei* dicuci dengan air mengalir, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan direndam 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 ditambahkan *ampicillin* dengan konsentrasi 10µg/ mL dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5-21 hari. setiap ada pertumbuhan cendawan dengan morfologi berbeda dipindahkan ke dalam medium PDA baru untuk mendapatkan isolat murni.

### Uji Aktivitas Pelarut Fosfat

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

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

Keterangan:

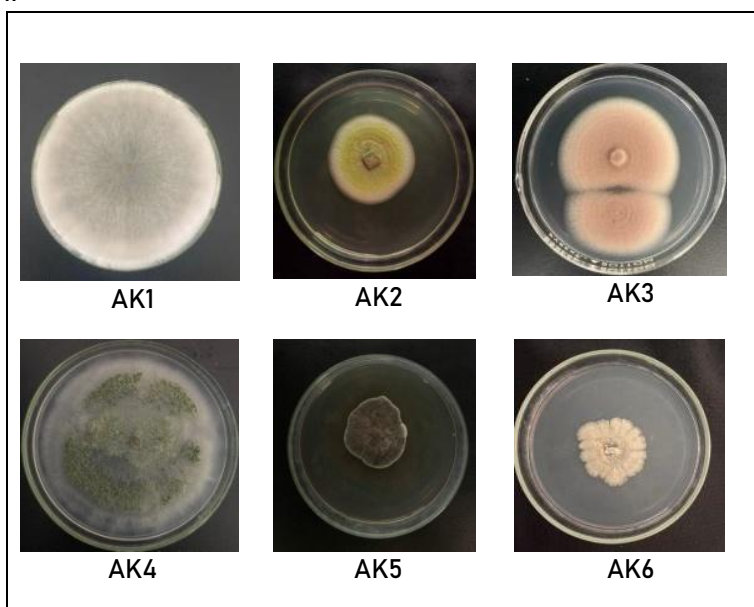
IKF: Indeks Kelarutan Fosfat

B: Rata-rata diameter zona bening

A: Rata-rata diameter zona koloni

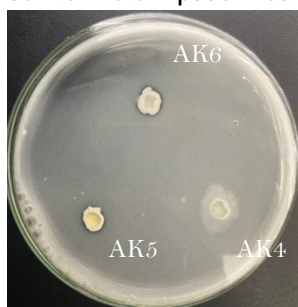
## Hasil dan Pembahasan

Cendawan endofit berhasil diisolasi dan dimurnikan dari akar tumbuhan pakis *simpei* sebanyak 6 isolat yang diberi nama AK1, AK2, AK3, AK4, AK5, dan AK6. Morfologi setiap isolat ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi isolat cendawan endofit dari akar tumbuhan pakis *simpei* (*Cibotium barometz* (L) J.Sm).

Akar merupakan habitat yang cocok untuk pertumbuhan cendawan endofit. Dalam penelitian ini, diperoleh 6 isolat cendawan endofit dari akar tanaman pakis simpei. Berdasarkan morfologi makroskopis yang teramati, 5 isolat cendawan tergolong kedalam kelompok kapang dan satu isolat (AK6) tergolong khamir. Kapang dan khamir merupakan jenis cendawan yang umum ditemukan sebagai cendawan endofit (Sartori *et al.*, 2005). Isolasi cendawan endofit dari akar berbagai tumbuhan telah dilakukan oleh beberapa peneliti dan didapatkan jumlah yang bervariasi. Handayani *et al.*, (2018) mendapatkan 7 jenis isolat cendawan endofit dari akar tanaman padi. Tirtana *et al.* (2013) memperoleh 8 isolat cendawan endofit dari akar tumbuhan kentang. Perbedaan jumlah yang berhasil diisolasi tersebut dikarenakan adanya proses adaptasi endofit dalam mikroekologi dan keadaan fisiologis yang spesifik dari setiap tanaman inang. Dalam satu jaringan ada banyak mikroba endofit namun hanya sebagian yang dominan pada satu inang (Kumala, 2019). Uji aktivitas pelarut fosfat yang dilakukan pada isolat akar tumbuhan pakis simpei menunjukkan bahwa terdapat 2 isolat yang memperlihatkan adanya aktivitas pelarut fosfat dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada medium *Pikovskaya* yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji aktivitas pelarut fosfat

Gambar 2. menunjukkan isolat AK5 dan AK6 menghasilkan zona bening di sekitar koloni yang mengindikasikan bahwa isolat AK 5 dan AK6 mampu memproduksi asam organik. Asam organik ini berdifusi di sekitar koloni sehingga warna medium yang awalnya putih susu berubah menjadi bening (Nautiyal, 1999). Adanya zona bening di sekitar koloni mengindikasikan bahwa kedua isolat ini mampu melarutkan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  yang terdapat pada medium *Pikovskaya*. Isolat AK4 tidak menghasilkan zona bening di sekitar koloni. Tidak terbentuknya zona bening di sekitar koloni belum tentu mengindikasikan bahwa isolat tersebut tidak mampu melarutkan fosfat. (Nautiyal, 1999) menyatakan bahwa penggunaan medium padat *Pikovskaya* memiliki keterbatasan. Banyak isolat yang tidak mampu menghasilkan zona bening pada medium *Pikovskaya*, tetapi ternyata mampu melarutkan fosfat dalam medium cair.

Indeks kelarutan fosfat setiap isolat yang mampu menghasilkan zona bening di sekitar koloni ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Indeks Kelarutan Fosfat Cendawan Endofit dari Akar Tumbuhan Pakis Simpei

Isolat	HariKe	Rata-Rata Zona Bening (mm)		IKF	Kategori IKF
		Zona Bening (B)	Koloni (A)		
AK5	1	7,4	6,1	0,2	Lemah
	2	8,7	6,9	0,2	Lemah
	3	8,7	7	0,2	Lemah
AK6	1	9,5	7,5	0,3	Lemah
	2	10,2	8,3	0,2	Lemah
	3	<b>10,8</b>	8,7	0,2	Lemah

Tabel 1 memperlihatkan bahwa kedua isolat sudah terbentuk mulai dari hari pertama inkubasi. Diameter zona bening sedikit bertambah berdasarkan waktu inkubasi. Rata-rata diameter zona bening yang terbesar

diperoleh pada hari ke-3 inkubasi (isolat AK6) tetapi diameter zona bening yang dihasilkan tidaklah besar. Indeks kelarutan fosfat kedua isolat tergolong lemah. Marra *et al.*, (2011) menyatakan bahwa indeks kelarutan fosfat terdiri atas 3 kategori yaitu kategori lemah (IKF <2,00), kategori sedang (2,00 ≥ IKF ≥ 4,00), dan kategori kuat (IKF >4,00). Adanya perbedaan nilai IKF pada setiap isolat dikarenakan adanya perbedaan jenis, jumlah dan laju difusi asam organik (Elfiati *et.al* 2021).

## 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

- Aisyah D. Suyono, A. D., & Citraresmini, A. (2010). Komposisi kandungan fosfor pada tanaman padi sawah (*oryza sativa* L.) Berasal dari pupuk p dan bahan organik phosphorus content in the lowland rice (*oryza sativa* L.) Derived from p-fertilizer and organic matter. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*, 12(3), 126–135.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., & Simon, E. (2002). The Body's Defenses. *Biology, Sixth Edition*. B. Wilbur (Ed), Pearson Education, Inc, San Fransisco.
- Elfiati, D., Delviani, Hanum, H., Susilowati, A., Rachmat, H.H. 2021. Potential of Phosphate Solubilizing Fungi Isolated from Peat Soils as Inoculant Biofertilizer. *Biodiversitas*.22(6).
- Fatma, M., Chatri, M., Fifendy, M., & Handayani, D. (2021). Effect of Papaya Leaf Extract ( *Carica papaya* L .) on Colony Diameter and Percentage of Growth Inhibition of *Fusarium oxysporum* Pengaruh Ekstrak Daun Pepaya ( *Carica papaya* L .) terhadap Diameter Koloni dan Persentase Penghambatan Pertumbuhan *Fusarium oxy*.6(2), 9–14.
- Gusnawaty, H. S., Taufik, M., Triana, L., dan Asniah. 2014. Karakteristik Morfologis *Trichoderma* Spp. Indigenus Sulawesi Tenggara. *Jurnal Agroteknos*. 4(2): 88–94.
- Hanafiah, A. S., Sabrina, dan Guchi. 2009. Biologi dan Ekologi Tanah. Medan :Universitas Sumatera Utara
- 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>
- Marra., L.M., de Oliveira, S.M., Soares, C.R.F.S. and de Souza Moreira, F.M. 2011. Solubilisation of inorganic phosphate by inoculant strains from tropical legumes. *Science Agriculture*. 68(5): 603–609, doi:10.1590/S0103-90162011000500015
- Nautiyal, C. Shekar. 1999. An Effecient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. *Elevier Science*.(170) 265–270.
- Ouahmane et al. 2007. Soil functional Diversity and P Solubilization from Rock Phosphate After Inoculation With Native Or Allochtonous Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Forest Ecology and Management*. 241(1–3): 200–208.
- 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.
- Pradhan, N., & Sukla, L. B. (2006). Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *African Journal of Biotechnology*, 5(10), 850–854.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., & Ayling, S. M. (1998). Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology*, 116(2), 447–453. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.447>
- Surantini, N. L. P. E., dan Darmayasa, I. B. G, and Ardiana, I.P. G. 2005. Uji Keberadaan dan Karakteristik Mikroba Pelarut Fosfat pada Berbagai Merek Pupuk Organik. *Jurnal Biologi*. 2(2), 42–46
- Syamsia , Abubakar Idhan, M. K. (2016). Potensi Cendawan Endofit Asal Padi Aromatik Lokal Enrekang Sebagai Pelarut Fosfat. *Agrotan*, 2(1), 57–63.
- Tirtana, Z. Y.G., Sulistyowati, L., Cholil, A. 2013. Eksplorasi Jamur Endofit pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Serta Potensi Antagonismenya Terhadap *Phytophthora infestans* (Mont.) de Barry Penyebab Penyakit Hawar Daun secara In Vitro. *Jurnal HPT*. Volume 1 Nomor 3
- Yasser, M.M., Mousa, A.S., Massoud, O.N., and Basr, S.H. 2014. Solubilization of Inorganic Phosphate by Phosphate Solubilizing Fungi Isolated from Egyptian Soil. *Journal Biology and Earth Science*. 4(1), 83–90.