

Pengaruh Campuran Onggok, Sekam, Pati dan Bahan Humat terhadap Pertumbuhan *Aspergillus niger* dan Kemampuannya dalam Melarutkan Fosfat

Yudi Sastro¹⁾, Donny Widiyanto²⁾, dan Irfan D. Prijambada²⁾

1) Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jakarta. Jl. Ragunan No. 30 Pasar Minggu, Jakarta Selatan (12540)

2) Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Diterima Juni 2006 disetujui untuk diterbitkan September 2006

Abstract

The aims of this study were to investigate the effects of the mixture of tapioca waste, rice bran, starch (BOC), and humic substance (BH) on *Aspergillus niger* growth and its phosphate solubilizing capability. The experiment was conducted in Erlenmeyer flask containing 200 ml Pikovskaya liquid media and incubated on shaker with 100 rotaries per minute for nine days. The Christmas Island phosphate rock was used as phosphate source. *Aspergillus niger* YD 17 was taken from the Laboratory of Microbiology, Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University. The experiment was arranged using factorial completely randomized design with three-replications (3x4x3). The level of BOC (i.e. 0, 2, and 4 g.l⁻¹ media) and BH (i.e. 0, 1, 2, and 3 ml.l⁻¹) were applied as experimental factors. Dry weight of mycelia and the soluble phosphate in media were parameters of *Aspergillus niger* growth. The results showed that BOC and BH increased the *Aspergillus niger* growth and its phosphate solubilizing capability ($P \leq 0.05$). Four-gram of BOC and 3 ml of BH per litter of media were the best level for *Aspergillus niger* growth, while 4 g of BOC and 2 ml of BH was the best level for phosphorus solubilization capability.

Key words: *Aspergillus niger*, phosphate solubilizing capability, tapioca waste, rice bran, starch, humic substance

Pendahuluan

Penggunaan *Aspergillus niger* sebagai agensia pelarut batuan fosfat guna meningkatkan penyediaan fosfor untuk tanaman potensial telah dikembangkan (Goenadi dan Saraswati, 1993; Asmarlaili *et al.*, 1995; Goenadi *et al.*, 1999; Widiastuti *et al.*, 2000). Kemampuan *A. niger* dalam melarutkan batuan fosfat berkaitan dengan kemampuannya menyekresi asam-asam organik dengan berat molekul rendah, terutama asam sitrat. Asam sitrat memiliki kemampuan kuat dalam melarutkan batuan fosfat (Kpoblekou dan Tabatabai, 1994). Meskipun demikian, efektivitas *A. niger* dalam meningkatkan ketersediaan fosfor bagi tanaman masih tergolong rendah (Salih *et al.*, 1989; Gair dan Gaur, 1991; Elfiati *et al.*, 1999). Rendahnya ketersediaan karbon dalam tanah diduga merupakan penyebab utama rendahnya efektivitas *A. niger* dalam meningkatkan penyediaan fosfor bagi tanaman.

Aspergillus niger adalah mikroba heterotrofik (Raper dan Fennel, 1977). Mikroba ini dapat memanfaatkan limbah pertanian seperti onggok (limbah industri tapioka), sekam padi, pati, dan bahan humat sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya (Prescott dan Dunn, 1961; Oshoma dan Ikenebomeh, 2005; Legisa dan Gradisnik-Grapuljin, 1995; Mayhew, 2005; McDonnel *et al.*, 2001). Aplikasi bahan organik campuran onggok, sekam, pati, dan bahan humat menyertai pupuk campuran batuan fosfat dan inokulum *A. niger* di tanah, dipercaya mampu meningkatkan kemampuan penyediaan fosfor dari batuan fosfat bagi tanaman.

Untuk menjawab hipotesis di atas, dilakukan pengujian awal dalam medium Pikovskaya cair menggunakan campuran onggok, sekam, pati, dan bahan humat sebagai sumber karbon dan energi untuk *A. niger*. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh campuran onggok, sekam, pati, dan bahan humat terhadap pertumbuhan *A. niger* dan kemampuannya dalam melarutkan fosfat dari batuan fosfat pada medium Pikovskaya cair.

Materi dan Metode

Bahan penelitian yang digunakan meliputi batuan fosfat dari Kepulauan Christmas, onggok, sekam, pati, dan bahan humat. Batuan fosfat dari Kepulauan Christmas diperoleh dari PT. Petrokimia Gresik, Jawa Timur. Pati berasal dari Merck, sedangkan onggok dan sekam masing-masing berasal dari industri tapioka dan penggilingan padi yang berada di daerah Salaman, Magelang, Jawa Tengah. Onggok, sekam, dan pati tersebut diayak menggunakan ayakan 100 mesh dan dicampur dengan perbandingan 69,0 : 29,5 : 0,5.

Bahan humat diekstraksi dari gambut saprik yang berasal dari Pangkoh, Kalimantan Tengah. Sebanyak 10 g gambut kering angin diekstraksi menggunakan 30 ml NaOH 0,5 M (Merck) dalam Erlenmeyer 250 ml dan dipusingkan selama 24 jam menggunakan pemusing (*shaker*) (Kotterman) pada kecepatan 100 rpm. Ekstraktan disentrifugasi (IECCentra-4Bcentrifuge) pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dan disaring dengan kertas saring Whatman no. 1 (Merck). Karakteristik kimia bahan-bahan penelitian disajikan dalam Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Karakteristik batuan fosfat dari Kepulauan Christmas
Table 1. Characteristics of the Christmas Islands phosphate rocks

Sifat dan Kandungan	
pH-H ₂ O (1,0 :2,5)	8,20
P ₂ O ₅ terlarut air (µg.g ⁻¹)	783,60
P ₂ O ₅ terlarut sitrat 2% (%)	6,52
P ₂ O ₅ total (%)	32,13
CaO (%)	49,20
MgO (%)	0,26
Al ₂ O ₃ (%)	1,52
Fe ₂ O ₃ (%)	4,91
Mn ₂ O ₃ (%)	tt
Zn (µg.g ⁻¹)	tt
Kadar air (%)	1,12
Kehalusan (mesh)	> 200

^{tt} tidak terdeteksi

Isolat *Aspergillus niger* galur YD 17 berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Sebelum digunakan, isolat *A. niger* ditumbuhkan pada media *potatoes dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu kamar. Spora yang terbentuk digunakan sebagai sumber inokulum.

Pengujian pengaruh bahan organik terhadap pertumbuhan *A. niger* dan kemampuannya melarutkan fosfat dilakukan dalam Erlenmeyer 500 ml yang berisi 200 ml media Pikovskaya cair yang mengandung 0,5 g.l⁻¹ (NH₄)₂SO₄, dan 1 mg.l⁻¹ MnSO₄ (Merck), 0,1 g.l⁻¹ MgSO₄.7H₂O, 1 mg.l⁻¹ FeSO₄, dan 0,2 g.l⁻¹ KCl (BDH.Ltd), 0,5 g.l⁻¹ ekstrak khamir (Oxoid), dan 0,1 g.l⁻¹ kloramfenikol (Sigma). Sebagai sumber fosfat digunakan batuan fosfat dari Kepulauan Christmas sebanyak 10 g.l⁻¹ media, sedangkan bahan organik kombinasi campuran onggok, sekam, pati, dan bahan humat digunakan sebagai sumber karbon.

Tabel 2. Karakteristik kimia bahan organik yang digunakan dalam penelitian
 Table 2. Characteristics of organic compounds used in the experiment

Sifat dan Kandungan	Onggok	Sekam	Pati	Bahan humat
C-total (%)	43,20	45,10	45,93	1,40
N-total (%)	0,77	0,70	td	0,04
C/N	56,10	64,43	td	35,00
P ₂ O ₅ -total (%)	0,93	0,69	td	18,62*
K ₂ O-total (%)	0,85	0,28	td	31,61*
CaO (%)	0,02	0,01	td	70,83*
MgO (%)	0,58	0,03	td	29,70*

* satuan dalam ppm

^{td} tidak dianalisis karena menggunakan bahan pati murni (*pure analysis*)

Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan tiga ulangan. Pemberian bahan organik campuran onggok, sekam, dan pati (BOC) dijadikan sebagai faktor perlakuan pertama, yang terdiri atas tiga aras, yakni 0, 2, dan 4 g.l⁻¹ media, sedangkan pemberian bahan humat (BH) dijadikan sebagai faktor perlakuan kedua, yang terdiri atas empat aras, yakni 0, 1, 2, dan 3 ml.l⁻¹ media sehingga secara keseluruhan terdapat 12 kombinasi perlakuan.

Erlenmeyer yang telah berisi media dan bahan organik disterilkan dalam autoklaf (SMIL model WS2-84-64) pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media dingin, dilakukan inokulasi spora *A. niger* sebanyak 10⁷ colony forming units (CFU) per ml media. Selanjutnya, inkubasi dilakukan di atas *shaker* (Kottermann) pada kecepatan 100 rpm selama 9 hari pada suhu ruang. Pada akhir inkubasi dilakukan penghitungan berat kering miselia *A. niger* yang terbentuk dan konsentrasi fosfat terlarut.

Berat kering miselia diukur dengan cara menyaring media menggunakan kertas saring Whatman no.41 (Merck) yang telah diketahui berat kering mutlakanya. Hasil penyaringan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 65°C hingga diperoleh berat tetap. Berat kering miselia merupakan berat kering total setelah dioven dikurangi dengan berat kertas saring awal. Sementara itu, fosfat terlarut dalam media diukur mengikuti metode Kim *et al.* (1997). Sebanyak 1 ml media yang telah disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 41 diberi pewarna fosfat *molybdat-vanadat blue* sebanyak 9 ml. Konsentrasi fosfat terlarut diukur menggunakan spektrofotometer (Spectronic 21D-Milton Roy), sedangkan jumlah fosfat terlarut ditentukan dengan membandingkannya dengan kurva standar.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa pemberian campuran onggok, sekam, pati (BOC), dan bahan humat (BH) berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan cendawan *A. niger*. Tidak terdapat interaksi yang nyata ($P \geq 0,05$) antara perlakuan BOC dan BH terhadap pertumbuhan *A. niger* serta kemampuannya dalam melarutkan fosfat. Oleh karena itu, penyajian dan pembahasan hasil penelitian dilakukan terhadap pengaruh tunggal masing-masing perlakuan.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa pemberian BOC nyata meningkatkan pertumbuhan *A. niger*, seperti terlihat pada peningkatan berat kering miselia yang terbentuk dalam media. Terdapat peningkatan berat kering miselia *A. niger* yang sejalan dengan peningkatan pemberian BOC. Demikian juga halnya dengan pemberian BH, tetapi pemberian BH di atas 2 ml.l⁻¹ media cenderung tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan *A. niger* (Tabel 3). Perbedaan pengaruh kedua bahan organik tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan kandungan nutrisi yang terdapat di dalam BOC dan BH, seperti disajikan pada Tabel 2. Selain itu, karbon yang terdapat dalam BH

merupakan produk akhir dekomposisi bahan organik sehingga relatif stabil dan sulit dirombak oleh mikroboganisme (Tate, 1985).

Sejalan dengan peningkatan pertumbuhan *A. niger*, pemberian dan peningkatan takaran pemberian BOC secara statistik nyata meningkatkan jumlah fosfat terlarut dalam media. Sementara itu, pemberian BH hingga 2 ml.l⁻¹ media juga meningkatkan fosfat terlarut, tetapi peningkatan jumlah fosfat terlarut tersebut secara statistik tidak nyata ($P \geq 0,05$), bahkan terjadi penurunan jumlah fosfat terlarut pada perlakuan pemberian BH 3 ml.l⁻¹ media (Tabel 4).

Tabel 3. Pengaruh bahan organik campuran onggok, sekam, pati (BOC), dan bahan humat (BH) terhadap berat kering miselia *Aspergillus niger* dalam media Pikovskaya

Table 3. The effects of the mixture of tapioca waste, rice bran, starch (BOC), and humic substance (BH) on *Aspergillus niger mycelia* dry weight in Pikovskaya media

Bahan organik campuran (BOC) (g.l ⁻¹)	Bahan humat (BH) (ml.l ⁻¹)				Pengaruh tunggal BOC
	0	1	2	3	
0	0,18 ^c	0,25 ^{abc}	0,18 ^{bc}	0,24 ^{abc}	0,28^x
20	0,26 ^{abc}	0,33 ^a	0,30 ^{ab}	0,26 ^{abc}	0,38^y
40	0,38 ^a	0,35 ^a	0,30 ^{ab}	0,31 ^a	0,45^z
Pengaruh tunggal BH	0,27^p	0,31^q	0,26^p	0,27^p	

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf uji 5%.

Tabel 4. Pengaruh bahan organik campuran onggok, sekam, pati (BOC) dan bahan humat (BH) terhadap fosfor terlarut ($\mu\text{g.l}^{-1}$) dalam media Pikovskaya

Table 4. The effects of the mixture of tapioca waste, rice bran, starch (BOC), and humic substance (BH) on soluble phosphorus ($\mu\text{g.l}^{-1}$) in Pikovskaya media

Bahan organik campuran (BOC) (g.l ⁻¹)	Bahan humat (BH) (ml.l ⁻¹)				Pengaruh tunggal BOC
	0	1	2	3	
0	204,2 ^{cd}	195,4 ^d	195,2 ^d	193,0 ^d	196,5^x
20	198,6 ^d	267,9 ^{bcd}	234,9 ^{bcd}	260,8 ^{bcd}	240,5^y
40	314,3 ^{ab}	306,8 ^{abc}	407,4 ^a	314,3 ^{ab}	335,7^z
Pengaruh tunggal BH	239,0^p	256,7^p	279,2^p	256,0^p	

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf uji 5%.

Seperti pada parameter pertumbuhan *A. niger*, perbedaan pengaruh BOC dan BH terhadap jumlah fosfat terlarut tersebut berkaitan erat dengan jumlah unsur nutrisi dalam media. Sekresi asam organik oleh *A. niger* sangat dipengaruhi oleh ketersediaan karbon, keberadaan unsur logam, dan pH media (Legisa dan Gradisnik-Grapuln, 1995; Ul-Haq *et al.*, 2002; El-Holi dan Al-Delaimy, 2003). Pada kondisi defisiensi sumber karbon, *A. niger* tidak mengsekresi asam-asam organik dan akan memperoleh energi dalam jumlah maksimum dengan mengoksidasi dan mengasimilasi substrat secara sempurna (Schelegel dan Schmidt, 1994).

Perbedaan kandungan unsur logam dalam media juga menentukan jenis dan jumlah asam organik yang disekresikan oleh *A. niger*. Sebagai contoh, pada kondisi defisiensi Fe akumulasi asam sitrat akan makin meningkat akibat ketiadaan kofaktor bagi pembentukan enzim akonitase (Scragg, 1988). Apabila dikaitkan dengan hasil percobaan ini, diduga kandungan logam dalam BOC lebih mendukung aktivitas biosintesis dan akumulasi asam-asam organik oleh *A. niger* bila dibandingkan dengan kandungan logam

dalam BH, khususnya asam sitrat. Hal demikian menyebabkan pengaruh BOC terhadap pelarutan fosfat oleh *A. niger* lebih tinggi bila dibandingkan dengan pengaruh BH.

Sementara itu, penurunan jumlah fosfat terlarut pada perlakuan pemberian BH 3 ml.l⁻¹ media, diduga disebabkan oleh pengaruh pH media pada awal inkubasi. Telah disebutkan bahwa bahan humat yang digunakan dalam percobaan ini diekstraksi menggunakan NaOH 0,5 M. Peningkatan jumlah pemberian BH berpengaruh terhadap pH media pada awal inkubasi sehingga mempengaruhi aktivitas *A. niger* dalam menyekresi asam-asam organik. Schelegel dan Schmidt (1994) melaporkan bahwa pH awal media yang paling mendukung produksi asam sitrat oleh *A. niger* adalah 2,5. Sanjay dan Sharma (1994) melaporkan bahwa produksi asam sitrat oleh *A. niger* menggunakan media tetes tebu dicapai pada pH 5,4 dan menurut Ul-Haq *et al.* (2002) hal ini dicapai pada pH 6,0. Perubahan aktivitas sekresi asam-asam organik oleh *A. niger* pada akhirnya berpengaruh terhadap kemampuan *A. niger* dalam melarutkan fosfat.

Kesimpulan dan saran

Bahan organik campuran onggok, sekam, dan pati (BOC), serta bahan humat (BH) dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi untuk *Aspergillus niger* dalam mendukung pelarutan fosfat dari batuan fosfat. Perlu dilakukan pengujian lanjutan mengenai pengaruh kombinasi BOC dan BH tersebut terhadap pertumbuhan *A. niger* dan kemampuannya melarutkan fosfat dalam tanah, khususnya tanah-tanah dengan ketersediaan karbon dan fosfat yang rendah.

Ucapan Terima Kasih

Penghargaan dan ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas pembiayaan penelitian melalui Proyek Penelitian Hibah Bersaing XII Tahun Anggaran 2003/2004.

Daftar Pustaka

- Asmarlaili, S. Hanafiah, dan T.M.H. Oeliem. 1995. Keefektifan mikroorganisme pelarut fosfat yang diisolasi dari berbagai tanah masam di Sumatera Utara. *Jurnal Penelitian Pertanian* 14(1): 11-19.
- Elfiati, D., E.F. Husin, N. Hakim, dan Kasli. 1999. Kajian efisiensi pemupukan P terhadap hasil tanaman jagung dengan pemanfaatan jamur pelarut fosfat pada oksisol yang dilacak dengan P³². *Jurnal Studi Pertanian-Pascasarjana Unand* 1: 1-6.
- El-Holi, M.A. and K.S, Al-Delaimy. 2003. Citric acid production from whey with sugars and additives by *Aspergillus niger*. *African Journal of Biotechnology* 2(10): 356-359.
- Gaind, S. and A.C. Gaur. 1991. Thermotolerant phosphate solubilizing microorganism and their interaction with mung bean. *Plant and Soil* 133: 141-149.
- Goenadi, D.H. dan R. Saraswati. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat fungi pelarut fosfat. *Menara Perkebunan* 61(3): 61-66.
- Goenadi, D.H., R.A. Pasaribu, Isroi, H. Hartono, and R. Misman. 1999. Phosphate solubilizing fungi isolated from tropical forest soil. *Menara Perkebunan* 67 (1): 40-51.

- Kim, K.Y., G.A. Mc Donald, and D. Jordan. 1997. Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherchia coli* in culture media. *Plant and Soil* 24: 347-352.
- Kpombekou, A.K. and M.A. Tabatabai. 1994. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. *Soil Science* 158: 443-453.
- Legisa, M. and M. Gradisnik-Grapulic. 1995. Sudden substrate dilution induce a higher rate of citric acid production by *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental microbiology* 61(7): 2732-2736.
- Mayhew, L. 2005. Humic substance as agronomic inputs in biological agricultural system: a review. [www. Google.com/humic substance](http://www.Google.com/humic%20substance). Diakses 22 Juli 2006.
- McDonnell, R., N.M. Holden, S.M. Ward, J.F. Collins, E.P. Farrell, and M.H.Y. Hayes. 2001. *Biology and Environment: Proceedings of The Royal Iris Academy* 101B (3): 187-197.
- Oshoma, C. E. and M.J. Ikenebomeh. 2005. Production of *Aspergillus niger* biomass from rice bran. *Pakistan Journal of Nutrition* 4(1): 32-36.
- Prescott, S.C. and C.G. Dunn. 1961. *Industrial Microbiology* 2nd Ed. Mc. Graw-Hill Book Co., New York.
- Raper, K.B. and D.I. Fennel. 1977. *The Genus Aspergillus*. Robert E. Krieger Publ. Huntington, New York.
- Salih, H.M., A.I. Yahya, A.M. Abdul-Rahem, and B.H. Munam. 1989. Availability of phosphorus in a calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate-dissolving fungi. *Plant and Soil* 120: 181-185.
- Sanjay, K. and P. Sharma. 1994. A highly performance fermentation process for production of citric acid from sugar-cane molasses. *Journal of Microbiology* 23: 211-217.
- Schelegel, H.G. and K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Alih bahasa R.M.T. Baskoro. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Scragg, A. 1988. *Catabolic Pathways in Biotechnology for Engineers*. In *Biological System in Technological Processes*. Eds. A.L. Scragg. Ellis Norwood Ltd., England.
- Tate, K.R. 1985. *Soil Phosphorus*. In *Soil Organic Matter and Microbial Activity*. Eds. D. Vaughan and R.E. Malcolm. Martinus Nijhoff/DR W. Junk Publ., Dordrecht.
- Ul-Haq, I., S. Ali, M.A. Qadeer, and J. Iqbal. 2002. Citric acid fermentation by mutant strain of *Aspergillus niger* GCMC-7 using molasses based media. *Electronic Journal of Biotechnology* 5(2):
- Widiastuti, H., D.H. Goenadi, T. Panji, L.P. Santi, P. Faturachim, N. Mardiana, I. Harianto, and Isroi. 2000. Bioactivation of phosphate rock by indigenous phosphate-solubilizing fungi. *Menara Perkebunan* 68 (1): 39-52.