

Eksplorasi Jamur Alkalotoleran dari Desa Sukolilo Barat, Kecamatan Labang, Kabupaten Bangkalan, Madura, Jawa Timur

Helga Lusiana, MG Isworo Rukmi dan Budi Rahardjo

Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FSM Undip

E-mail : helga.panggabean@yahoo.com

Abstract

Mold exploration from limestone hills West Sukolilo village, District Labang, Bangkalan, Madura, East Java, conducted to found the alkalotolerant mold isolates and investigate their amylolytic, proteolytic, and cellulolytic activity. Mold isolation were done using spread plate and dilution method on PDA and CMA at pH 8.0, 9.0, and 10.0. Twenty-seven mold isolates have been found consist of four genus i.e. *Aspergillus*, *Fusarium*, *Curvularia*, and *Trichoderma*. The result of amylolytic test showed *Trichoderma longibrachiatum* (IMD-26) have the highest activity at pH 8, while *Fusarium* sp 2 (IMD-24) showed the highest activity at pH 9. *Aspergillus flavus* (IMD-7) showed highest proteolytic activity at pH 8, while *Hyphomycete* (IMD-27) showed the highest activity at pH 9. The highest cellulolytic activity at pH 8 showed by *Trichoderma harzianum* (IMD-25) and pH 9 by *Fusarium sporotrichoides* (IMD-20).

Keyword : alkalotoleran mold, amylolytic, proteolytic, cellulolytic.

Abstrak

Eksplorasi kapang dari salah satu bukit kapur di Desa Sukolilo Barat, Kecamatan Labang, Kabupaten Bangkalan, Madura, Jawa Timur dilakukan untuk mendapatkan isolat kapang alkalotoleran dan mengetahui aktivitas amilolitik, proteolitik, dan selulolitik isolat yang diperoleh. Isolasi kapang dilakukan dengan metode *spread plate* dan pengenceran pada medium PDA dan CMA pH 8.0, 9.0, dan 10.0. Dua puluh tujuh isolat kapang berhasil diisolasi yang terdiri dari genus *Aspergillus*, *Fusarium*, *Curvularia*, dan *Trichoderma*. Uji aktivitas enzim pada pH 8 dan 9 menunjukkan *Trichoderma longibrachiatum* (IMD-26) mempunyai aktifitas amilolitik tertinggi pada pH 8, sedangkan *Fusarium* sp 2 (IMD-24) menunjukkan aktifitas tertinggi pada pH 9. Aktivitas proteolitik tertinggi pada pH 8 ditunjukkan oleh isolat *A. flavus* (IMD-7) sementara pada pH 9 oleh *Hyphomycete* (IMD-27). Aktifitas selulolitik tertinggi pada pH 8 oleh *Trichoderma harzianum* (IMD-25) sementara pH 9 oleh *Fusarium sporotrichoides* (IMD-20).

Kata kunci : kapang alkalotoleran, amilolitik, proteolitik, selulolitik.

PENDAHULUAN

Pulau Madura merupakan daerah yang terletak di ujung timur pantai utara pulau Jawa. Kondisi tanah di Madura secara umum termasuk kriteria tandus dan gersang serta memiliki kandungan kapur yang tinggi. Tanah dengan kandungan kapur tinggi di Madura terbentuk dalam bukit-bukit kapur (Hartini *et al.*, 2003). Karakteristik utama jenis tanah kapur adalah pada ketersediaan air yang rendah dan tingginya pH tanah yang seringkali diatas tujuh (reaksi tanah cenderung alkalis). Berdasarkan kondisi tersebut, pulau Madura diduga menyimpan potensi alam

berupa mikroorganisme yang sangat besar, terutama kapang yang bersifat alkalotoleran (Supriyadi, 2007).

Kapang merupakan organisme yang mikroskopik, sebagian besar dari spesies kapang yang telah diketahui bersifat saprofit, hidup pada berbagai tempat seperti tanah, makanan bahkan hidup pada organik mati (Gandjar *et al.*, 2006). Kapang yang mampu hidup dalam tanah alkalis disebut kapang alkalotoleran. Kapang alkalotoleran dapat mensintesis enzim spesifik yang mampu aktif di kondisi alkalis dan enzim ini sangat penting dalam proses industri (Gadd, 2004).

Tanah di daerah Madura yang diketahui bersifat alkalin karena keadaannya yang kering dan berkapur, merupakan salah satu sumber mikroorganisme potensial penghasil enzim alkalin. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat kapang alkalotoleran yang mempunyai aktivitas amilolitik, proteolitik, dan selulolitik kapang dari Desa Sukolilo Barat, Kecamatan Labang, Kabupaten Bangkalan, Madura.

METODE PENELITIAN

Sampel tanah kapur diambil secara aseptik dari salah satu bukit kapur di Desa Sukolilo Barat, Kabupaten Bangkalan, Madura. Pengambilan sampel sedalam 8-10 cm. Sampel yang diambil terdiri dari 3 titik yang berbeda berjarak 2-3 m, masing-masing titik ditandai sebagai sampel tanah A, B, dan C.

Isolasi kapang dilakukan secara sebaran dan pengenceran pada media PDA dan CMA dengan pH 8, 9, 10. Inkubasi dilakukan pada suhu 31°C selama 7 hari.

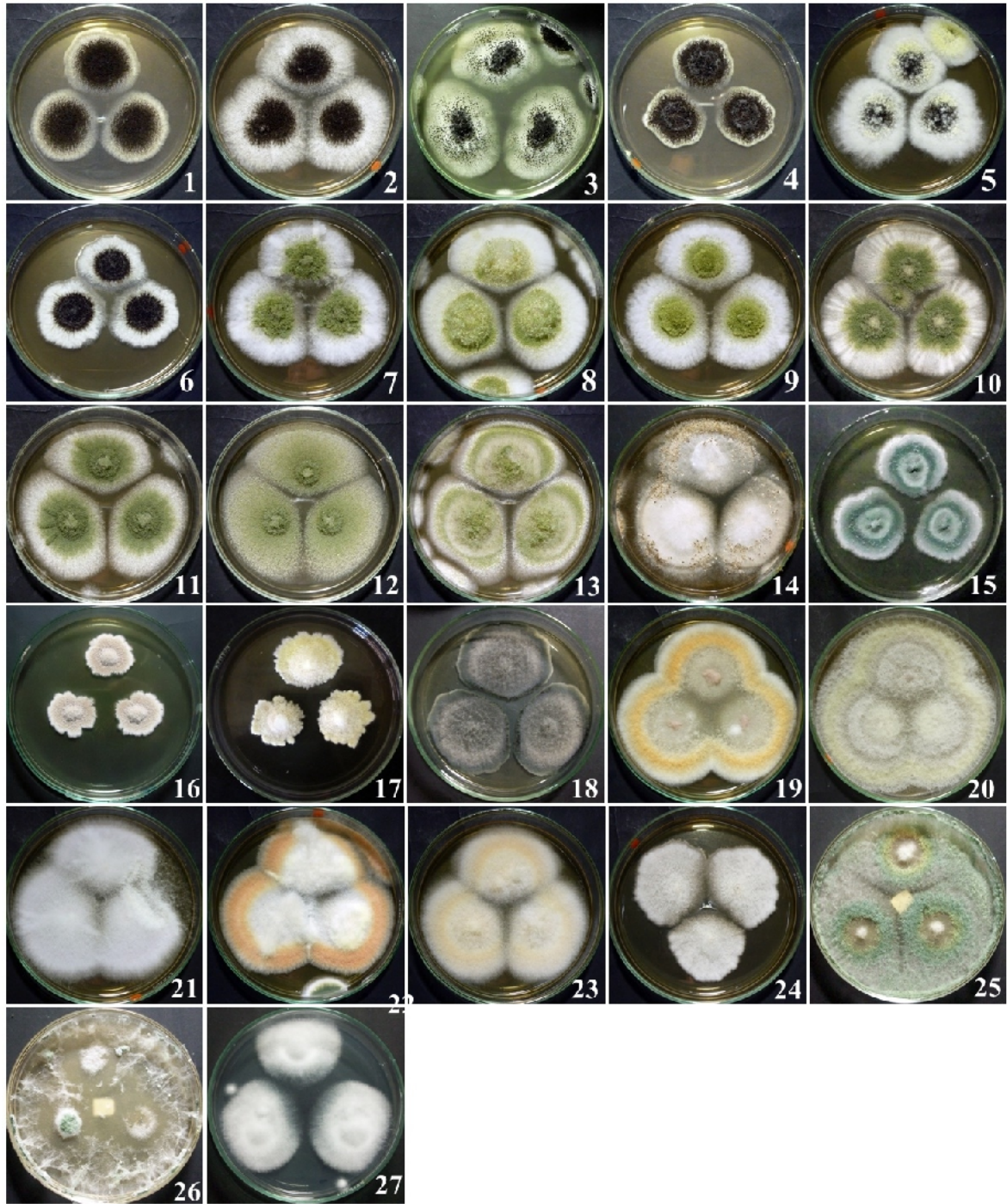
Identifikasi dilakukan dengan mengamati morfologi makroskopik dan mikroskopik kultur berumur 7 hari pada medium MEA, hasil pengamatan dicocokkan dengan kunci identifikasi dikotomis *Compendium Of Soil Fungi* (Domsch et

al., 1980), Pengenalan Kapang Tropik Umum (Gandjar et al., 1999), *The Genus Aspergillus* (Raper & Fennel, 1965), dan *Food and Indoor Fungi* (Samson et al., 2010).

Pengujian aktivitas enzimatik meliputi ujiamilolitik menggunakan medium PDA yang ditambahkan *Starch Soluble* 1%, uji proteolitik menggunakan medium *Gelatin Broth* 15%, dan uji selulolitik menggunakan medium *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) Agar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Enam puluh satu isolat berhasil diisolasi dari tiga sampel tanah kapur dari Desa Sukolilo, Bangkalan Madura, yang selanjutnya dapat dikelompokkan menjadi 27 isolat representatif, terdiri dari 17 isolat genus *Aspergillus*, meliputi 6 spesies *section Nigri*, 8 spesies *section Flavi*, 1 spesies *section Fumigati*, dan 2 spesies *section Terrei*, dan 6 spesies *Fusarium*, 2 spesies *Trichoderma*, 1 spesies *Curvularia* dan 1 spesies IMD-27 (Gambar 1). Seluruh isolat mampu hidup dalam pH 8-10, sehingga dapat digolongkan sebagai kapang alkalotoleran.



Gambar 1. Koloni isolat alkalotoleran pada medium MEA umur 7 hari. (1) *A. niger* (IMD-1), (2) *A. awamori* (IMD-2), (3) *A. phoenicis* (IMD-3), (4) *A. ficuum* (IMD-4), (5) *A. section Nigri* 1 (IMD-5), (6) *Aspergillus section Nigri* 2 (IMD-6), (7) *A. flavus* (IMD-7), (8) *A. subolivaceus* (IMD-8), (9) *A. flavo-furcatis* (IMD-9), (10) *Aspergillus section Flavi* 1 (IMD-10), (11) *Aspergillus section Flavi* 2 (IMD-11), (12) *Aspergillus section Flavi* 3 (IMD-12), (13) *Aspergillus section Flavi* 4 (IMD-13), (14) *Aspergillus*

section Flavi 5 (IMD-14), (15) *A. fumigatus* (IMD-15). (16) *A. terreus* (IMD-16), (17) *A. aureoterreus* (IMD-17), (18) *C.lunata* (IMD-18), (19) *F.chlamydosporum* (IMD-19), (20) *F. oxysporum* (IMD-20), (21) *F. sporotrichoides* (IMD-21), (22) *F. verticillioides* (IMD-22), (23) *Fusarium sp 1* (IMD-23), (24) *Fusarium sp 2* (IMD-24), (25) *T.harzianum* (IMD-25), (26) *T. longibrachiatum* (IMD-26), (27) *Hypomycete* (IMD-27).

Tabel 1. Kehadiran kapang alkalotoleran pada sampel tanah kapur dan diameter koloni isolat kapang yang ditumbuhkan pada media CMA dengan pH yang berbeda.

Kode Isolat	Nama Isolat	Sampel			Kehadiran Isolat Terhadap Sampel (%)	Diameter koloni (mm)		
		A	B	C		pH 8	pH 9	pH 10
IMD - 1	<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	100	78	65	8
IMD - 2	<i>Aspergillus awamori</i>	+	+	-	66,6	43	69	0
IMD - 3	<i>Aspergillus phoenicis</i>	+	+	+	100	90	65	6
IMD - 4	<i>Aspergillus ficuum</i>	-	+	+	66,6	42	70	6
IMD - 5	<i>Aspergillus section Nigri 1</i>	-	-	+	33,3	89	65	8
IMD - 6	<i>Aspergillus section Nigri 2</i>	+	+	-	66,6	90	69	0
IMD - 7	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	100	41	40	20
IMD - 8	<i>Aspergillus subolivaceus</i>	+	+	+	100	69	49	6
IMD - 9	<i>Aspergillus flavo-furcatis</i>	+	+	+	100	65	48	12
IMD - 10	<i>Aspergillus section Flavi 1</i>	-	+	+	66,6	51	43	24
IMD - 11	<i>Aspergillus section Flavi 2</i>	+	+	-	66,6	75	62	10
IMD - 12	<i>Aspergillus section Flavi 3</i>	-	+	+	66,6	49	59	21
IMD - 13	<i>Aspergillus section Flavi 4</i>	-	+	+	66,6	47	50	21
IMD -14	<i>Aspergillus section Flavi 5</i>	-	+	+	66,6	74	64	25
IMD -15	<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	-	66,6	70	47	21
IMD -16	<i>Aspergillus terreus</i>	-	+	+	66,6	48	49	21
IMD -17	<i>Aspergillus aureoterreus</i>	+	+	+	100	62	40	22
IMD -18	<i>Curvularia lunata</i>	-	+	+	66,6	42	34	33
IMD -19	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	-	+	-	33,3	46	47	27
IMD -20	<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	-	66,6	46	37	16
IMD -21	<i>Fusarium sporotrichoides</i>	-	-	+	33,3	32	33	17
IMD -22	<i>Fusarium verticillioides</i>	+	+	+	100	45	37	24
IMD -23	<i>Fusarium sp 1</i>	-	+	-	33,3	30	49	24
IMD -24	<i>Fusarium sp 2</i>	-	+	+	66,6	51	38	22
IMD -25	<i>Trichoderma harzianum</i>	+	+	+	100	41	25	16
IMD -26	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	+	+	+	100	62	69	15
IMD -27	<i>Hypomycete</i>	+	-	+	66,6	38	49	33
Jenis Isolat		15	24	22				

Menurut Manivannan & Kathiresan (2007) kapang alkalotoleran adalah kapang yang pH untuk pertumbuhan optimalnya mendekati netral yaitu pH 8. Pada penelitian ini seluruh isolat dapat tumbuh baik pada pH 8 (Tabel 1), sehingga kemungkinan isolat-isolat tersebut merupakan galur alkalotoleran

terutama kelompok *Aspergillus section Flavi*, *Fusarium*, *Trichoderma*, dan satu spesies *hypomycetes*. Genus *Aspergillus*, diketahui sebagai kapang yang umum dijumpai pada tanah salin. Coral (2003) menemukan *A. niger* yang dapat hidup yang cukup baik pada pH 8-9.

Spesies dari genus *Fusarium* cukup banyak dilaporkan kehadirannya pada tanah alkalin. Nagai *et al.* (1998) berhasil mengisolasi *Fusarium* dari tanah dengan kisaran pH 6 sampai 9, Kladwang (2003) juga berhasil mengisolasi *Fusarium* sp. yang tumbuh optimal pd pH 8 sampai 9 dari tanah kapur di Thailand. Genus *Trichoderma* juga dikenal sebagai salah satu kapang yang mampu hidup pada pH tinggi. Arenas *et al.* (2012) melaporkan *Trichoderma* mampu tumbuh pada pH 9, namun pada pH 10 mengalami penurunan diameter koloni yang cukup besar. *Trichoderma* dapat di isolasi dari tanah, biji-bijian, rhizosfer kentang, serta kayu

dan memiliki suhu pertumbuhan optimum 15°C- 35°C.

Tabel 2 menunjukkan parameter lingkungan tanah saat pengambilan sampel dapat dilihat pada. Sampel B memiliki pH lingkungan tertinggi dan paling banyak ditemukan spesies kapang yang berbeda. pH tanah dapat mempengaruhi kelarutan unsur hara di dalam tanah (Rao, 1994), tanah yang netral atau basa dapat lebih melarutkan unsur hara daripada tanah yang asam. Kelarutan unsur hara yang tinggi dalam tanah akan mempermudah mikroorganisme tanah menggunakan unsur hara tersebut, sehingga semakin banyak spesies dapat hidup

Tabel 2. Faktor-faktor lingkungan lokasi pengambilan sampel

Sampel	pH	Suhu (°C)	Kelembapan	Ketinggian (mdpl)	Posisi	
					Derajat Bujur	Derajat Lintang
A	7,2	30	1	23	112°50'12.4"	-7°9'42.819"
B	7,8	30	1	23	112°50'12.8"	-7°9'42.884"
C	7,6	31	1	23	112°50'12.6"	-7°9'42.751"

Uji Enzimatis Isolat

Kehadiran kapang di dalam tanah selalu berhubungan dengan perannya sebagai agen biodegradasi, yang dapat membantu ketersediaan nutrisi dan meningkatkan unsur hara didalam tanah. Kapang di dalam tanah berperan penting dalam siklus biogeokimiawi di alam, karena mampu menguraikan berbagai bahan organik dengan bantuan berbagai enzim yang disintesisnya (Valentin, 2006).

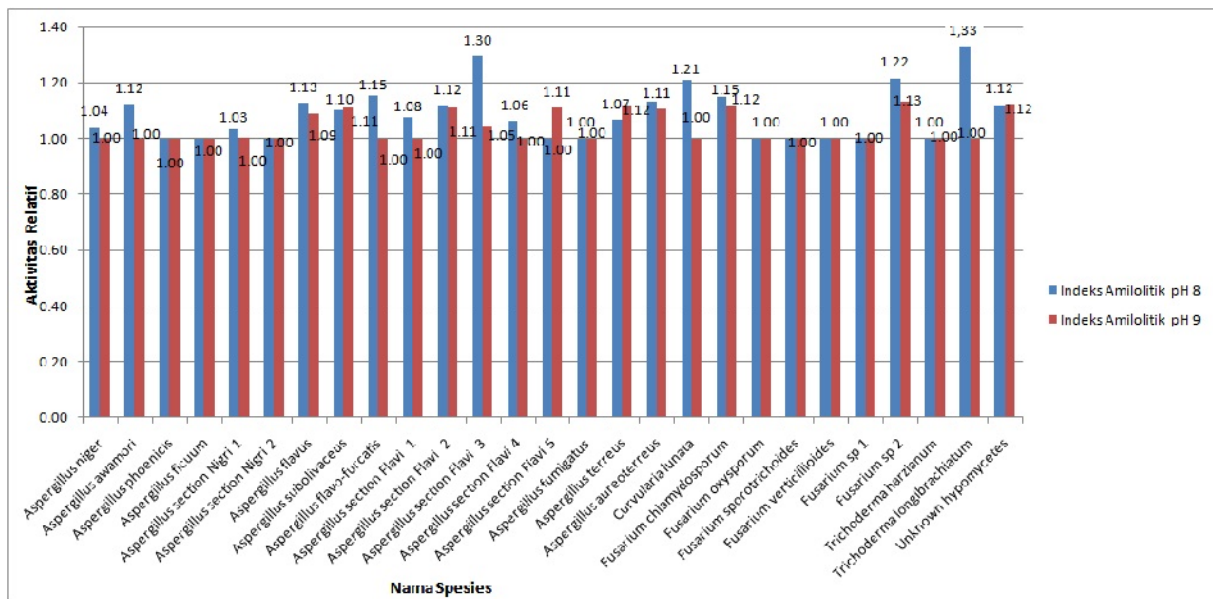
Hasil pengamatan terhadap aktivitas amilolitik isolat kapang dari tanah kapur menunjukkan bahwa, tidak semua isolat kapang yang diperoleh mampu menghidrolisi amilum (Gambar 2.). Aktifitas amilolitik tertinggi ditunjukkan oleh *T. longibrachiatum* (IMD-26) dan *Aspergillus section Flavi* 3 (IMD-13), baik pada pH 8 maupun pH 9 dan aktivitas amilolitik tertinggi pada pH 9 oleh *Fusarium* sp 2 (IMD-24). Aktivitas amilolitik dari semua isolat mengalami penurunan pada pH 9, Behal *et al.*, (2006) menyatakan bahwa pH optimum untuk aktivitas -

amilase adalah 8. Aktivitas amilolitik pada pH 8 dari semua isolat lebih tinggi dari aktivitas pada pH 9. Meskipun semua isolat mampu tumbuh namun beberapa tidak menunjukkan zona hidolisis. Varalaksmi (2009), mengatakan isolat-isolat tersebut kemungkinan dapat menghasilkan enzim amilase dengan aktifitas yang sangat kecil, sehingga tidak terukur atau teramati.

Uji aktivitas proteolitik terhadap isolat-isolat dari tanah kapur menunjukkan hasil yang beragam (Gambar 3). Aktivitas proteolitik tertinggi ditunjukkan oleh *Aspergillus flavus* pada pH 8 dan terlihat masih cukup stabil pada pH 9. Selain itu aktivitas proteolitik yang cukup tinggi di tunjukkan oleh kelompok *Aspergillus section Flavi* dan beberapa isolat Genus *Fusarium* dan *Trichoderma*. Secara keseluruhan aktivitas proteolitik cenderung menurun pada pH 9, dibandingkan dengan pH 8. Penelitian tentang alkaline protease yang dilakukan oleh Rani *et al.* (2012), menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik optimum kelompok *Aspergillus section Flavi*

terjadi pada pH 8,5. Kelompok *Aspergillus section Flavi* dalam penelitian ini masih menunjukkan aktivitas proteolitik pada pH 8 dan 9. Isolat genus *Trichoderma* menunjukkan aktivitas proteolitik yang lebih besar pada pH 9 dibandingkan pH 8. Protease dari kapang dapat aktif pada kisaran pH yang luas (pH 4 -11) (Coral, 2003) , tetapi memiliki toleransi terhadap panas yang lebih kecil dibandingkan protease pada bakteri. Protease

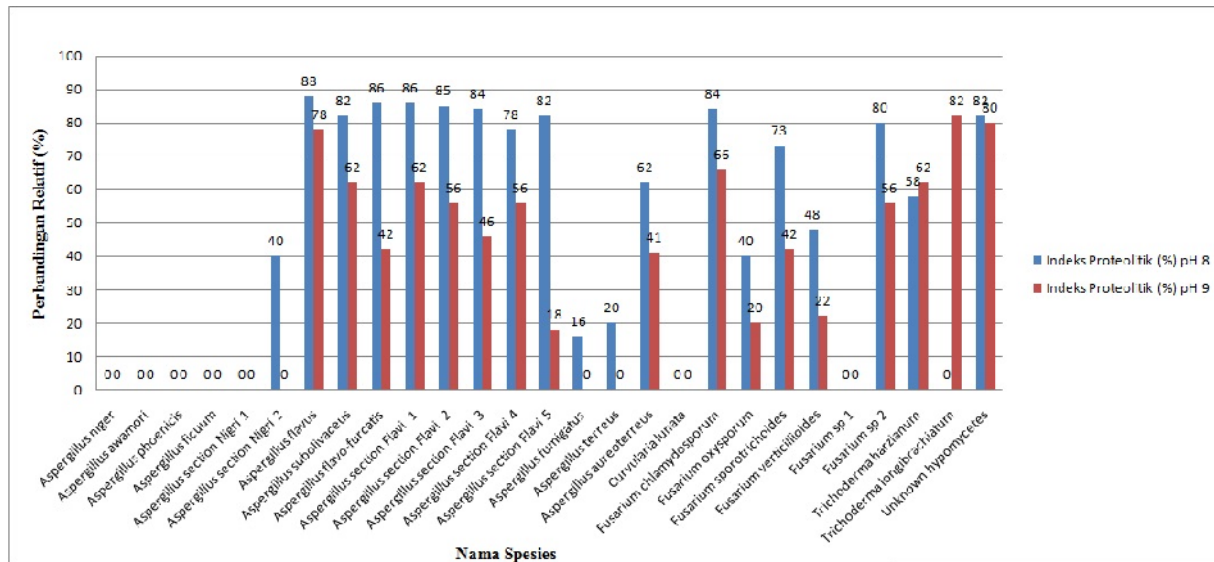
alkalis pada kapang secara umum berjenis *serine protease*, yang aktif pada pH netral dan alkaline dengan pH optimum antara pH 7 sampai 11. Isolat *Trichoderma* dalam penelitian ini menunjukkan aktifitas protease yang lebih baik pada pH 9, sehingga ada kemungkinan bahwa pH optimum protease pada genus ini lebih dari 8



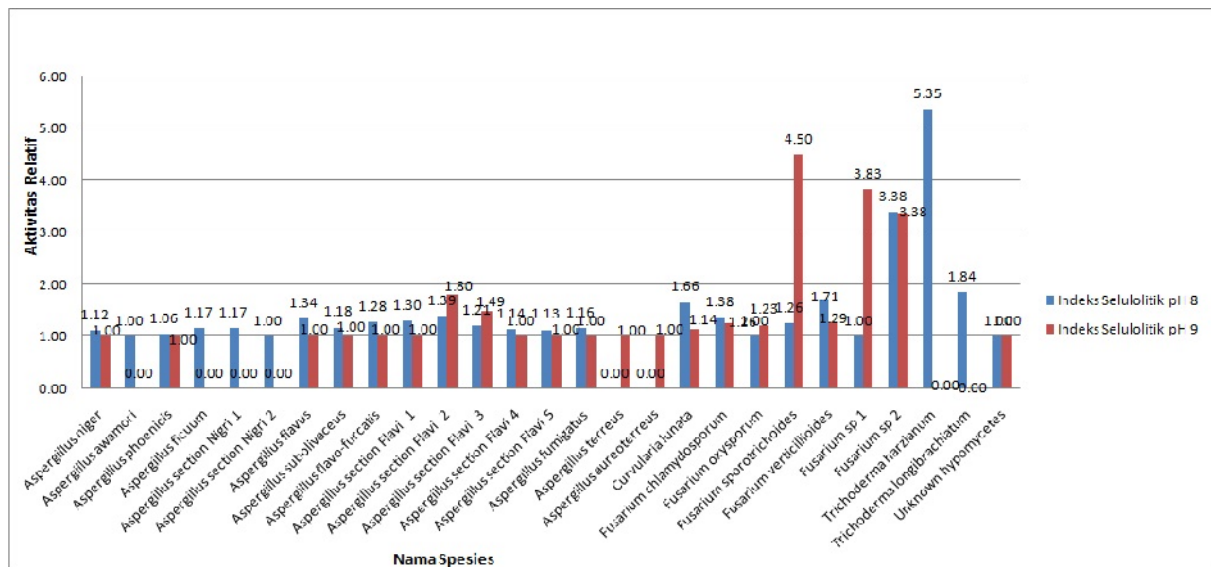
Gambar 2. Indeks amilolitik isolat kapang alkalotoleran pada dua pH yang berbeda

Uji aktivitas selulolitik menunjukkan bahwa beberapa isolat tidak menunjukkan aktivitas selulolitik baik pada pH 8 maupun pH 9 (Gambar 4). Aktivitas selulolitik tertinggi pada pH 8 ditunjukkan oleh isolat *T. harzianum* (IMD-25) namun pada pH 9 aktivitas selulolitiknya sangat kecil (Gambar 3), Salma dan Gunarto (1999) menemukan *Trichoderma* memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa dengan baik pada kondisi alkalin sehingga sering disebut selulolitik sejati. Isolat *Fusarium* sp 2 (IMD-24) menunjukkan aktivitas selulolitik yang juga cukup tinggi dan, cukup stabil pada pH 8 dan 9. Aktivitas selulolitik tertinggi pada pH 9 ditunjukkan oleh isolat *F. sporotrichoides* (IMD-21) di ikuti isolat *Fusarium* sp.1 (IMD-24) dan *Fusarium* sp.2 (IMD-24). Aktivitas selulolitik dari kelompok *Fusarium* sp. cenderung meningkat pada pH yang lebih tinggi,

hal ini menunjukkan kemungkinan *Fusarium* sp. dan *Trichoderma* sp. merupakan galur alkalotoleran. Beberapa isolat dari tanah Madura khususnya *black aspergilli* ternyata mampu tumbuh pada medium *Carboxymethyl cellulose* (CMC) yang digunakan untuk uji selulolitik, namun tidak menunjukkan adanya zona hidrolisis, hal ini dapat disebabkan karena kemampuan produksi selulase dari isolat tersebut sangat rendah. Purwadaria (2003) mengatakan bahwa kapang-kapang yang menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas yang sangat kecil akan menghasilkan zona bening yang tidak terlihat jelas atau mungkin hanya terdapat di bawah koloni sehingga tidak mudah diamati.



Gambar 3. Indeks proteolitik isolat kapang alkalotoleran pada dua pH yang berbeda.



Gambar 4. Indeks selulolitik isolat kapang alkalotoleran pada dua pH yang berbeda.

KESIMPULAN

Dua puluh tujuh isolat kapang alkalotoleran berhasil ditemukan pada tanah kapur dari Desa Sukolilo Barat, Kecamatan Labang, Kabupaten Bangkalan, Madura, yang terdiri dari genus *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Curvularia* dan satu jenis *Hyphomycete*.. Sebagian besar isolat menunjukkan aktivitas amilolitik, proteolitik, dan

selulolitik. Aktivitas amilolitik tertinggi pada pH 8 ditunjukkan oleh isolat *T. longibrachiatum* (IMD-26), sementara pada pH 9 ditunjukkan oleh isolat *Fusarium* sp 2 (IMD-24). Isolat *A. flavus* (IMD-7) menunjukkan aktivitas proteolitik tertinggi pada pH 8 dan pH 9. Aktivitas selulolitik tertinggi pada pH 8 ditunjukkan oleh isolat *T.harzianum* (IMD-

25), sementara pada pH 9 ditunjukkan oleh isolat *F. sporotrichoides* (IMD-20).

DAFTAR PUSTAKA

- Arenas, O.R., Huato, M.A.D., Treviño, I.H., Lezama, J.F.C.P., García, A.A. & Arellano, A.D.V. 2012. Effect of pH on Growth of the Mycelium of *Trichoderma Viride* and *Pleurotus Ostreatus* in Solid Cultivation Mediums. *Afr. J. Agri. Res.*, 7 (34) : 4724 – 4730.
- Eliades, L.A., Cabello M.N. & Voget C.E. 2006. Contribution To The Study Of Alkalophilic and Alkali-Tolerant Ascomycota From Argentina. *Darwiniana* 44(1): 64-73.
- Gadd, M. G. 2004. Mycotransformation Of Organic And Inorganic Substrates. *Mycologist* 18: 60-70.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W. & Oetari, A. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Hartini, S., Suprajaka, Rahardjati, A., Saputro, G.B. & Marschiavelli, M.I.C. 2003. Kajian Wilayah Pulau Madura dan Kepulauan Kangean. Pusat Survei Sumberdaya Alam Laut BAKOSURTANAL, Bogor.
- Ismail, A., Mazen, M.B. & Saber, S.M. 1984. Some Enzymatic Activities of Fungi Isolated from Cotton Seed Products. *Biosci*, 4 : 85-93.
- Kasana, R.C., Salwan, R., Dhar, H., Dutt, S. & Gulati, A. 2008. A rapid and easy method for detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Curr. Microbiol*, 57 : 503-507.
- Kladwang, W., Bhumirattana, A. & Hywel-Jones, N. 2003. Alkaline-Tolerant Fungi from Thailand. *Fungal Divers.*, 69-84.
- Manivannan, S. & Kathiresan, K. 2007. Production of Alkaline Protease by *Streptomyces* sp., Isolated from Coastal Mangrove Sediment. *Res. J. Environ. Sci.* 1: 173-178.
- Mubarik, N.R., Damayanti, E., & Listyowati, S. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Amilase dari Kapang Alkalotoleran Asal Limbah Cair Tapioka. *Biota VIII* (1) : 1-8.
- Nagai, K., Suzuki, K. & Okada, G. 1998. Studies on the Distribution of Alkalophilic and Alkalotolerant Soil Fungi II : Fungal Flora in Two Limestone Caves in Japan. *Mycoscience*, 39 :293-298.
- Purwadaria, T., Marbun P. A., Sinurat A. P. & Ketaren P. P. 2003. Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap. *JITV* 8(4): 213-219
- Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C. & Andersen, B. \ 2010. Food and Indoor Fungi. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Uthrecht, Netherlands.
- Supriyadi, S. 2007. Kesuburan Tanah di Lahan Kering Madura. *Embryo* 4(2): 124-131.