



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN SELEKSI KAPANG HALOTOLERAN SERTA
APLIKASINYA PADA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.)
VARIETAS CIHERANG**

TESIS

ARWAN SUGIHARTO

1006803871

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN SELEKSI KAPANG HALOTOLERAN SERTA
APLIKASINYA PADA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.)
VARIETAS CIHERANG**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains**

**ARWAN SUGIHARTO
1006803871**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JULI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : Arwan Sugiharto

NPM : 1006803871

Tanda Tangan :



Tanggal : 2 Juli 2012

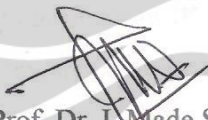
JUDUL : ISOLASI DAN SELEKSI KAPANG HALOTOLERAN
SERTA APLIKASINYA PADA TANAMAN PADI (*Oryza
sativa* L.) VARIETAS CIHERANG


Nama : ARWAN SUGIHARTO

NPM : 1006803871


MENYETUJUI


1. Komisi Pembimbing


Prof. Dr. I. Made Sudiana, M.Sc.
Pembimbing I


Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc.
Pembimbing II

2. Penguji


Drs. Iman Santoso, M.Phil.
Penguji I



Dr. Andi Salamah
Penguji II

**3. Ketua Program Studi Biologi
Program Pascasarjana FMIPA UI**



Dr. Luthfirda Sjahfirdi, M. Biomed.

**4. Ketua Program Pascasarjana
FMIPA UI**


Dr. Adi Basukriadi, M.Sc.

Tanggal lulus : 2 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Arwan Sugiharto
NIM : 1006803871
Program Studi : Mikrobiologi
Judul Tesis : Isolasi dan seleksi kapang halotoleran serta aplikasinya pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang

Telah berhasil saya pertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. I. Made Sudiana, M.Sc. (.....)
Pembimbing II : Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. (.....)
Penguji I : Drs. Iman Santoso, M.Phil. (.....)
Penguji II : Dr. Andi Salamah (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 2 Juli 2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arwan Sugiharto
NIM : 1006803871
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya saya yang berjudul:

Isolasi dan seleksi kapang halotoleran serta aplikasinya pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang

Beserta perangkatnya yang ada jika diperlukan. Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengolah dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok

Pada tanggal Juli 2012

Yang Menyatakan



(Arwan Sugiharto)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas berkat dan rahmat serta karuniaNYA semata penulis dapat menyelesaikan penelitian, menyusun dan menyelesaikan tesis. Tesis ini berjudul “**Isolasi dan seleksi kapang halotoleran serta aplikasinya pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang**”. Disusun dalam 2 makalah yang masing-masing berjudul: “Isolasi dan seleksi kapang halotoleran pelarut fosfat dan penghasil hormon IAA” dan “Kajian aktivitas kapang halotoleran terhadap pertumbuhan tanaman padi varietas Ciherang”. Tesis ditulis untuk memenuhi syarat dalam meraih gelar Magister Sains di FMIPA, Program Studi Biologi, Program Pascasarjana, FMIPA, Universitas Indonesia.

Dalam penelitian dan penyusunan tesis ini, penulis telah mendapat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. I. Made Sudiana, M.Sc. dan Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan mendukung, membimbing dan mengarahkan penulis.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Drs. Iman Santoso, M.Phil. dan Dr. Andi Salamah yang telah memberikan banyak masukan untuk perbaikan dan kesempurnaan tulisan tesis ini.

Terima kasih juga penulis haturkan kepada:

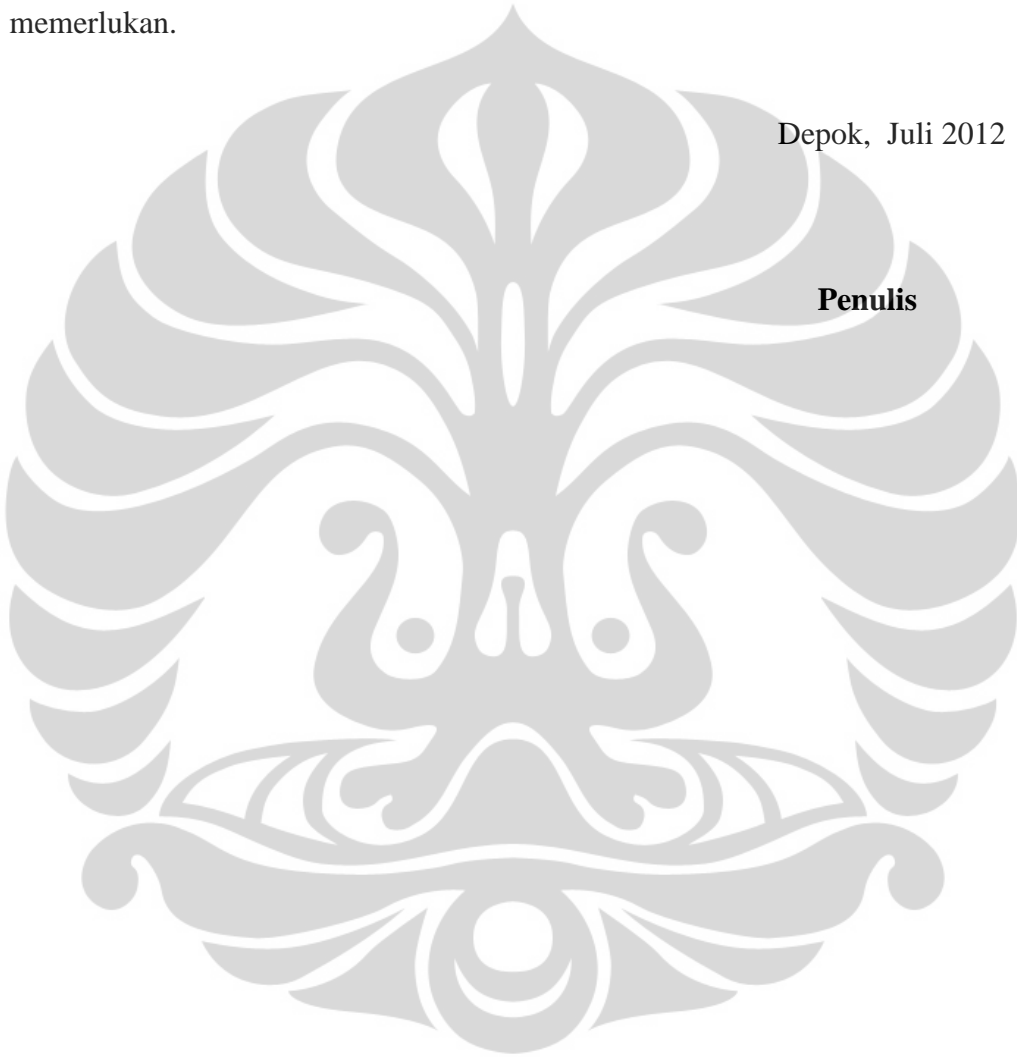
1. Kepala Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi – LIPI
2. Kepala Pusat Penelitian Biologi – LIPI
3. Ketua program beasiswa Ristek, Kementerian Riset dan Teknologi
4. Seluruh staf pengajar dan administrasi Program Studi Biologi, FMIPA-UI
5. Rekan-rekan angkatan 2010 Program Studi Biologi, FMIPA-UI, serta berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Semoga Allah SWT memberikan imbalan kepada bapak/ibu sekalian atas budi baik yang penulis terima.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada keluarga, khususnya buah hati tercinta Nur Latifah dan Syaiful Anwar atas dukungan, kesabaran, bantuan dan doanya sehingga tesis ini dapat selesai.

Hasil penelitian ini masih jauh dari sempurna, tetapi penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat dan dapat dijadikan pijakan bagi yang memerlukan.

Depok, Juli 2012

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK	xv
SUMMARY	xvii
PENGANTAR PARIPURNA.....	1
Makalah I : ISOLASI DAN SELEKSI KAPANG HALOTOLERAN PELARUT FOSFAT DAN PENGHASIL INDOLE ACETIC ACID (IAA).....	3
Abstract.....	3
Pendahuluan.....	4
Bahan dan Cara Kerja.....	5
Hasil dan Pembahasan	13
Kesimpulan	30
Saran	30
Daftar Acuan.....	30
Makalah II : KAJIAN AKTIVITAS KAPANG HALOTOLERAN TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN PADI (<i>Oryza sativa</i> L.) VARIETAS CIHERANG	43
Abstract.....	43
Pendahuluan.....	44
Bahan dan Cara Kerja.....	48
Hasil dan Pembahasan	52
Kesimpulan	57
Daftar Acuan	57
DISKUSI PARIPURNA	67
RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN.....	71
DAFTAR ACUAN.....	72

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR		Halaman
I.1	Grafik diameter pertumbuhan <i>Aspergillus</i> (PBB 3.1) pada medium PDA pada berbagai salinitas	20
I.2	Pertumbuhan isolat <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) pada PDA dengan berbagai variasi konsentrasi NaCl	21
I.3	Analisis regresi hubungan antara salinitas dan biomassa (berat kering) isolat <i>Aspergillus</i> (PBB 3.1).....	22
I.4	Jumlah spora isolat <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) pada berbagai variasi konsentrasi NaCl.....	23
I.5	Pembentukan biomassa isolat <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) pada berbagai variasi konsentrasi NaCl	23
I.6	Profil kelarutan fosfat isolat kapang <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) pada berbagai variasi konsentrasi NaCl	24
I.7	Hasil pengamatan morfologi isolat <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) (A) pada media PDA umur 3 hari, (a) hifa/miselia, (b) konidia, dan (c) zonasi; (B) umur 7 hari, adanya warna coklat muda pada media tanam bagian bawah serta adanya zonasi yang lebih jelas	27
I.8	Hasil pengamatan morfologi (A) dengan mikroskop, (a) hifa, (b) sekat, (c) vesikel, (d) <i>phialides</i> , dan (e) konidia serta (B) morfologi konidia dilihat dengan SEM	27
I.9	Profil sintesis IAA isolat kapang <i>Aspergillus niger</i> PBB.3.1 pada berbagai variasi konsentrasi NaCl	28
I.10	Alur sintesa IAA pada mikroba	29
II.1	Profil aktivitas FDA pada media tanam dengan dan tanpa pemberian inokulan <i>Aspergillus niger</i> PBB.3.1	52
II.2	Profil populasi kapang media tanam dengan dan tanpa pemberian inokulan <i>Aspergillus niger</i> PBB.3.1.	53

II.3	Profil tinggi tanaman padi dengan dan tanpa pemberian inokulan <i>Aspergillus niger</i> PBB.3.1	54
II.4	Profil jumlah anakan padi pada perlakuan dengan dan tanpa inokulan <i>Aspergillus niger</i> PBB.3.1	56
II.5	Profil bobot 1000 butir pada perlakuan dengan dan tanpa inokulan <i>Aspergillus niger</i> PBB 3.1	56



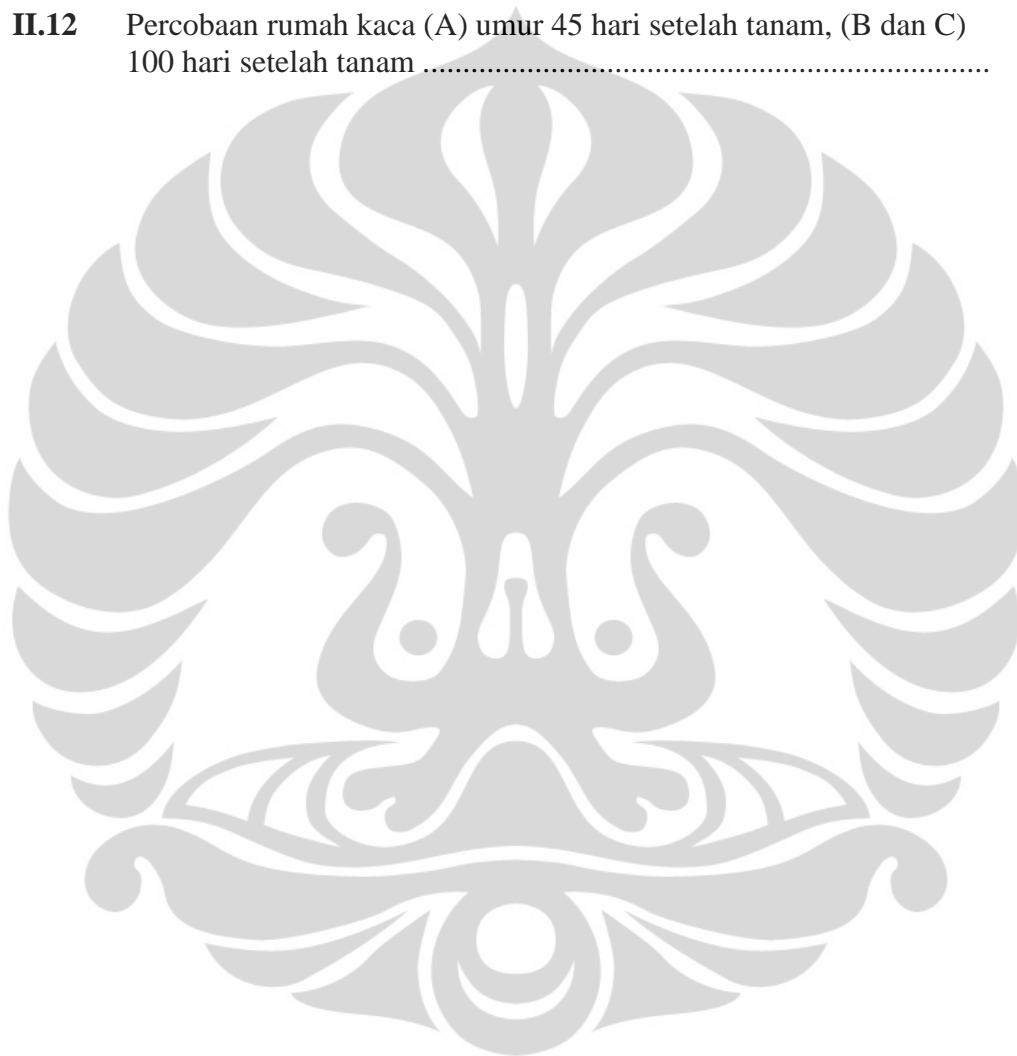
DAFTAR TABEL

TABEL		Halaman
I.1	Kelimpahan kapang halotoleran pada ekosistem mangrove di Pulau Laki, Kepulauan Seribu (050 58'46.3''LS, 106032'10,5''BT)	14
I.2	Kelimpahan kapang halotoleran pada ekosistem mangrove Suwung, Bali (08044'53.41''LS, 115010'1.82''BT).....	15
I.3	Kemampuan pembentukan zona bening isolat-isolat kapang halotoleran	18
I.4	Pertumbuhan isolat-isolat terseleksi hari ke 6 pada media PDA dalam variasi konsentrasi NaCl dengan parameter <i>radial growth</i>	19
I.5	Pertumbuhan isolat kapang terseleksi pada variasi konsentrasi NaCl dengan parameter berat kering/biomassa	21
I.6	Kelarutan P dan pH kapang <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) waktu inkubasi 72 dan 144 jam	25
I.7	Hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik <i>Aspergillus</i> (PBB.3.1) umur 3 hari pada media PDA di suhu ruang.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN		Halaman
I.1	Lokasi pengambilan sampel, Pulau Laki, Kepulauan Seribu (A) dan Suwung, Bali (B)	37
I.2	Tabel komposisi media <i>Pikovskaya</i>	37
I.3	Tabel komposisi media triptofan	38
I.4	Tabel komposisi mix reagen	38
I.5	Tabel komposisi reagen <i>Salkowski</i>	38
I.6	Standar fosfat	39
I.7	Kurva standard fosfat	39
I.8	Urutan basa hasil analisis molekular isolat <i>Aspergillus</i> PBB.3.1	40
I.9	Hasil BLAST kapang <i>Aspergillus</i> PBB.3.1	40
I.10	Standar IAA	42
I.11	Kurva standard IAA	42
II.1	Kurva standar fluorescein diacetat (FDA)	63
II.2	Tabel analisis FDA pada media tanam dengan perlakuan inokulan ..	63
II.3	Tabel analisis FDA pada media tanam tanpa perlakuan inokulan.	63
II.4	Tabel populasi kapang media tanam padi dengan perlakuan inokulan (cfu/g).....	64
II.5	Tabel populasi kapang media tanam padi tanpa perlakuan inokulan (cfu/g).....	64
II.6	Tabel laju pertumbuhan tinggi tanaman padi dengan perlakuan inokulan.....	64
II.7	Tabel laju pertumbuhan tinggi tanaman padi tanpa perlakuan inokulan.....	65

II.8	Tabel jumlah anakan padi dengan perlakuan inokulan.....	65
II.9	Tabel jumlah anakan padi tanpa perlakuan inokulan.....	65
II.10	Tabel bobot 1000 butir padi dengan dan tanpa perlakuan inokulan ..	66
II.11	Tabel perubahan pH media tanam padi dengan dan tanpa perlakuan inokulan.....	66
II.12	Percobaan rumah kaca (A) umur 45 hari setelah tanam, (B dan C) 100 hari setelah tanam	66



ABSTRAK

Nama : Arwan Sugiharto
Program studi : Pascasarjana Biologi
Judul Tesis : Isolasi dan seleksi kapang halotoleran serta aplikasinya pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang

Intrusi air laut ke daratan telah menjadi fenomena alam global. Salah satu dampak yang ditimbulkan dari kejadian tersebut adalah perubahan komunitas mikroba. Perubahan komunitas mikroba sangat berpengaruh pada tingkat kesuburan tanah. Pemanfaatan daerah pesisir untuk kegiatan pertanian akan sangat dipengaruhi oleh dampak perubahan tersebut. Pemanfaatan mikroba halotoleran sebagai biofertiliser diharapkan dapat meningkatkan hasil pertanian.

Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan seleksi kapang halotoleran pelarut fosfat dan penghasil IAA serta aplikasinya pada tanaman padi varietas Ciherang untuk mendapatkan isolat kapang halotoleran yang dapat digunakan sebagai agen biofertiliser dalam kondisi lingkungan salin. Diisolasi sebanyak 74 isolat kapang dari lingkungan mangrove Pulau Laki, Kepulauan Seribu dan Suwung, Bali. Tujuh isolat memiliki kemampuan pelarutan Ca-P yang tinggi. Pengujian ketahanan pertumbuhan pada variasi konsentrasi NaCl (0, 2, 5, 10, dan 20%) diperoleh satu isolat, yaitu PBB 3.1 yang mampu tumbuh sampai konsentrasi 20%. Isolat tersebut mampu melarutkan Ca-P sebanyak 68,97 mgL⁻¹ pada konsentrasi 2% NaCl pada inkubasi 72 jam. Produksi IAA tertinggi dicapai pada konsentrasi 0% NaCl, pada inkubasi 48 jam sebesar 0,533 mgL⁻¹. Isolat PBB 3.1 diidentifikasi secara molekular sebagai *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).

Aplikasi inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 dilakukan pada skala rumah kaca pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang, dengan variasi konsentrasi salinitas 0; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%. Pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 sebanyak 200 g/10 kg pada media tanam berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman padi. Indikasi ini terlihat dari meningkatnya nilai FDA, populasi kapang, tinggi tanaman, jumlah anakan, dan bobot 1000 butir. Pemberian inokulan pada salinitas 0% mampu meningkatkan bobot 1000 butir sebesar 52%. Sedangkan pada salinitas 1,0% terjadi peningkatan produktivitas sebesar 144%. Mekanisme pengaruh inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 masih perlu terus dikaji. Namun, fenomena tersebut membuktikan bahwa isolat *Aspergillus niger* PBB 3.1 berpotensi untuk dikembangkan sebagai inokulan biofertiliser pada tanaman padi varietas Ciherang yang ditanam dalam kondisi salin sampai 1,0%.

Kata Kunci: kapang, halotoleran, biofertiliser, *Aspergillus niger*

ABSTRACT

Nama : Arwan Sugiharto
Program studi : Pascasarjana Biologi
Judul Tesis : Isolation and selection halotoleran fungi and its application in paddy (*Oryza sativa* L.) var. Ciherang

Intrusion of sea water into terrestrial environment is global phenomenon. One of the possible impacts of the sea water intrusion is the soil microbial community structures disturbances. The Change of soil microbial community structure will affect greatly soil fertility, and thus influence utilization of coastal areas for agricultural activities. The use of halotolerant microbes as biofertilizer in coastal areas are expected to increase agricultural yield.

This research focused on the isolation and selection of halotolerant fungi and their application for biofertilizer of paddy (*Oryza sativa* L.) var. Ciherang. The special objective was to obtain halotolerant fungus which is capable of stimulating phosphate solubilization and producing growth hormone (IAA) in saline condition. Seventy four isolates fungi were obtained from mangrove and coastal environment of Laki Island in the Kepulauan Seribu and Suwung, Bali. Seven isolates were having good Ca-P solubilizing capacity. These isolate were further evaluated for their ability to grow under various NaCl concentration 0, 2, 5, 10, and 20%. One isolate *Aspergillus* (PBB.3.1) was proven to grow at 20% salinity. The strain was able to solubilize Ca-P of 68.97 mgL⁻¹ at salinity 2% after 72 hours, whereas IAA produced maximum 0.533 mgL⁻¹ at 0% salinity after 48 hours. Based on the ITS1 and ITS2 of LSU analyses, this strain was identified as *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).

Application of *Aspergillus niger* PBB 3.1 as biofertilizer for paddy (*Oryza sativa* L.) var. Ciherang was conducted in greenhouse. Five concentration of salinities were evaluated 0; 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5%. Using 200 g/10 kg inoculant *Aspergillus niger* (PBB.3.1) stimulated the growth of paddy as indicated by an increase in FDA, population of fungi, plant height, panicle production and weight of seeds. Using 200 g/10 kg inoculant clearly affected the weight of 1000 grains, which can be seen on the 0% achieved 52% increase, whereas at 10% the weight of 1000 grains was much more stimulated, namely about 144%. The mechanism by which *Aspergillus niger* PBB 3.1 affect the growth and yield of paddy need further verification. Our experiment clearly noted that *Aspergillus niger* PBB 3.1 has the potential to be developed as biofertilizer for *Oryza sativa* L. var. Ciherang grown under saline conditions up to 1.0%.

Key Words: Fungi, halotolerant, biofertilizer, *Aspergillus niger*

Name : Arwan Sugiharto
Title : ISOLATION AND SELECTION HALOTOLERANT FUNGI AND ITS APPLICATION IN PADDY (*Oryza sativa* L.) VAR. CIHERANG
Thesis Supervisor : Prof. Dr. I. Made Sudiana, M.Sc.
Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc

SUMMARY

Agricultural activities in coastal areas such as rice farming became very sensitive to environmental change. Increased agricultural production of rice can be achieved by plant variety selection and augmentation of halotolerant fungi as biofertilizer. Research on activities of inoculant halotolerant fungi on the growth of rice plant has been done. Isolation and selection of halotolerant fungi become an important step for this study. Isolation and selection of halotolerant fungi conducted at two locations, mangrove Pulau Laki in Kepulauan Seribu and Suwung in Bali. From 28 soil samples obtained 74 fungi isolates.

On the bases of phosphate solubilizing capacity, radial growth performance, biomass production and of spore production grown under various NaCl concentration (0, 2, 5, 10 and 20%) obtained one potential isolate *Aspergillus* (PBB 3.1). This isolates was able to grow on all variations of NaCl concentration, and the highest spore production was $(14.3 \pm 0.4) \times 10^6$ at 10% NaCl with incubation time of 144 hours.

The highest phosphate solubilizing was 68.97 mgL^{-1} obtained at 72 hours incubation with 2% NaCl. The lowest was 15.88 mgL^{-1} with incubation time of 72 hours at 20% NaCl. The highest IAA production was 0.533 mgL^{-1} obtained at 0% NaCl with 48 hours incubation and the lowest was 0.152 mgL^{-1} obtained at 144 hours incubation with 2% NaCl. Analyses of ITS1 and ITS2 region of LSU, strain *Aspergillus* (PBB 3.1) identified as *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867) with 100% homology.

The results of a greenhouse applications of *Aspergillus niger* PBB 3.1 inoculant on paddy (*Oryza sativa* L.) varieties Ciherang grown on various salinity: 0 ; 1.0 ; 1.5; 2.0 and 2.5% showed that the inoculant was able to grow and physiologically active until the salinity of 1.0%. Population increased about 37%

during cultivation on salinity 1.0%, with an increase in production (weight of 1000 grains) of about 144%. This information proves that the isolates of *Aspergillus niger* PBB.3.1 is potential to be developed as biofertilizer for *Oryza sativa* L. varieties Ciherang up to 1.0%.

**xviii+74 pp; 15 plates; 7 tables; 23 appendix
Bilb.: 68 (1948-2012)**



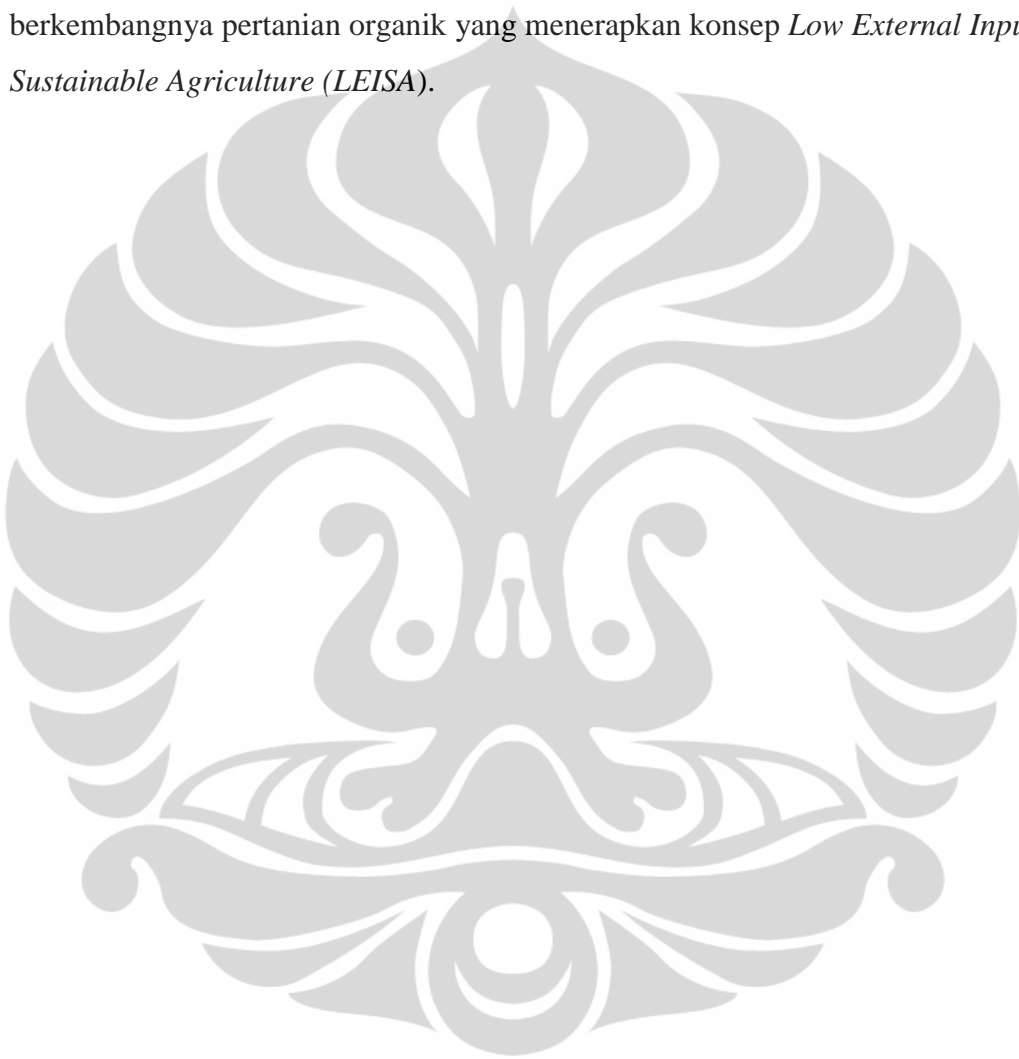
PENGANTAR PARIPURNA

Intrusi air laut menyebabkan perubahan salinitas pada lahan pantai dan ekosistem pantai termasuk mikroba tanah, dan berpengaruh terhadap aktivitas fisiologi sel, yang pada akhirnya berpengaruh terhadap produktivitas tanah (Gerwick 1990; Titus 1990; Miki 2012). Kondisi tersebut membawa dampak terhadap kegiatan pertanian di daerah pesisir, terutama budidaya tanaman padi (*Oryza sativa* L.). Indonesia dengan panjang pantai 104.000 km (Anonim 2011) merupakan negara berpantai terpanjang ke empat di dunia. Diperkirakan luas lahan persawahan di Indonesia 30% berada di daerah pesisir. Potensi luas lahan pantai di Indonesia diperkirakan tidak kurang dari 1.060.000 ha (Setiawan 1996; Yuwono 2009).

Berbagai upaya dapat dilakukan untuk mengatasi perubahan salinitas lahan seperti introduksi bibit unggul dan aplikasi teknologi biofertiliser berbasis mikroba halotoleran. Teknologi biofertiliser berbasis mikroba halotoleran diawali dengan isolasi dan seleksi kapang halotoleran yang memiliki kemampuan pelarutan fosfat dan penghasil hormon IAA menjadi fokus penelitian eksplorasi mikroba biofertiliser lahan pantai. Mikroba fungsional tanah yang mampu bertahan dan aktif melakukan proses mineralisasi pada daerah pesisir adalah mikroba yang tahan terhadap salinitas dan perubahan status nutrisi tanah (Sardinha *et al.* 2003; Wichern *et al.* 2006; Kohler *et al.* 2010). Kemampuan mikroba dalam pelarutan fosfat dan menghasilkan IAA merupakan parameter penting yang harus dimiliki oleh mikroba biofertiliser (Koide 1991; Hasan 2002; Wakelin *et al.* 2004; Pradhan & Sukla 2005; Barroso *et al.* 2006; Akintokun *et al.* 2007; Lian *et al.* 2008). Salah satu mikroba tanah yang penting dalam ekosistem salin adalah kapang (Kelavkar & Chhatpar 1993). Penelitian tentang aplikasi mikroba halotoleran pada lahan pantai masih minimum.

Isolasi dan seleksi kapang halotoleran serta aplikasinya pada tanaman padi varietas Ciherang menjadi topik dalam penelitian ini. Penelitian ini dilakukan sebagai langkah adaptasi terhadap perubahan iklim pada lahan pesisir, melalui introduksi kapang halotoleran yang menstimulasi pelarutan fosfat dan menghasilkan IAA. Penelitian dibagi 2 tahap, yaitu I: Isolasi dan seleksi kapang halotoleran pelarut fosfat dan penghasil IAA, II: Kajian aktivitas kapang

halotoleran terhadap pertumbuhan tanaman padi (*Oryza sativa* L.) varietas Ciherang. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat kapang halotoleran yang potensial sebagai agen biofertiliser pada tanaman padi. Luaran dari penelitian ini adalah isolat kapang yang mempunyai potensi tinggi dalam melarutkan fosfat dan penghasil IAA serta berperan dalam peningkatan produksi padi yang ditanam dalam kondisi lingkungan salin. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendorong berkembangnya pertanian organik yang menerapkan konsep *Low External Input Sustainable Agriculture (LEISA)*.



Makalah I
ISOLASI DAN SELEKSI KAPANG HALOTOLERAN PELARUT FOSFAT
DAN PENGHASIL INDOLE ACETIC ACID (IAA)

Arwan Sugiharto
Program Pascasarjana, Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
E-mail: lok_ireng@yahoo.co.id

ABSTRACT

Intrusion of sea water into terrestrial environment is global phenomenon. One of the possible impacts of the sea water intrusion is the soil microbial community structures disturbances. The change of soil microbial community structure will affect greatly soil fertility, and thus influence utilization of coastal areas for agricultural activities. The objective of study was to obtain halotolerant phosphate solubilizing and IAA producing fungi from mangrove and coastal areas. The research comprises isolation and selection of halotolerant fungi as phosphate solubilizing and IAA producing fungi from coastal and mangrove ecosystems, and to evaluate the effect of salinity on phosphate and IAA producing capacity on the selected strain. About 28 samples were taken from mangrove and coastal ecosystem in Pulau Laki located at Kepulauan Seribu and Suwung, Bali. The result showed seventy four isolates fungi were obtained from both ecosystems, and 28 isolates were then tested for their ability to solubilize Ca-P.

Seven isolates were indicate good Ca-P solubilizing capacity, these strains were further tested for their ability to grow under various of NaCl (0, 2, 5, 10 and 20%). One isolate *Aspergillus* (PBB.3.1) was proven to grow at 20% salinity, and their IAA producing capacity was monitored for 144 hours. The strain was able to solubilize Ca-P of 68,97 mgL⁻¹ at salinity 2% after 72 hours, whereas IAA produce maximum 0,533 ppm at 0% salinity after 48 hours. Based on ITS1 and ITS2 of LSU analyses, this strain was identified as *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).

Key Words: Fungi, *Aspergillus niger*, halotolerant, biofertilizer, salinity, Ca-P, IAA

PENDAHULUAN

Perubahan ekosistem pada ekosistem pantai dan mangrove yang disebabkan oleh intrusi air laut sangat berpengaruh terhadap dinamika populasi mikroba daerah tersebut. Kondisi ini tentunya akan membawa dampak pada kegiatan pertanian di daerah pesisir. Berbagai upaya dapat dilakukan untuk mengatasi dampak perubahan tersebut seperti pencarian bibit unggul, dan aplikasi teknologi biofertiliser (Imran *et al.* 2003; Simanungkalit 2006).

Teknologi biofertiliser sepuluh tahun ke depan akan menjadi tulang punggung kemajuan sektor pertanian khususnya pertanian organik di Indonesia. Teknologi biofertiliser dapat dilakukan melalui pendekatan baik pupuk organik, maupun pupuk hayati (Simanungkalit 2006). Kedua pendekatan tersebut sama-sama menggunakan mikroba sebagai kunci optimasi proses mineralisasi dan stimulasi pertumbuhan tanaman. Salah satu mikroba yang berperan penting dalam biofertiliser adalah kelompok kapang.

Pemanfaatan kapang yang tahan terhadap salinitas menjadi kunci penggunaan teknologi biofertiliser pada lahan salin. Mendapatkan isolat halotoleran yang berpotensi sebagai inokulan biofertiliser merupakan salah satu solusi yang harus dilakukan. Halotoleran didefinisikan sebagai kemampuan adaptasi suatu mikroba pada lingkungan salin. Gunde-Cimerman *et al.* (2009) mendefinisikan kapang halotoleran adalah kapang yang dapat tumbuh secara *in vitro* pada konsentrasi salinitas 3 M NaCl, atau kapang yang dapat diisolasi dari lingkungan dengan salinitas di atas 1,7 M NaCl. Beberapa genus yang pernah ditemukan diantaranya *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* (Hasan 2002; Kogej *et al.* 2005; Gunde-Cimerman *et al.* 2009; Srividya *et al.* 2009; Yunasfi 2009).

Kapang merupakan salah satu komponen penting dalam ekosistem pantai atau mangrove. Kapang memegang peran dalam siklus hara yang terjadi secara biologis dalam tanah (Jha *et al.* 1992) dan menstimulasi pertumbuhan tanaman melalui mekanisme akselerasi siklus kimia tanah (Mengel & Kirby 1979; NAS 1979; Rao 1984; Hasan 2002). Kapang juga dapat memproduksi senyawa pemacu pertumbuhan (hormon) serta membantu tanaman dalam meningkatkan daya tahan

terhadap kondisi ekstrim melalui pengaturan turgor sel dan transpor nutrisi (Dick & Tabatabai 1984; Dick & Tabatabai 1986; Dixon & Buschena 1987; Diaz-Revina & Baath. 2000; Dick *et al.* 2000; Hasan 2002). Sejumlah kapang diketahui mampu mensintesis substansi pengatur tumbuh seperti *indole acetic acid* (IAA) maupun vitamin seperti *thiamin* dan *biotin* yang diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Koide 1991; Hasan 2002).

Kapang juga mempunyai kemampuan memproduksi enzim ekstraselular yang memacu degradasi bahan organik dari tanaman dan hewan sehingga mempercepat siklus karbon (Dunican & Cannon 1971; Eivazi & Tabatabai 1977; Erns *et al.* 1988; Denarie & Cullimore. 1993). Menurut Thayer (1974) di tanah, kapang mampu tumbuh 6×10^6 cfu/g/hari. Lynch dan Harper (1979) melaporkan miselium kapang mampu tumbuh 0,21 mm dalam waktu satu jam. Miselia kapang juga mampu menstimulasi pembentukan agregat tanah sehingga memungkinkan tanah memiliki *water holding capacity* yang lebih besar. Keunggulan lain yang dimiliki kapang adalah tahan terhadap perubahan lingkungan seperti pH, salinitas, dan suhu (Akintokun *et al.* 2007; Kohler *et al.* 2010; Khan & Anwar 2011). Berdasarkan pada kemampuan tersebut, maka kapang sangat berpotensi untuk diaplikasikan sebagai inokulan biofertiliser. Langkah awal berupa isolasi dan seleksi kapang halotoleran menjadi kajian penting yang harus dilakukan. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan isolat kapang halotoleran yang mempunyai kemampuan dalam pelarutan fosfat dan penghasil hormon IAA.

BAHAN DAN CARA KERJA

BAHAN

Bahan sampel

Bahan sampel berupa tanah didapat dari sampling di mangrove Pulau Laki ($05^{\circ}58'46.3''$ LS, $106^{\circ}32'10,5''$ BT) di Kepulauan Seribu dan Suwung ($08^{\circ}44'53.41''$ LS, $115^{\circ}10'1.82''$ BT) di Bali.

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 90%, spiritus, akuades steril, NaCl (Merck), H₂SO₄ 5 N, FeCl₃.6H₂O (Merck), (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 0.032 M, 3, C₆H₈O₆ 0,1 M, C₆H₁₂O₆, *PhytoPure Plant DNA kit* dan bahan lain untuk isolasi genom maupun PCR hingga sekuensing DNA.

Media

Media yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar/PDA* (Himedia), *Potato Dextrose Broth/PDB*(Oxoid), media *pikovskaya* (Lampiran I.2), media taugé ekstrak (TE), taugé ekstrak agar (TEA), dan media *triptofan* (Lampiran I.3)

Reagen

Reagen yang digunakan meliputi reagen *salkowski* dan *mix reagen*. Reagen *Salkowski* dibuat dengan cara mencampurkan 50 ml akuades dengan 30 ml H₂SO₄ 5N, serta 1,5 g FeCl₃.6H₂O. *Mix reagen* merupakan campuran 6 ml (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 0,032 M, 3 ml, C₆H₈O₆ 0,1 M dan 10 ml H₂SO₄ 5 N (Brick *et al.* 1991; Greenberg *et al.* 1992; Akintokun *et al.* 2007; Saber *et al.* 2009).

Alat

Alat yang digunakan dalam kegiatan ini adalah *soil tester*, *Global Positioning System (GPS)*, *electroconductivity/pH/mV/TDS/Temp.* meter (AZ 86505), sekop kecil, kantung plastik hitam, *ice box*, karet gelang, botol sampel, alat tulis, *log book*, kamera digital, timbangan dan peralatan lainnya yang berkaitan dengan kegiatan sampling di lapangan. Kegiatan laboratorium menggunakan peralatan *bio clean bench* (Sanyo), oven (Memmert), tabung reaksi, cawan petri, lampu bunsen, rak tabung reaksi, shake inkubator (Bio shaker BR-23FP dan BR-3LF), timbangan digital (Sartorius), *magnetic stirrer*, botol semprot, *autoclave* (TOMY sx-500), *ose*, spektrofotometer (MAPADA), *genetic analyzer* (Type 3130), mikropipet, gelas ukur, botol *Schott*, bak plastik, hemositometer (Erma), mikroskop (Olympus CX31 dan BX51), mikroskopmanipulator (Nikon eclipse TE 2000-U), *test tube mixer* (SIBATA), lemari pendingin (Sharp), *colony counter* (STUART SCIENTIFIC), sentrifus (KOKUSAN H-15 FR, dan Kubota

6500), *gel-doc*, mesin *Polymerase Chain Reaction/PCR*(TAKARA), *DNA sequencer* dan buku tulis.

CARA KERJA

Pengambilan sampel dan isolasi

Pengambilan sampel dan isolasi didasarkan pada metode Waksman (1916) dan Garrett (1951) dengan beberapa modifikasi. Modifikasi berupa metode pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling*. Setiap plot terdiri dari 4 subplot. Pemilihan lokasi sampling didasarkan pada pendekatan faktor fisiologi dan ekologi kapang halotoleran. Sampel diambil dengan cara menggali tanah pada lapisan *rhizosphere* dengan ukuran 20 x 20 x 20 cm (panjang, lebar, dan kedalaman). Tanah sebanyak 2 kg kemudian dimasukkan dalam *polybag* hitam. Jumlah seluruh sampel tanah yang diambil adalah 28 sampel. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam *ice bag* hingga proses isolasi di laboratorium (Suciatmih & Kramadibata 2002).

Isolasi kapang dilakukan dengan metode *dilution*. Sebanyak 1 g tanah sampel yang telah homogen dilarutkan dalam 10 ml akuades steril. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Sebanyak 0,1 ml sampel dari pengenceran 10^4 dan 10^5 diambil secara aseptik kemudian ditanam pada cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah diberi *Chloramphenicol* dengan dosis 2 µg/ml. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Isolat kapang yang tumbuh kemudian diisolasi dan dihitung sebagai analisis *Total Plate Count* (TPC). Isolat yang tumbuh diobservasi morfologinya dengan mikroskop binocular. Isolat dominan yang tumbuh pada setiap sub plot dijadikan isolat untuk pengujian lebih lanjut. Preservasi dilakukan dengan media PDA miring pada suhu 16°C (Nakagiri 2005).

Uji kualitatif isolat sebagai kandidat biofertilizer

Uji kemampuan pelarutan fosfat

Isolat kapang dominan dari setiap sub plot kemudian diuji kemampuannya dalam melarutkan fosfat. Pengujian dilakukan dengan melihat adanya zona bening pada media tanam *pikovskaya* (Pikovskaya 1948; Saber *et al*, 2009). Zona

bening yang terbentuk di sekitar isolat media *pikovskaya* menjadi indikator adanya kemampuan kapang tersebut dalam melarutkan fosfat (Pradhan & Sukla 2005; Barroso *et al.* 2006; Chuang *et al.* 2006; Singh *et al.* 2011). Indek kelarutan atau *solubilization index* (SI) diukur dengan rumus:

$$SI = \frac{\text{diameter koloni} + \text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni}} \quad (1.1)$$

Hasil akhir uji kemampuan pelarutan fosfat diperoleh isolat yang berpotensi sebagai pelarut fosfat dari setiap plot sampling. Isolat tersebut kemudian akan digunakan untuk dilakukan pengujian pada tahap berikutnya.

Uji pertumbuhan isolat

Pertumbuhan biomassa merupakan salah satu indikator yang digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroba tumbuh pada media dan kondisi lingkungan tertentu. Kemampuan kapang halotoleran dalam solubilisasi senyawa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dan menghasilkan hormon tumbuh IAA dipengaruhi oleh biomassa miselia. Untuk mengetahui perbedaan karakteristik pertumbuhan kapang pada media padat dan cair dilakukan tiga uji: uji pertumbuhan miselia dengan menggunakan metode *radial growth*, uji pembentukan biomassa pada media cair menggunakan metode perhitungan berat kering, dan uji pembentukan spora pada media cair.

Uji *radial growth*

Isolat terpilih dari setiap plot sampling diuji kemampuan pertumbuhannya pada media PDA dengan variasi konsentrasi 0, 2, 5, 10, dan 20% NaCl, dengan 3 ulangan. Penanaman dilakukan dengan cara mengambil satu spora, kemudian ditanam pada bagian tengah cawan petri yang berisi media. Pengambilan spora dilakukan dengan mikroskop manipulator (Frohlich & Koning 2006). Parameter pertumbuhan ditentukan dengan mengukur besarnya diameter pertumbuhan isolat pada hari ke 6.

Uji pembentukan biomassa

Uji pembentukan biomassa didasarkan pada Mougín *et al.* (1994) dengan modifikasi. Pengujian dilakukan dengan menanam isolat terpilih pada media taugé ekstrak dengan variasi konsentrasi 0, 2, 5, 10, dan 20% NaCl dalam botol *Schott* 200 ml. Sebanyak 100 ml media taugé ekstrak dengan variasi konsentrasi NaCl diinokulasi dengan 10 ml suspensi spora atau sekitar $3,2 \times 10^5$ spora/ml. Suspensi spora diperoleh dengan cara mencampurkan 10 ml akuades steril ke dalam tabung reaksi yang berisi isolat uji berumur 4 hari. Media taugé ekstrak dengan variasi konsentrasi NaCl yang berisi suspensi spora kemudian distirer dengan kecepatan 150 rpm selama 6 hari. Setelah 6 hari dilakukan pemanenan.

Pemanenan dilakukan dengan cara mencuci isolat dengan menambahkan air murni sebanyak 100 ml (TDS=0) kemudian disentrifuse (3000 rpm) selama 3 menit. Pencucian dilakukan sebanyak 5 kali pada media pertumbuhan. Media tumbuh yang berisi biomassa kemudian disaring dengan kertas saring dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40^0 C, kemudian ditimbang sampai diperoleh bobot stabil (Mougín *et al.* 1994).

Isolat yang memiliki bobot kering tertinggi kemudian dihitung jumlah sporanya menggunakan hemositometer. Perhitungan spora dilakukan pada 5 bilik hitung yang berukuran $200 \times 200 \mu\text{m}$ dengan bantuan mikroskop binokular dengan perbesaran 40×10 .

Uji isolat terpilih dalam pelarutan fosfat

Analisis pelarutan fosfat pada isolat terpilih dilakukan pada kondisi salin dengan berbagai variasi konsentrasi 0, 2, 5, 10, dan 20% NaCl. Analisis pelarutan fosfat dilakukan berdasarkan Yadav dan Tarafdar (2010) dengan modifikasi. Modifikasi yang dilakukan adalah pemberian konsentrasi NaCl yang bervariasi pada media *pikovskaya*.

Isolat kapang berpotensi ditumbuhkan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml media PDA + 2% glukosa, kemudian diinkubasi pada suhu 28^0 C selama 4 hari. Setelah itu isolat yang tumbuh pada tabung reaksi ditambahkan akuades

steril sebanyak 5 ml. Seluruh spora yang tumbuh dikerik dengan ose lalu dihomogenasi. Spora yang sudah homogen tersebut diambil 0,1 ml ($3,2 \times 10^5$ spora/ml), kemudian ditanam pada media *pikovskaya* 10 ml dalam tabung reaksi dengan berbagai konsentrasi NaCl yaitu 0, 2, 5, 10, dan 20%. Setiap konsentrasi NaCl yang berbeda dilakukan 3 kali pengulangan, kemudian diinkubasi selama 144 jam pada *shaker incubator* suhu 30° C dengan kecepatan 100 rpm.

Pengukuran kelarutan fosfat dilakukan pada 72 dan 144 jam inkubasi, dengan cara mengambil 1 ml sampel yang diencerkan 10 kali, distirer, kemudian dipipet 1 ml, dan dimasukkan dalam ependorf. Sampel kemudian disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang, kemudian diambil 500 μ l sampel bagian atasnya dan direaksikan dengan 200 μ l *mix reagen*. Setelah didiamkan selama 20 menit, sampel kemudian dibaca pada panjang gelombang 880 nm. Adanya perubahan warna biru pada sampel menunjukkan adanya pelarutan fosfat (Yadav *et al.* 2011).

Kurva standar fosfat

Larutan standar dibuat dengan cara membuat larutan KH_2PO_4 dalam beberapa konsentrasi, yaitu 0; 0,1; 0,5; 1,5; 3; 5 dan 10 ppm. Selanjutnya diambil 50 μ l dari setiap larutan standar KH_2PO_4 dan ditambahkan 160 μ l *mix reagen*, kemudian dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer pada 880 nm. Hasil pembacaan dengan spektrofotometer berupa regresi linier digunakan sebagai kurva standar (Greenberg *et al.* 1992).

Identifikasi

Satu isolat terpilih yang memiliki pertumbuhan dan pelarutan fosfat terbaik kemudian diidentifikasi. Identifikasi dilakukan dengan melakukan pengamatan morfologi kapang secara makroskopis dan mikroskopis dengan mikroskop binokular serta *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pengamatan makroskopis berupa warna dan permukaan koloni. Pengamatan secara mikroskopis atau SEM diantaranya ada tidaknya septa pada hifa, pigmentasi hifa, bentuk dan orientasi spora, bentuk dan warna konidia serta vesikel. Hasil pengamatan tersebut kemudian dicocokkan dengan buku identifikasi atau monograf kapang yang ditulis

oleh Barnett (1969), Domsch *et al.* (1980), Germain & Summerbell (1996) dan Miyadoh *et al.* (2006).

Selain identifikasi mikroskopis, dilakukan pula identifikasi molekuler dengan metode *sequencing* daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dari *chromosomal* DNA (Guarro *et al.* 1999). Tahapan yang dilakukan dalam identifikasi molekuler adalah analisis genotip, yang meliputi:

Isolasi DNA dan amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Sampel kapang ditumbuhkan pada media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB), kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28⁰ C. Biomassa miselia yang tumbuh kemudian dipanen untuk diekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan reagen *nucleon PHYTOpure*.

Amplifikasi PCR dilakukan dengan cara mencampur 1 µl ekstrak genom DNA sebagai cetakan dengan 10 µl akuades steril, 12,5 µl *GoTaq Green Master Mix*, 0,5 µl DMSO, dan 0,5 µl primer. Amplifikasi dilakukan dengan alat PCR TAKaRa PCR Thermal Cycler P650 yang diprogram dengan kondisi: denaturasi pada suhu 95⁰ C selama 3 menit, pengulangan sebanyak 35 siklus dari pembukaan untai DNA pada suhu 95⁰ C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 55⁰ C selama 30 detik, dan pemanjangan primer pada suhu 72⁰ C selama 1 menit.

Perangkat primer pada situs ITS1, 5,8S dan ITS2 rDNA menggunakan primer ITS 4F 5'—TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3' dan primer ITS 5R 5' –GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G -3'. Perangkat primer pada *domain* D1/D2 subunit besar rDNA menggunakan primer NL1F 5'-GCATATCAATAAGCGGAAAAG-3' dan primer NL4R 5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3' (White *et al.* 1990).

Pemilihan situs ITS1, 5.8S dan ITS2 didasarkan pada panjangnya daerah yang dianalisis yaitu 600 bp. Disamping itu daerah ITS1 dan ITS2 merupakan daerah *variable* yaitu daerah dimana mudah mengalami mutasi. Situs 5.8S merupakan salah satu daerah *coding*, tidak mudah mengalami mutasi. Kedua daerah ini memungkinkan untuk membuat basis data sekuen yang dapat digunakan untuk melakukan identifikasi suatu kapang sampai tingkat jenis (Kumar & Shukla 2005).

DNA yang teramplifikasi kemudian dimurnikan dengan metode *PEG precipitation* (Hiraishi *et al.* 1995). Hasil PCR yang telah dimurnikan kemudian disekuensing dengan mesin sekuenser ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer.

Data hasil sekuensing selanjutnya di *trimming* dengan menggunakan program MEGA 4 dan *assembling* dengan program BioEdit dan dikonfersi dalam bentuk FASTA format. Hasil sekuensing DNA tersebut kemudian di BLAST untuk mencari homologi secara *on line* di pusat basis data DNA di DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp>) dan NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Sato 2007).

Pengujian pembentukan IAA

Isolat terpilih hasil seleksi kemudian dilakukan uji pembentukan hormon indole-3-acetic acid (IAA). Metode analisis IAA dilakukan menurut Brick *et al.* (1991) dan Yadav *et al.* (2011). Isolat berpotensi ditumbuhkan pada media tauge ekstrak agar (TEA) yang ditambahkan 2% glukosa. Setelah diinkubasi selama 4 hari, dipindah dalam botol *Schott* 250 ml yang berisi 100 ml media tauge ekstrak + glukosa 2% + NaCl dengan variasi konsentrasi 0, 2, 5, 10, dan 20%. Pemindahan dilakukan dengan cara isolat pada media tauge ekstrak padat diberi akudes steril 10 ml. Permukaan agar yang ditumbuhi isolat dikerik dengan ose, kemudian seluruh suspensi spora atau sekitar $3,2 \times 10^5$ spora/ml dipindahkan dalam botol *Schott*. Isolat dalam botol *Schott* kemudian distirer dengan kecepatan 250 rpm selama 5 hari.

Masing-masing isolat dalam botol *Schott* setelah 5 hari diambil 0,1 ml untuk diinokulasikan pada 10 ml media triptofan dalam tabung reaksi. Kultur kemudian diinkubasi dengan *shaker incubator* pada suhu 30° C dengan kecepatan 100 rpm. Setiap sampel dilakukan pengujian pembentukan IAA pada 48, 96 dan 144 jam setelah inkubasi.

Pengujian pembentukan IAA dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 2 ml sampel pada tabung ependorf. Sampel kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm suhu 25° C. Masing masing sampel kemudian diambil 1,5 ml direaksikan dengan 1 ml reagen *Salkowski* pada tabung reaksi. Sampel didiamkan selama 30 menit, untuk kemudian diukur dengan

spektrofotometer pada 530 nm. Adanya perubahan warna menjadi merah jambu pada sampel menunjukkan adanya IAA.

Kurva Standar IAA

Larutan standar IAA dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 0; 0,1; 0,4; 0,8; 1,2; 1,4 dan 1,6 ppm. Selanjutnya diambil 1,5 ml dari setiap larutan standar IAA dan ditambahkan 1ml reagen *Salkowsky*. Kandungan IAA diukur dengan spektrofotometer pada 530 nm. Hasil pembacaan dijadikan sebagai kurva standar (Brick *et al.* 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan seleksi kapang halotoleran

Isolasi 16 sampel yang berasal dari ekosistem mangrove di Pulau Laki, Kepulauan Seribu diperoleh 36 isolat kapang, dengan kepadatan populasi berkisar antara $(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$ sampai $(8,2 \pm 0,4) \times 10^3$ cfu/g. Sampel yang berasal dari ekosistem mangrove Suwung berjumlah 12 sampel diperoleh 38 isolat kapang dengan kelimpahan populasi berkisar antara $(2,3 \pm 0,1) \times 10^4$ sampai $(3,3 \pm 0,2) \times 10^5$ cfu/g. Hasil pengamatan morfologis diketahui genus kapang yang ditemukan di ekosistem mangrove Pulau Laki adalah *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*, sedangkan pada ekosistem mangrove Suwung ditemukan *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, dan *Trichoderma* (Tabel I.1 dan I.2). Satu isolat dominan dari setiap sub sampling diambil untuk analisis lebih lanjut, sehingga jumlah isolat yang akan diuji dalam pelarutan fosfat berjumlah 28 isolat.

Data Tabel 1.1 dan 1.2 menunjukkan adanya perbedaan keragaman dan kelimpahan kapang dari kedua lokasi sampling. Perbedaan ini disebabkan oleh kondisi ekosistem yang berbeda pada kedua lokasi pengambilan sampel. Ekosistem mangrove Pulau Laki merupakan ekosistem pantai dimana tanahnya didominasi oleh pasir, sedangkan ekosistem mangrove Suwung, tanahnya merupakan lempung yang kaya dengan humus. Kondisi ini terlihat dari lingkungan dengan tanaman bakau yang tumbuh subur. Serasah tanaman bakau

merupakan sumber bahan organik yang sangat diperlukan oleh mikroba untuk pertumbuhan.

Tabel I.1 Kelimpahan kapang halotoleran pada ekosistem mangrove di Pulau Laki, Kepulauan Seribu (050 58'46.3''LS, 106032'10,5''BT)

No.	Lokasi	Sub sampling	Populasi Total (CFU)	Kode Isolat	Identifikasi Genus	Dominan		
1	Plot LA	1	$(3,6 \pm 0,2) \times 10^3$	PLA.1.1	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>		
				PLA.1.2	<i>Aspergillus</i>			
				PLA.1.3	<i>Curvularia</i>			
		2	$(3,3 \pm 0,2) \times 10^3$	PLA.2.1	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>		
PLA.2.2	<i>Penicillium</i>							
		3	$(8,2 \pm 0,4) \times 10^3$	PLA.3.1	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>		
				PLA.3.2	<i>Penicillium</i>			
				PLA.3.3	<i>Aspergillus</i>			
		4	$3,3 \times 10^3$	PLA.4.1	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>		
2	Plot LB	1	$(2,5 \pm 0,2) \times 10^3$	PLB.1.1	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>		
				2	$(4,5 \pm 0,2) \times 10^3$		PLB.2.1	<i>Aspergillus</i>
							PLB.2.2	<i>Curvularia</i>
							PLB.2.3	<i>Penicillium</i>
				4	$(3,8 \pm 0,2) \times 10^3$	PLB.2.4	<i>Fusarium</i>	
		3	$(4,6 \pm 0,2) \times 10^3$	PLB.3.1		<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	
				PLB.3.2		<i>Rhizopus</i>		
				PLB.3.3		<i>Penicillium</i>		
		4	$(3,8 \pm 0,2) \times 10^3$	PLB.4.1	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>		
		PLB.4.2		<i>Fusarium</i>				
		PLN.4.3		<i>Rhizopus</i>				
3	Plot LC	1	$(3,3 \pm 0,2) \times 10^3$	PLC.1.1	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>		
				PLC.1.2	<i>Aspergillus</i>			
		2	$(5,0 \pm 0,3) \times 10^3$	PLC.2.1	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>		

Lanjutan I.1

No.	Lokasi	Sub sampling	Populasi Total (CFU)	Kode Isolat	Identifikasi Genus	Dominan
		3	$(6,3 \pm 0,3) \times 10^3$	PLC.3.1 PLC.3.2	<i>Fusarium</i> <i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>
		4	$(5,4 \pm 0,3) \times 10^3$	PLC.4.1 PLC.4.2 PLC.4.3	<i>Penicillium</i> <i>Curvularia</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Penicillium</i>
4	Plot LD	1	$(6,0 \pm 0,3) \times 10^3$	PLD.1.1 PLD.1.2	<i>Rhizopus</i> <i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>
		2	$(4,6 \pm 0,2) \times 10^3$	PLD.2.1 PLD.2.2 PLD.2.3	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Mucor</i>	<i>Aspergillus</i>
		3	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$	PLD.3.1	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>
		4	$(4,0 \pm 0,2) \times 10^3$	PLD.4.1 PLD.4.2	<i>Penicillium</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Penicillium</i>

Tabel I.2 Kelimpahan kapang halotoleran pada ekosistem mangrove Suwung, Bali (08044'53.41''LS, 115010'1.82''BT)

No.	Lokasi	Sub sampling	Populasi Total (CFU)	Kode Isolat	Genus	Dominan
1	Plot BA	1	$(6,6 \pm 0,3) \times 10^4$	PBA.1.1 PBA.1.2 PBA.1.3	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Curvularia</i>	<i>Aspergillus</i>
		2	$(7,6 \pm 0,4) \times 10^4$	PBA.2.1 PBA.2.2 PBA.2.3 PBA.2.4	<i>Fusarium</i> <i>Mucor</i> <i>Aspergillus</i> <i>Trichoderma</i>	<i>Aspergillus</i>
		3	$(5,3 \pm 0,3) \times 10^4$	PBA.3.1 PBA.3.2	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>
		4	$(5,3 \pm 0,3) \times 10^4$	PBA.4.1 PBA.4.2	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>

Lanjutan I.2

No.	Lokasi	Sub sampling	Populasi Total (CFU)	Kode Isolat	Genus	Dominan
2	Plot BB	1	$(6,6 \pm 0,4) \times 10^4$	PBB.1.1	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>
				PBB.1.2	<i>Mucor</i>	
				PBB.1.3	<i>Rhizopus</i>	
		2	$(5,6 \pm 0,4) \times 10^4$	PBB.2.1	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>
				PBB.2.2	<i>Penicillium</i>	
				PBB.2.3	<i>Mucor</i>	
		3	$(7,3 \pm 0,4) \times 10^4$	PBB.3.1	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>
				PBB.3.2	<i>Fusarium</i>	
				PBB.3.3	<i>Penicillium</i>	
		4	$(6,3 \pm 0,3) \times 10^4$	PBB.4.1	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>
				PBB.4.2	<i>Aspergillus</i>	
				PBB.4.3	<i>Trichoderma</i>	
				PBB.4.4	<i>Fusarium</i>	
3	Plot BC	1	$(3,3 \pm 0,2) \times 10^5$	PBC.1.1	<i>Fusarium</i>	<i>Aspergillus</i>
				PBC.1.2	<i>Geotrichum</i>	
				PBC.1.3	<i>Aspergillus</i>	
				PBC.1.4	<i>Penicillium</i>	
		2	$(2,3 \pm 0,1) \times 10^5$	PBC.2.1	<i>Rhizopus</i>	<i>Aspergillus</i>
				PBC.2.2	<i>Mucor</i>	
				PBC.2.3	<i>Penicillium</i>	
				PBC.2.4	<i>Aspergillus</i>	
		3	$(2,3 \pm 0,1) \times 10^4$	PBC.3.1	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>
				PBC.3.2	<i>Penicillium</i>	
				PBC.3.3	<i>Fusarium</i>	
		4	$(2,3 \pm 0,1) \times 10^4$	PBC.4.1	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>
				PBC.4.2	<i>Aspergillus</i>	
				PBC.4.3	<i>Rhizopus</i>	

Mikroba pada *rhizosphere* berperan penting dalam mineralisasi dan stimulasi pertumbuhan tanaman (Sudiana 2004; Singh *et al.* 2011). Salah satu fungsi mikroba *rhizosphere* adalah menghasilkan hormon tumbuh yang berfungsi memacu pertumbuhan akar tanaman. Beberapa mikroba tanah seperti kapang memiliki peran penting dalam ekosistem salin, dengan menghasilkan hormon

tumbuh (Cemerman *et al.* 2009; Hasan 2002; Bilkay *et al.* 2010; Kohler *et al.* 2010; Khan & Anwar 2011). Pertumbuhan tanaman yang baik umumnya mencerminkan kondisi perakaran dan pertumbuhan mikroba yang subur pada lapisan *rhizosphere* (Hasan 2002; Yadav & Tarafdar 2010).

Uji kemampuan isolat dalam pelarutan fosfat

Mikroba *rhizosphere* secara *in vitro* memiliki kemampuan yang berbeda dalam pelarutan fosfat (Alam *et al.* 2002). Fenomena tersebut juga terjadi pada kapang. Kapang dapat tumbuh dalam media dasar tertentu yang mengandung senyawa fosfat tidak larut sebagai satu-satunya sumber fosfat. Jika fosfat tersebut disuspensikan dalam media agar, maka media tersebut akan menjadi keruh. Isolat-isolat kapang yang mampu melarutkan fosfat akan merubah media yang keruh menjadi bening. Fenomena terbentuknya zona bening di sekitar koloni kapang mengindikasikan kemampuan kapang dalam melarutkan fosfat.

Hasil pengujian pelarutan fosfat terhadap 28 isolat dominan yang berasal dari sub plot di dua lokasi sampling, diperoleh 7 isolat dari setiap plot yang memiliki indek kelarutan fosfat tertinggi. Isolat-isolat tersebut adalah: *Penicillium* (PLA.2.2) 2,50; *Aspergillus* (PLB.2.1) 2,53; *Aspergillus* (PLC.3.2) 2,55; *Aspergillus* (PLD.2.1) 2,70; *Aspergillus* (PBA.1.1) 2,63; *Aspergillus* (PBB.3.1) 2,71 dan *Aspergillus* (PBC. 1.3) 2,56 (Tabel I.3). Hasil tersebut juga menunjukkan kapang *Aspergillus* dan *Penicillium* merupakan kapang halotoleran yang memiliki indek kelarutan fosfat tertinggi untuk setiap plot sampling.

Aspergillus dan *Penicillium* merupakan dua genus kapang yang memiliki sebaran luas dan digolongkan sebagai kapang halotoleran (Moubasher *et al.* 1990; Cemerman *et al.* 2009). Perbedaan indek kelarutan fosfat yang ada menunjukkan perbedaan kemampuan kapang-kapang tersebut dalam melarutkan fosfat anorganik. Setiap isolat kapang pelarut fosfat memiliki kemampuan yang berbeda dalam menggunakan senyawa fosfat anorganik yang terdapat dalam media *Pikovskaya* untuk pertumbuhannya (Kapoor *et al.* 1989; Barroso *et al.* 2006; Achal *et al.* 2007; Akintokun *et al.* 2007).

Tabel I.3 Kemampuan pembentukan zona bening isolat-isolat kapang halotoleran

No.	Kode isolat	Genus	Diameter koloni (cm)	Diameter zona bening (cm)	Ratio pelarutan fosfat (SI)
1	PLA.1.1	<i>Penicillium</i>	2,4 ± 0,15	3,4 ± 0,17	2,42
2	PLA.2.2	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,07	3,3 ± 0,08	2,50
3	PLA.3.2	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,09	3,2 ± 0,05	2,46
4	PLA.4.1	<i>Aspergillus</i>	2,2 ± 0,18	3,2 ± 0,06	2,46
5	PLB.1.1	<i>Aspergillus</i>	2,3 ± 0,14	3,4 ± 0,17	2,48
6	PLB.2.1	<i>Aspergillus</i>	2,3 ± 0,19	3,5 ± 0,15	2,53
7	PLB.3.3	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,16	3,2 ± 0,11	2,46
8	PLB.4.3	<i>Rhizopus</i>	1,6 ± 0,12	2,0 ± 0,15	2,25
9	PLC.1.1	<i>Penicillium</i>	2,4 ± 0,21	3,0 ± 0,24	2,25
10	PLC.2.1	<i>Aspergillus</i>	2,4 ± 0,18	3,6 ± 0,14	2,50
11	PLC.3.2	<i>Aspergillus</i>	2,2 ± 0,16	3,4 ± 0,13	2,55
12	PLC.4.1	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,19	3,2 ± 0,14	2,46
13	PLD.1.2	<i>Fusarium</i>	2,2 ± 0,12	3,4 ± 0,17	2,25
14	PLD.2.1	<i>Aspergillus</i>	2,0 ± 0,08	3,4 ± 0,09	2,70
15	PLD.3.1	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,13	3,3 ± 0,19	2,50
16	PLD.4.1	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,18	3,4 ± 0,15	2,55
17	PBA.1.1	<i>Aspergillus</i>	2,7 ± 0,09	4,4 ± 0,07	2,63
18	PBA.2.3	<i>Aspergillus</i>	2,8 ± 0,13	4,0 ± 0,18	2,43
19	PBA.3.1	<i>Aspergillus</i>	2,7 ± 0,16	4,0 ± 0,18	2,49
20	PBA.4.1	<i>Aspergillus</i>	2,7 ± 0,21	4,0 ± 0,27	2,49
21	PBB.1.1	<i>Penicillium</i>	2,7 ± 0,13	4,0 ± 0,17	2,49
22	PBB.2.2	<i>Penicillium</i>	2,8 ± 0,17	4,2 ± 0,15	2,50
23	PBB.3.1	<i>Aspergillus</i>	3,1 ± 0,05	5,3 ± 0,06	2,71
24	PBB.4.2	<i>Aspergillus</i>	2,8 ± 0,18	4,6 ± 0,12	2,65
25	PBC.1.3	<i>Aspergillus</i>	2,5 ± 0,17	3,9 ± 0,14	2,56
26	PBC.2.4	<i>Aspergillus</i>	2,6 ± 0,25	4,0 ± 0,29	2,54
27	PBC.3.2	<i>Penicillium</i>	2,6 ± 0,22	4,0 ± 0,23	2,54
28	PBC.4.1	<i>Penicillium</i>	2,6 ± 0,19	4,0 ± 0,24	2,54

Keterangan : Baris yang diarsir menunjukkan isolat yang memiliki indeks kelarutan fosfat tertinggi untuk setiap plot sampling.

Uji pertumbuhan pada variasi salinitas

Hasil uji pertumbuhan pada variasi konsentrasi NaCl menunjukkan dari 7 isolat terpilih yang diuji 4 isolat mampu tumbuh sampai konsentrasi 20% NaCl dan 3 isolat lainnya tidak dapat tumbuh. Empat isolat yang mampu tumbuh pada konsentrasi 20% NaCl, satu isolat berasal dari Pulau Laki yaitu *Aspergillus* (PLB.2.1) dan 3 isolat berasal dari Suwung yaitu *Aspergillus* (PBA.1.1), *Aspergillus* (PBB.3.1), dan *Aspergillus* (PBC.1.3). Tiga isolat yang tidak tumbuh pada konsentrasi 20% NaCl adalah *Penicillium* (PLA 2.2), *Aspergillus* (PLC 3.2) dan *Aspergillus* (PLD 2.1) (Tabel I.4).

Tabel I.4 Pertumbuhan isolat-isolat terseleksi hari ke 6 pada media PDA dalam variasi konsentrasi NaCl dengan parameter *radial growth*

No	Kode isolat	Genus	Pertumbuhan kapang pada variasi salinitas (cm)				
			0%	2%	5%	10%	20%
1	PLA.2.2	<i>Penicillium</i>	2,2 ± 0,14	3,6 ± 0,18	2,5 ± 0,25	0,8 ± 0,20	-
2	PLB.2.1	<i>Aspergillus</i>	2,0 ± 0,15	2,2 ± 0,13	1,0 ± 0,16	0,8 ± 0,22	0,4 ± 0,16
3	PLC.3.2	<i>Aspergillus</i>	3,4 ± 0,08	3,4 ± 0,14	2,0 ± 0,24	0,5 ± 0,15	-
4	PLD.2.1	<i>Aspergillus</i>	2,5 ± 0,18	2,5 ± 0,16	1,0 ± 0,27	0,4 ± 0,16	-
5	PBA.1.1	<i>Aspergillus</i>	3,6 ± 0,18	3,5 ± 0,17	2,4 ± 0,22	1,0 ± 0,24	0,6 ± 0,19
6	PBB.3.1	<i>Aspergillus</i>	5,0 ± 0,08	8,2 ± 0,11	6,0 ± 0,06	4,0 ± 0,05	1,0 ± 0,25
7	PBC.1.3	<i>Aspergillus</i>	4,5 ± 0,17	5,0 ± 0,19	3,5 ± 0,09	1,6 ± 0,14	0,4 ± 0,18

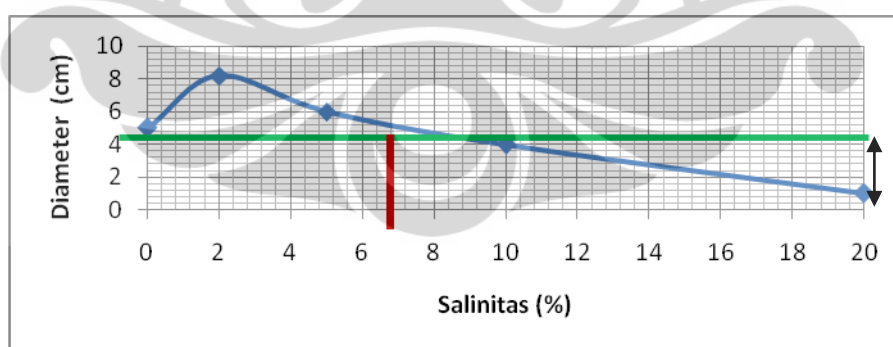
Konsentrasi 20% NaCl diduga merupakan konsentrasi batas atas kemampuan tumbuh isolat-isolat *Aspergillus* (PLB.2.1), *Aspergillus* (PBA.1.1), *Aspergillus* (PBB.3.1) dan *Aspergillus* (PBC.1.3), sedangkan 3 isolat lainnya yaitu *Penicillium* (PLA 2.2), *Aspergillus* (PLC 3.2) dan *Aspergillus* (PLD 2.1) batas konsentrasi tumbuhnya hanya pada konsentrasi 10%. Fenomena tersebut dapat ditunjukkan dengan besarnya diameter koloni kapang yang terbentuk (Kogej *et al.* 2005) baik pada konsentrasi 20% maupun 10% NaCl.

Kemampuan tumbuh kapang pada lingkungan salin sangat ditentukan oleh mekanisme pertahanan sel dalam mengatasi kondisi salin. Beberapa hasil penelitian membuktikan salinitas yang rendah dapat menjadi pemacu pertumbuhan kapang, sedang salinitas yang tinggi akan terjadi sebaliknya.

Menurut Hasan (1998) salinitas 1-6% NaCl dapat memacu pertumbuhan kapang *Aspergillus* lebih baik. Hasil penelitian Kogej *et al.* (2005), konsentrasi 10% NaCl dapat menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus*, sedangkan konsentrasi 17% NaCl merupakan batas atas kemampuan tumbuh kapang tersebut.

Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kemampuan ketahanan kapang terhadap salinitas adalah pembentukan metabolit sel seperti *polyol* (*polyhydric alcohol*) seperti geliserol, manitol, dan sorbitol (Kelavkar & Chhatpar 1993). Argumen ini didasarkan pada analisis pertumbuhan *Aspergillus repens* yang ditumbuhkan pada kondisi salinitas 2 M NaCl, dimana terjadi peningkatan kadar Na^+ , K^+ , dan kadar *polyol* di dalam sel. Peningkatan konsentrasi Na^+ dan K^+ diduga terkait langsung dengan konsentrasi *polyol*, namun tidak terjadi perubahan ratio Na^+/K^+ . Hal ini menunjukkan bahwa peran *polyol* tidak berkaitan langsung dengan Na^+ dan K^+ , akan tetapi berfungsi sebagai pengatur tekanan osmosis sel, pengatur cadangan karbohidrat, tempat penyimpanan senyawa pereduksi, regulator osmosis sel dan peran coenzym. Senyawa *polyol* juga merupakan senyawa yang mudah dipindahkan di dalam sel.

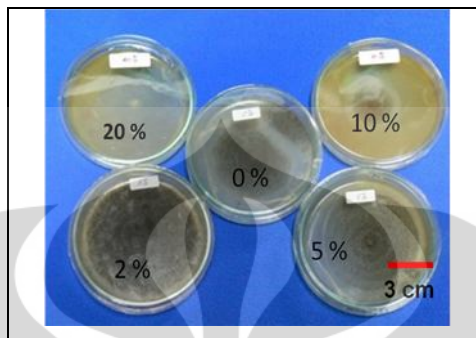
Pola pertumbuhan isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) menunjukkan konsentrasi 2% NaCl merupakan konsentrasi optimal untuk pertumbuhan pada media padat PDA. Konsentrasi di atas 2% NaCl pertumbuhan menurun bahkan pada konsentrasi di atas 7% NaCl terjadi penghambatan pertumbuhan (Gambar 1.1).



Gambar 1.1 Grafik diameter pertumbuhan *Aspergillus* (PBB 3.1) pada medium PDA pada berbagai salinitas

Hasan (1998) miselia kapang *Aspergillus* masih dapat tumbuh baik pada rentang konsentrasi 1-6% NaCl. Kemampuan tumbuh isolat *Aspergillus* (PBB

3.1) pada konsentrasi 0 sampai 20% menunjukkan karakteristik fisiologis yang berbeda (Gambar I.2). Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya kemampuan tumbuh yang berbeda pada salinitas yang berbeda dan produksi hormon tumbuh seperti IAA.



Gambar I.2 Pertumbuhan isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) pada PDA dengan berbagai variasi konsentrasi NaCl

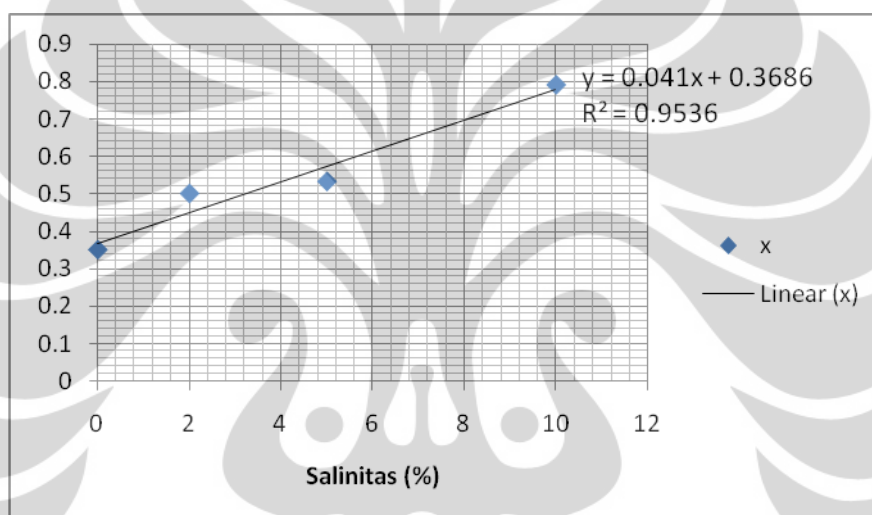
Uji pembentukan biomassa

Hasil uji pembentukan biomassa menunjukkan, semua isolat dapat tumbuh pada semua variasi konsentrasi NaCl. Tiga isolat yaitu *Penicillium* (PLA.2.2), *Aspergillus* (PLC.3.2), *Aspergillus* (PLD.2.1) menunjukkan pertumbuhan yang sangat kecil pada konsentrasi NaCl 20%. Satu isolat yaitu *Aspergillus* (PBB.3.1) menunjukkan pertumbuhan biomassa kering tertinggi pada semua variasi konsentrasi NaCl (Tabel I.5.).

Tabel I.5 Pertumbuhan isolat kapang terseleksi pada variasi konsentrasi NaCl dengan parameter berat kering/biomassa

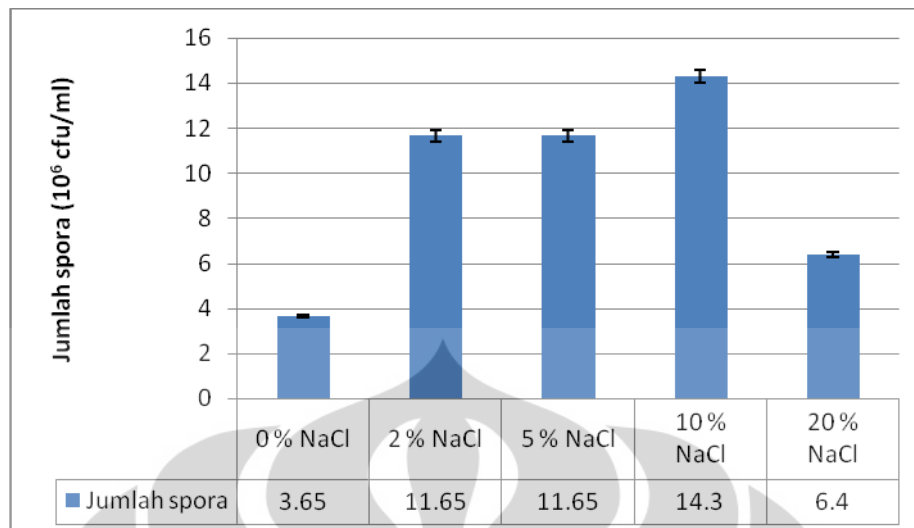
No	Kode Isolat	Genus	Pertumbuhan kapang pada variasi salinitas (berat kering g.L ⁻¹)				
			0%	2%	5%	10%	20%
1	PLA.2.2	<i>Penicillium</i>	0,132 ± 0,02	0,174 ± 0,05	0,276 ± 0,03	0,330 ± 0,02	0,008 ± 0,04
2	PLB.2.1	<i>Aspergillus</i>	0,100 ± 0,01	0,204 ± 0,04	0,232 ± 0,02	0,336 ± 0,05	0,420 ± 0,03
3	PLC.3.2	<i>Aspergillus</i>	0,196 ± 0,04	0,222 ± 0,02	0,252 ± 0,03	0,304 ± 0,05	0,008 ± 0,05
4	PLD.2.1	<i>Aspergillus</i>	0,172 ± 0,02	0,216 ± 0,03	0,230 ± 0,03	0,300 ± 0,06	0,008 ± 0,02
5	PBA.1.1	<i>Aspergillus</i>	0,204 ± 0,03	0,232 ± 0,04	0,262 ± 0,02	0,374 ± 0,04	0,540 ± 0,02
6	PBB.3.1	<i>Aspergillus</i>	0,350 ± 0,02	0,502 ± 0,05	0,534 ± 0,02	0,790 ± 0,05	0,802 ± 0,06
7	PBC.1.3	<i>Aspergillus</i>	0,240 ± 0,06	0,384 ± 0,02	0,426 ± 0,06	0,504 ± 0,05	0,532 ± 0,04

Salinitas dan biomassa memiliki hubungan yang signifikan (Gambar I.3). Salinitas yang meningkat menunjukkan biomassa yang meningkat. Mekanisme toleransi kemungkinan terjadi dengan pembentukan polyol dalam sel kapang yang berfungsi sebagai cadangan makanan. Pembentukan polyol mengakibatkan biomassa kapang meningkat. Mekanisme tersebut merupakan salah satu kemampuan yang dimiliki oleh kapang halotoleran. Kondisi yang sama pernah dibuktikan oleh Kelavkar dan Chhatpar (1993), dimana kapang halotoleran *Aspergillus repens* yang ditumbuhkan dalam kondisi lingkungan salin akan membentuk polyol lebih banyak.



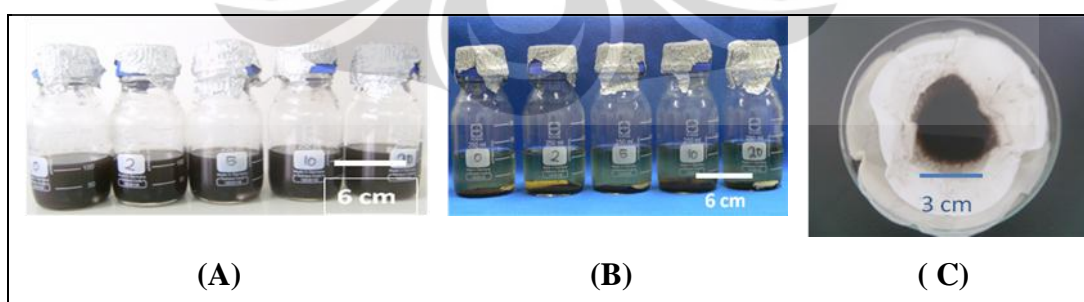
Gambar I.3 Analisis regresi hubungan antara salinitas dan biomassa (berat kering) isolat *Aspergillus* (PBB 3.1)

Untuk mengetahui pengaruh salinitas terhadap pembentukan spora dilakukan perhitungan jumlah spora pada masing-masing perlakuan. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui apakah salinitas mempunyai pengaruh yang berbeda pada pembentukan spora. Hasil perhitungan jumlah spora isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) menunjukkan konsentrasi NaCl berpengaruh terhadap jumlah spora. Konsentrasi 10% NaCl mampu menghasilkan jumlah spora terbanyak (Gambar I.4).



Gambar I.4 Jumlah spora isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) pada berbagai variasi konsentrasi NaCl.

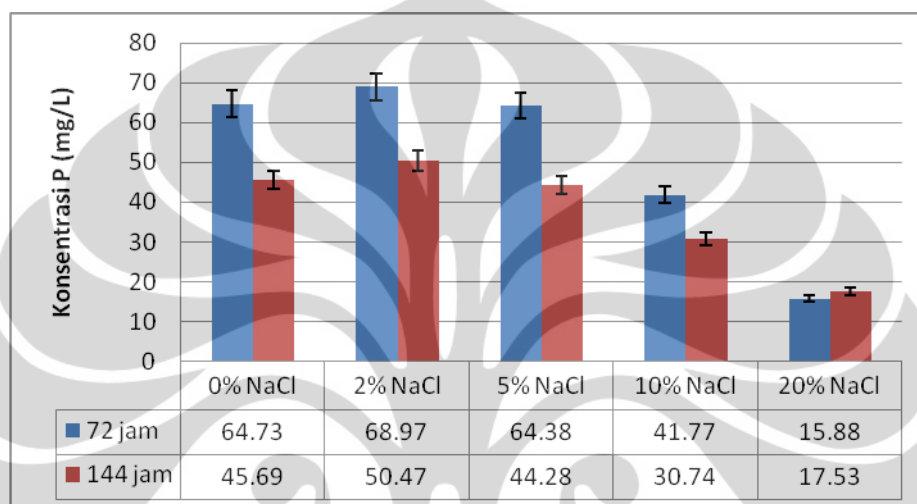
Pembentukan spora terjadi karena terhambatnya pertumbuhan kapang akibat stres salinitas. Gambar I.3 menunjukkan bahwa peningkatan jumlah spora terjadi pada konsentrasi 2 - 10% NaCl. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa pada konsentrasi 2 – 10% NaCl kapang mengalami stress salinitas, sehingga spora dibentuk sebagai bentuk pertahanan diri untuk tetap hidup. Salinitas 20% jumlah spora menurun sampai 60%. Fenomena ini menunjukkan bahwa salinitas 10% NaCl merupakan batas atas salinitas yang bisa ditolelir oleh kapang *Aspergillus* (PBB 3.1). Menurut Kogej *et al.* (2005) kapang halotoleran seperti *Aspergillus pullulans* memiliki ketahanan untuk dapat tumbuh sampai salinitas 17% NaCl.



Gambar I.5 Pembentukan biomassa isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) pada berbagai variasi konsentrasi NaCl

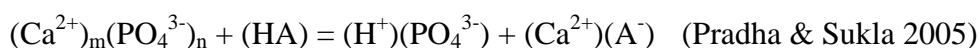
Uji kelarutan fosfat isolat *Aspergillus* PBB.3.1

Kemampuan pelarutan fosfat isolat kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) dipengaruhi oleh konsentrasi NaCl dan waktu inkubasi. Kelarutan fosfat tertinggi yaitu $68,97 \text{ mgL}^{-1}$ dicapai pada perlakuan konsentrasi 2% NaCl dengan waktu inkubasi 72 jam. Sedangkan nilai terendah diperlihatkan pada perlakuan konsentrasi 20% NaCl waktu inkubasi 72 jam yaitu $15,88 \text{ mgL}^{-1}$ (Gambar I.6).



Gambar I.6 Profil kelarutan fosfat isolat kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) pada berbagai variasi konsentrasi NaCl

Pengaruh salinitas terhadap kemampuan pelarutan fosfat melalui mekanisme ikatan ion-ion yang terdapat pada Ca. Kondisi ini mengakibatkan fosfat menjadi bentuk yang tidak terlarut (Pradhan & Sukla 2005). Peran *Aspergillus niger* PBB.3.1 adalah membantu pelarutan fosfat melalui pembentukan asam organik. Asam organik tersebut terbentuk melalui biokonversi gula reduksi seperti glukosa menjadi asam organik (asam glukonat, asam laktat, dan asam sitrat) (Sudiana 2004). Kondisi ini dapat menyebabkan terjadinya penurunan pH (Tabel I.6) serta fosfat berada dalam bentuk ioniknya (HPO_4^{2-}) yang dapat digunakan oleh *Aspergillus niger* PBB.3.1 (Pradhan & Sukla 2005).



Tabel I.6 Kelarutan fosfat dan pH kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) waktu inkubasi 72 dan 144 jam

Konsentrasi NaCl (%)	72 jam		144 jam	
	Kelarutan fosfat	pH	Kelarutan fosfat	pH
0	64,73	4,5	45,69	4,0
2	68,97	5,0	50,47	4,5
5	64,38	5,5	44,28	4,7
10	41,77	5,5	30,74	4,6
20	15,88	5,5	17,53	4,8

Aspergillus niger PBB.3.1 mampu melarutkan fosfat sekitar 68,97 mgL⁻¹. Kemampuan pelarutan fosfat tersebut sedikit lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Saber *et al.* (2009) yaitu 67,0 mgL⁻¹ untuk spesies sejenis. Kemampuan ini lebih besar jika dibandingkan dengan kapang *Penicillium* yang hanya mampu melarutkan fosfat sebesar 46,2 mgL⁻¹ (Saber *et al.* 2009). Thomas *et al.* (1985) pernah melaporkan kemampuan kapang *Aspergillus niger* dalam melarutkan fosfat berkisar antara 42,1 mgL⁻¹ sampai 72 mgL⁻¹.

Konsentrasi 2% NaCl pada inkubasi merupakan konsentrasi tertinggi untuk pelarutan fosfat kapang *Aspergillus* (PBB.3.1). Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi NaCl yang rendah (2%) akan meningkatkan kemampuan kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) dalam pelarutan fosfat. Pola pelarutan fosfat yang sama pernah dilaporkan oleh Srividya *et al.* (2009) dimana konsentrasi 1% NaCl merupakan konsentrasi pelarutan fosfat tertinggi (105 mgL⁻¹) untuk kapang sejenis. Pelarutan fosfat tersebut terus menurun dengan meningkatnya konsentrasi NaCl. Penurunan pelarutan pada konsentrasi NaCl yang lebih tinggi dari 2% kemungkinan bukan disebabkan oleh penurunan kemampuan kapang *Aspergillus* (PBB 3.1) dalam melarutkan fosfat, tetapi lebih disebabkan oleh penggunaan fosfat yang telah terlarut oleh kapang tersebut sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan yang salin. Hal tersebut sejalan dengan hasil pengamatan biomassa, dimana pertumbuhan biomassa kapang *Aspergillus* (PBB 3.1) masih terus meningkat sejalan dengan meningkatnya salinitas. Ahmed dan Khan (1988) melaporkan bahwa meningkatnya salinitas di lingkungan mikroba akan menurunkan jumlah fosfat terlarut.

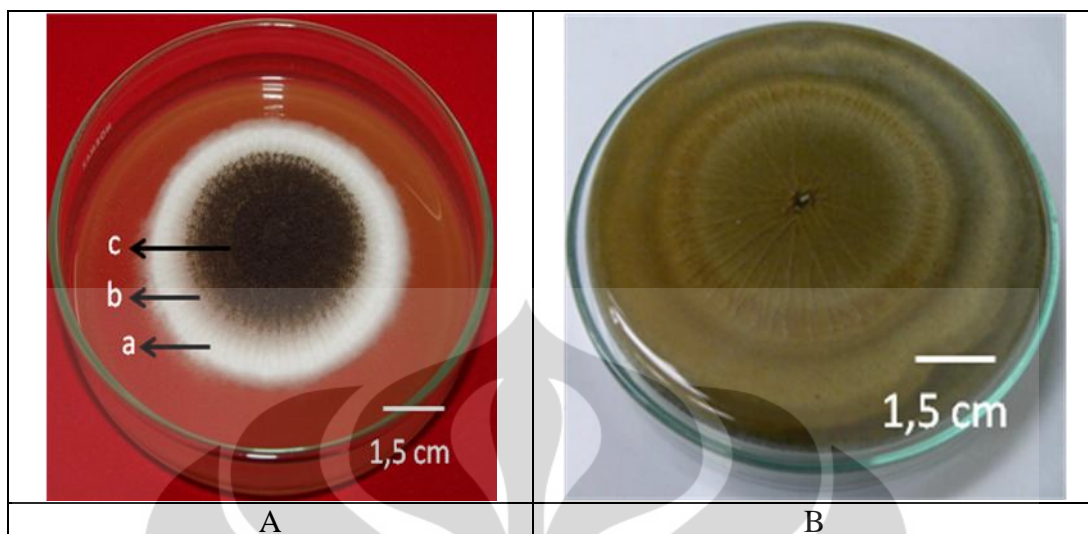
Identifikasi

Analisis identifikasi morfologi

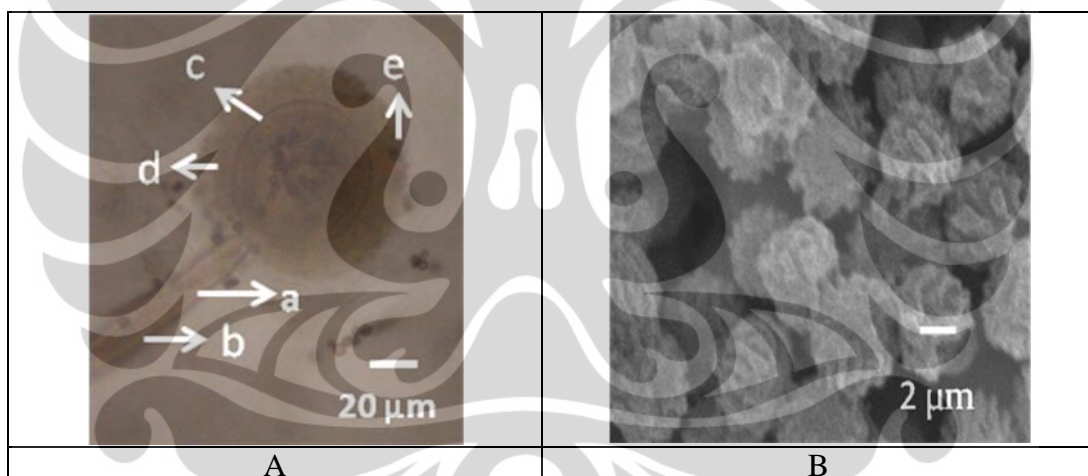
Hasil identifikasi morfologi isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) yang ditanam pada media PDA mencirikan : hifa/miselium berwarna putih dengan konidia berwarna hitam. Tekstur koloni halus serta ditemukan adanya zonasi. Warna koloni pada media tanam yang dibalikkan adalah coklat muda. Pengamatan morfologi secara mikroskopis menunjukkan hifa bersekat dengan lebar berkisar 20 μm , vesikel berbentuk membulat dengan *phialides* diseluruh permukaan vesikel. Konidia tunggal, berwarna hitam, bentuk bulat hingga semibulat dengan ornamentasi berupa tonjolan yang tidak beraturan berukuran 4,0 – 6,0 μm (Tabel I.7 serta Gambar I.7 dan I.8).

Tabel I.7 Hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik *Aspergillus* (PBB.3.1) umur 3 hari pada media PDA di suhu ruang

Makroskopik	
a. Hifa	Bersepta dengan warna putih
b. Warna koloni	Hitam
c. Warna sebalik koloni	Coklat muda
d. Tekstur koloni	Halus
e. Zonasi	Ada
Mikroskopik	
a. Jenis hifa	Bersekat
b. Lebar hifa	$\pm 20 \mu\text{m}$
c. Vesikel	Ada, bentuk membulat
d. <i>phialides</i>	Ada, pada seluruh permukaan vesikel
e. Konidia	Tunggal
f. Bentuk kepala konidia	Biseriate
g. Bentuk konidia	Bulat
h. Ukuran konidia	4,0 – 6,0 μm
i. Warna konidia	Hitam



Gambar I.7 Hasil pengamatan morfologi isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) (A) pada media PDA umur 3 hari, (a) hifa/miselia, (b) konidia, dan (c) zonasi; (B) umur 7 hari, adanya warna coklat muda pada media tanam bagian bawah serta adanya zonasi yang lebih jelas.



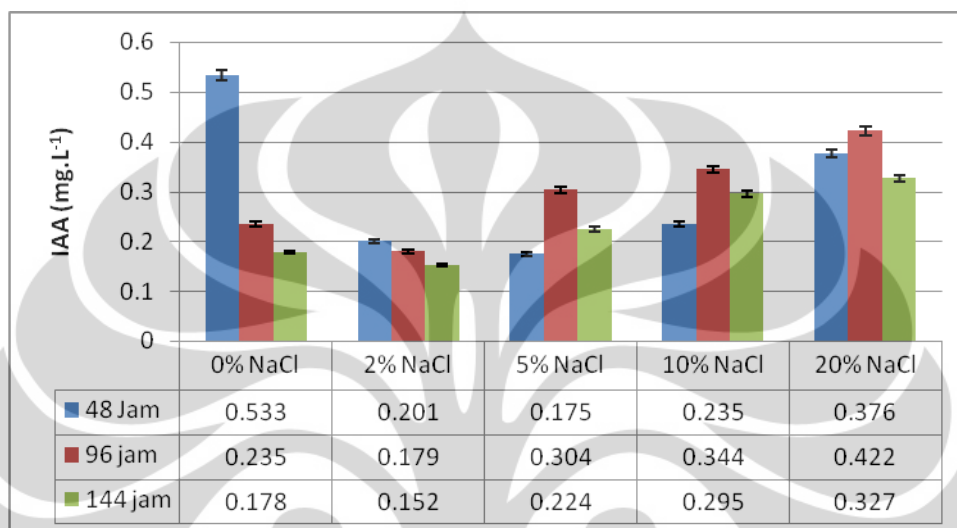
Gambar I.8 Hasil pengamatan morfologi (A) dengan mikroskop, (a) hifa, (b) sekat, (c) vesikel, (d) *phialides*, dan (e) konidia serta (B) morfologi konidia dilihat dengan SEM

Analisis identifikasi molekular

Hasil analisis identifikasi molekular (Lampiran I.4) dan hasil BLAST (Lampiran I.5)) disimpulkan bahwa isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) adalah *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).

Uji pembentukan IAA

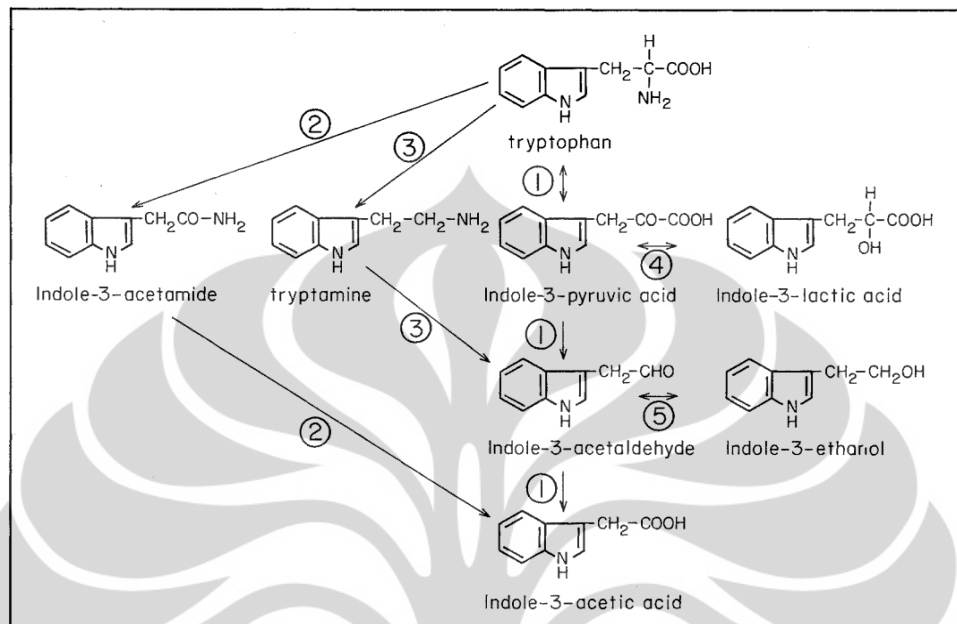
Hasil analisis menunjukkan kemampuan pembentukan IAA isolat kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 dipengaruhi oleh konsentrasi NaCl dan waktu inkubasi. Pembentukan IAA tertinggi diperoleh pada inkubasi 48 jam dan konsentrasi 0% NaCl yaitu 0,533, sedangkan terendah dicapai pada waktu inkubasi 144 jam dan konsentrasi 2% NaCl, yaitu 0,152 (Gambar I.8).



Gambar I.9 Profil sintesis IAA isolat kapang *Aspergillus niger* PBB.3.1 pada berbagai variasi konsentrasi NaCl

Gambar 1.9 memperlihatkan bahwa produksi IAA tertinggi dicapai pada inkubasi 48 jam dengan salinitas 0% NaCl. Konsentrasi NaCl di atas 2%, sintesis IAA cenderung meningkat pada inkubasi 48 dan 96 jam. Inkubasi 144 jam terjadi penurunan sintesis IAA pada semua perlakuan salinitas. Fenomena ini membuktikan bahwa salinitas mempengaruhi sintesis IAA pada inkubasi 144 jam. Turunnya nilai IAA pada inkubasi 144 jam kemungkinan disebabkan oleh penggunaan IAA oleh kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 untuk mengatasi kondisi stres lingkungan yang salin sebagai bentuk pertahanan diri (Hasan 2002; Shahab *et al.* 2009; Yadav *et al.* 2011; Khan *et al.* 2012). Kemungkinan lain dari fenomena ini adalah sintesis IAA pada medium dengan berbagai konsentrasi diperkirakan mengikuti berbagai alur sintesis yang berbeda (Wohler 1997) (Gambar I.10). Analisis spektrofotometri yang digunakan tidak mampu membedakan jenis dari IAA yang diproduksi selama kultivasi pada berbagai

kondisi salin tersebut. Produksi IAA dengan prekursor triptofan melalui jalur *indole-3-acetamide* dapat dideteksi dengan metode HPLC (Sekine *et al.* 1988).



Gambar I.10 Alur sintesa IAA pada mikroba (Wohler 1997)

Aspergillus niger PBB.3.1 mampu membentuk IAA dengan triptofan sebagai prekursor. Keberadaan ion sodium memacu pembentukan IAA merupakan fenomena fisiologis yang menarik. Mekanisme pengaruh ion sodium terhadap pembentukan IAA sampai saat ini belum diketahui. Namun demikian hal ini diduga terkait dengan adaptasi kapang terhadap stres lingkungan. Hasil penelitian yang sama pernah dilaporkan oleh Hasan (2002) dimana konsentrasi 6% NaCl dapat memacu sintesis auxin sebesar 0,6%.

Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa salinitas memacu pembentukan IAA sangat menguntungkan dalam aplikasi isolat tersebut sebagai biofertiliser. IAA akan memacu pertumbuhan akar dan akan memperkuat pertumbuhan tanaman untuk tumbuh dalam kondisi salin. *Aspergillus niger* PBB.3.1 mampu bertahan dengan konsentrasi 20% NaCl, sehingga mempunyai peluang untuk dapat digunakan pada ekosistem yang mempunyai rentang salinitas 0 – 20%. Introduksi biofertiliser yang mengandung kapang *Aspergillus niger* (PBB.3.1) akan menguntungkan bagi mikroba setempat karena akan menstimulasi proses mineralisasi dan pertumbuhan tanaman.

KESIMPULAN

1. Diperoleh 74 isolat kapang halotoleran, 36 isolat berasal dari ekosistem mangrove Pulau Laki, Kepulauan Seribu dan 38 isolat dari ekosistem mangrove Suwung, Bali.
2. Ekosistem mangrove Pulau Laki didominasi oleh *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*, sedangkan untuk ekosistem mangrove Suwung, Bali didominasi oleh *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, dan *Trichoderma*.
3. Isolat *Aspergillus* PBB.3.1 merupakan kapang halotoleran yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan membentuk hormon IAA. Berdasarkan analisis daerah LSU, ITS1 dan ITS2 diidentifikasi sebagai *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).

SARAN

Perlu dilakukan analisis IAA dengan metode yang lebih sensitif.

DAFTAR ACUAN

- Achal, V., V.V. Savant & R.M. Sudhakara. 2007. Phosphate Solubilization by Wide Type Strain and UV-induced Mutants of *Aspergillus tubingensis*. *Soil Bio. and Biochem.* **39**(2): 695-699.
- Ahmad, I. & K.M. Khan. 1988. Studies on enzymes activity in normal and saline soils. *Pakistan J. Agri. Research*, **9**(4): 506-508.
- Akintokun, A.K., G.A. Akande, P.O. Akintokun, T.O.S. Popoola & A.O. Babalola. 2007. Solubilization on insoluble phosphate by organic acid-producing fungi isolated from Nigerian soil. *Inter. J. of Soil Sci.* **2**: 301-307.
- Alam, S., S. Khalil, N. Ayub & M. Rashid. 2002. In vitro Solubilization of Inorganic Phosphate by Phosphate Solubilizing Microorganism (PSM) for Maize Rhizosphere. *Int. J. of Agr. and Biol.* **4**(4): 454-458.
- Barnett, H.I. 1969. *Illustrated Genera of Fungi Imperfect Fungi*. Second edition. Burgess Publishing Company.

- Barroso, C.B., G.T. Pereira & E. Nahas. 2006. Solubilization of CaHPO_4 and AlPO_4 by *Aspergillus niger* in culture media with different carbon and nitrogen sources. *Brazilian J. of Microbiol.* **37**: 434-438.
- Bilkay, S., S. Karakoc & N. Aksoz. 2010. Indole-3-acetic acid and gibberellic acid production in *Aspergillus niger*. *Turk.J.Biol.* **34**: 313-318.
- Brick, J.M., R.M. Bostock & S.E. Silverstone. 1991. Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. *App. Environ. Microbiol.* **57**: 535-538.
- Cemerman, N.G., J. Ramos & A. Plemenitas. 2009. Halotolerant and halophylic fungi. *Myco. Research.* **113**: 1231-1241.
- Chuang, C.C., Y.L. Kuo., C.C. Chao & W.L. Chao. 2006. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biol. Fertil. Soils* **43**: 575-584.
- Dénarié, J. & J. Cullimore. 1993. Lipo-oligosaccharide nodulation factors: A mini-review new class of signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Cell.* **74**: 951-954.
- Diaz-Ravina, M. & E. Baath. 2000. Response of soil bacterial communities pre-exposed to different metals and reinoculated in an unpolluted soil. *Soil Biol. and Biochem.* **33**: 241-248.
- Dick, W.A., L. Cheng & P. Wang. 2000. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *J. Bio. Biochem.* **32**: 1915-1919.
- Dick, R.P., & M.A. Tabatabai. 1986. Polyphosphatases are source of phosphorous for plant. *Fert. Res.* **12**: 107-108.
- Dick, W.A., & M.A. Tabatabai. 1984. Kinetic parameter of phosphate in soil and organic waste materials. *Soil Sci.* **137** : 7-15.
- Dixon, R.K. & J.A. Buschena. 1987. Respon of ectomychorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil. *Plant Soil* **105**: 265-271.
- Domsch K.H., W. Gams, & T.H. Anderson. 1980. *Compendium Of Soil Fungi*. Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco.

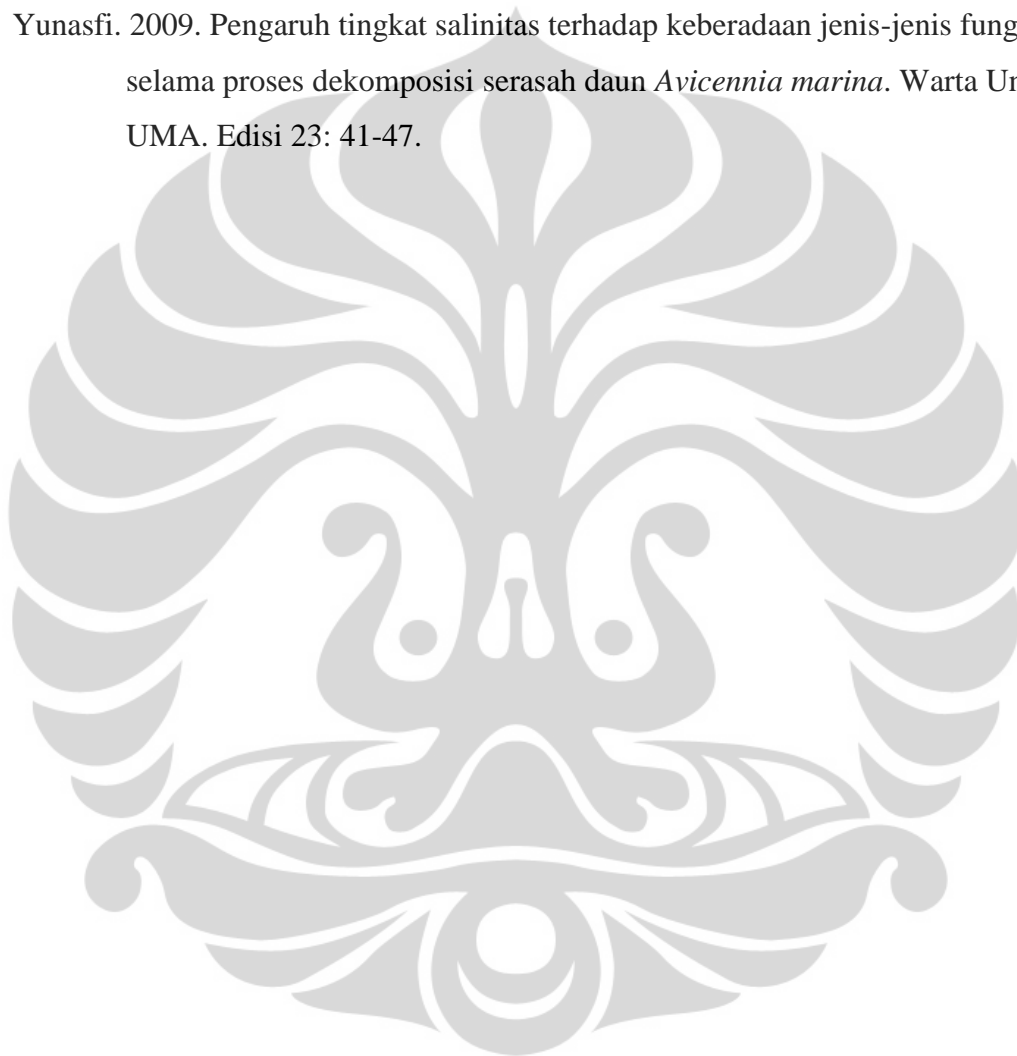
- Dunican, L.K. & F. Cannon. 1971. The control of symbiotic properties in Rhizobium: Evidence for plasmid control. *Plant and Soil*. Special Volume : 73-79.
- Erns, W.H.O., H.J.M. Nelisen & W.M. Ten Bookum. 1988. Combination toxicology of metal enriched soil: physiological responses of a -Zn and Cd-resistant ecotype of silene vulgaris on polymetallic soils. *Envir. and Exp. Bot.* **43**: 55-71.
- Frohlich, J. & H. Koning. 2006. Micromanipulation techniques for the isolation of single microorganisms. *Soil Biol.* **6**(3): 425-437.
- Eivazi, E. & M.A. Tabatabai. 1977. Phosphate in soil. *Soil Biol. Biochem.* **9**: 167-172.
- Germain G.St. & R. Summerbell. 1996. *Identifying Filamentous Fungi*. A Clinical Laboratory Handbook. Star Publishing Company.
- Garrett, S.D. 1951. Ecological groups of soil fungi: survey of substrate relationships, *New Phyto.* **2**(50): 150-166.
- Greenberg, A.E., L.S. Clesceri & A.D. Eaton. 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. EPS Group Inc. Hanover.
- Guarro, J., J. Gene & A.M. Stchigel. 1999. Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews* **12**(3): 454--500.
- Gunde-Cimerman, N., J. Ramos & A. Plemenitas. 2009. Halotolerant and halophilic fungi. *Mycol. Research* **113**: 1231-1241.
- Hasan, H.A.H. 1998. Studies on taxogenic fungi in roasted foodstuff (salted seed) and halotolerant activity of emodin producing *Aspergillus wentii*. *Folia Microbiol.* **43**: 383-391.
- Hasan, H.A.H. 2002. Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. *Rostlinna vyroba* **48**(3): 101-106.
- Hiraishi, A., Y. Kamagata & N. Nakamura. 1995. Polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA genes from methanogens. *J. of Ferm. Bioeng.* **79**: 523-529.

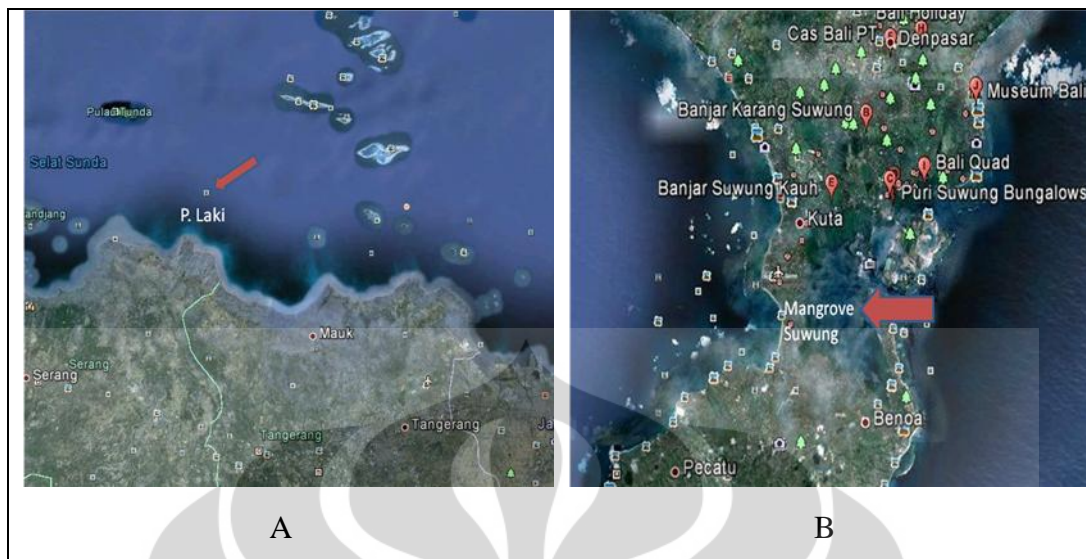
- Imran, A., S. Sama, Suriany & B. Djafar. 2003. Uji Multilokasi Beberapa Galur dan Kultivar Padi Superior Baru di Daerah Sidrap, Wajo dan Soppeng di Sulawesi Selatan. *J. Agrivigor*, **3**(1) : 74-92.
- Jha, D.K., G.D. Sharma & R.R. Mishra. 1992. Ecology of soil microflora and mycorrhizal symbionts. *Biol. Fert. Soils* **12**: 272-278.
- Kapoor, K. K., M.M. Mishra & K. Kukreja. 1989. Phosphate Solubilization by Soil Microorganisms. *Ind. J. of Microb.* **29**(2): 119-127.
- Kelavkar, U.P. & H.S. Chhatpar. 1993. Polyol concentrations in *Aspergillus repens* grown under salt stress. *World J. of Microbiol. And Biotech.***9**: 579-582.
- Khan, M.R. & M.A. Anwar. 2011. Fungi bioinoculants for plant disease management. *Microbes and Microbial Tech.*: 447-488.
- Khan, A.L., M. Hamayu, S.M. Kang, Y.H. Kim, H.Y. Jung, J.H. Lee & I.J. Lee. 2012. Endophytic fungal association via gibberellins and indone acetic acid can impove plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL 10. *BMC Microbiol.* **12**: 1-14.
- Kogej T., J. Ramos., A. Plemenitas & N. Gunde-Cimerman. 2005. The halophilic fungus *Hortaea werneckii* and the halotolerant fungus *Aureobasidium pullulans* maintain low intracellular cation concentrations in hypersaline environments. *App. and Envir. Micr.* **71**: 6600-6605.
- Kohler, J., F. Caravaca & A. Roldan. 2010. An AM fungus and PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Luctuca sativa* *Soil Biol. & Biochem.* **42**: 429-434.
- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist* **117**: 365-386.
- Kumar, M. & P.K. Shukla. 2005. Use of PCR targeting of internal transcribed spacer regions and single-stranded conformation polymorphism analysis of sequence variation in different regions of rRNA genes in fungi for rapid diagnosis of mycotic karatitis. *J. of Clin. Microbiol.* **43**(2): 662-668.
- Lynch, J.M. & S.H.T. Harper. 1979. Fungal growth rate and the formation of ethylene in soil. *J. of Microb.* **85**: 91-96.

- Mengel, K. & E.A. Kirby. 1979. *Principles of plant nutrient*. International Potash Inst. Switzerland.
- Miyadoh.S.,T. Okuda, I. Inouye & T. Goto. 2006. *The World of Microorganisms*. The Tsukuba Press: XII+212.
- Moubasher, A.H., S. Abdel-Hafez, M.M. Bagy & M.A. Abdel-Sater 1990. Halophilic and halotolerant fungi in cultivated desert and salt march soil from Egypt. *Acta Mycol.* **26**: 56-81.
- Mougin C., Laugero, M. Asther, J. Dubroca, P. Frasse & M. Asther 1994. Biotransformation of the herbicide atrazine by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *App. and Environ. Microbio.* **60**(2): 705-708.
- Nakagiri, A. 2005. Preservation of fungi and freezing methods. *Dalam: Workshop on Preservation of Microorganisms*. Biotechnology Center_NITE & Research and Development Center for Biotechnology-LIPI, Cibinong: 17-18 Oktober 2005.
- NAS. 1979. *Tropical legumes: Resources for the future*. National Academy Press, Washington, DC.
- Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* **17**: 362-370.
- Pradhan, N. & L.B. Sukla. 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *African J. of Biotech.* **5**: 850-854.
- Rao, S. 1984. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford & IBH Publ. New Delhi.
- Saber, W.I.A., K.M. Ghanem & M.S. El-Hersh. 2009. Rock phosphate solubilization by two isolate of *Aspergillus niger* dan *Penicillium* and their promotion to mung bean plants. *Research J. of Microbiol.* **4**(7): 235-250.
- Sato, H. 2007. *Workshop on: Molecular Approaches for The Identification of Microorganisms*. NITE & Research Center for Biotechnology-LIPI, Cibinong: 11-13 July 2007.
- Sekine, M., T. Ichikawa, N. Kaga, M. Kobayashi, A. Sakurai & K. Syono. 1988. Detection of the IAA biosynthetic pathway from tryptophan via indole-3-acetamide in *Bradyrhizobium* spp. *Plant and Cell Phys.* **29**(5): 867-874.

- Shahab, S., N. Ahmed & N.S. Khan. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PBSs. *Afr. J. Agric. Res.* **4(11)**: 1312-1316.
- Simanungkalit, R.D.M. 2006. Prospek pupuk organik dan hayati. *Dalam*: Simanungkalit, R.D.M., D.A. Suriadikarta, R. Saraswati, D. Setyorini & W. Hartatik (eds.). 2006. Pupuk organik dan pupuk hayati: organic fertilizer and biofertilizer. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian: iii + 283 hal.
- Singh, S.M., L.S. Yadav, S.K. Singh, P. Singh, P.N. Singh & R. Ravindra. 2011. Phosphate solubilizing ability of two *Aspergillus niger* strains. *Polar Research* **30**:1-7.
- Srividya, S., S. Soumya & K. Pooja. 2009. Influence of environmental factors and salinity on phosphate solubilization by a newly isolated *Aspergillus niger* F7 from agricultural soil. *Afr. J. of Biotech.* **8(9)**: 1864-1870.
- Suciatmih & K. Kramadibrata. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi at different ecosystems of Gunung Halimun National Park. *Berita Biologi* **6(1)**: 145-149.
- Sudiana, I.M. 2004. Isolasi bakteri pelarut fosfat. *Biota* **IX(2)**: 105-113.
- Thayer, D.W. 1974. Microbial response to drought in a Texas highplains strotgrass prairie. *Amer. Soc. For Microb.* **28(5)**: 700-707.
- Thomas, G.V., M.V. Shantaram & N. Sharaswathy. 1985. Occurrence and activity of phosphate solubilizing fungi from coconut plantation soil. *Plant and Soil* **87**: 357-364.
- Waksman, S.A. 1916. The soil-plate method for isolation of fungi from soil. *Science*, **44**: 320-335.
- White, T.J., T.D. Bruns, S.B. Lee & J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. *Dalam*: Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky & T.J. White (eds.). 1990. *PCR protocols*. Academic Press, San Diego: 315-322.
- Wohler. 1997. Auxin-indole derivatives in soils determined by a colorimetric method and by high performance liquid chromatography. *Microbiol. Res.* **152**: 339-405.

- Yadav, B.K. & J.C. Tarafdar. 2010. Studies on Phosphatase Activity and Clusterbean Production as Influenced by the P Mobilizing Organism *Emericella Rugulosa*. *Legume Research* **33**(2): 118-220.
- Yadav, J., J.P. Verma & K.N. Tiwari. 2011. Plant growth promoting activities of fungi and their effect on chickpea plant growth. *Asian J. Biol. Sci.* **4**(3): 291-299.
- Yunasfi. 2009. Pengaruh tingkat salinitas terhadap keberadaan jenis-jenis fungi selama proses dekomposisi serasah daun *Avicennia marina*. *Warta Univ. UMA*. Edisi 23: 41-47.





Lampiran I.1 Lokasi pengambilan sampel, Pulau Laki, Kepulauan Seribu (A) dan Suwung, Bali (B)

Lampiran I.2 Tabel komposisi media *Pikovskaya*

Bahan	Jumlah (g/l)
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5
NaCl	0,2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
MnSO_4	0,05
KCl	0,2
Glukosa	10
FeSO_4	0,05
Agar	20
Akuades	1 liter

Lampiran I.3 Tabel komposisi media triptofan

Bahan	Jumlah (g/l)
Triptofan	0,204
glukosa	5
Ekstrak yeast	0,025
Akuades	1 liter

Lampiran I.4 Tabel komposisi mix reagen

Bahan	Jumlah
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (0,032 M)	6 ml
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (0,1 M)	3 ml
H_2SO_4 (5 N)	10 ml
Kalium antimonyl $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$ (0,0086 M)	1 ml

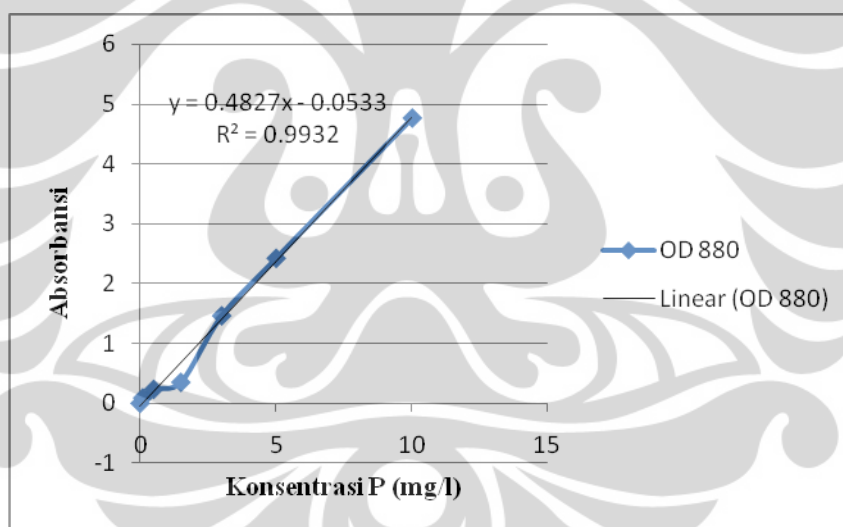
Lampiran I.5 Tabel komposisi reagen *Salkowski*

Bahan	Jumlah
H_2SO_4 5 N	30 ml
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,5 g
Akuades	50 ml

Lampiran I.6 Standar fosfat

Konsentrasi P (mgL ⁻¹)	Absorbansi
0	0
0,1	0,0907
0,5	0,2346
1,5	0,3511
3	1,4622
5	2,4244
10	4,766

Lampiran I.7 Kurva standard fosfat



Lampiran I.8 Urutan basa hasil analisis molekular isolat *Aspergillus* PBB.3.1

```

CTGCGNNNGTCATTACCGAGTGCGGGTCTTTGGGCCCAACCT
CCCATCCGTGTCTATTATACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCC
GCTTGTGGCCGCGGGGGGGCGCCTTTGCCCGGGCCCG
TGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAACACTGTCTGAAAGCGTGC
AGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACCTTCAACAATG
GATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
ATAACTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTT
GAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGT
CGCCGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGG
CGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACAT
GCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAACCAT
TTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAA
CTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAC

```

Lampiran I.9 Hasil BLAST kapang *Aspergillus* PBB.3.1

<u>Accession</u>	<u>Description</u>	<u>Max score</u>	<u>Total score</u>	<u>Query coverage</u>	<u>Max ident</u>
<u>JF838357.1</u>	Aspergillus niger strain MUM05.13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	<u>1064</u>	1064	97%	100%

Lanjutan

<u>Accession</u>	<u>Description</u>	<u>Max score</u>	<u>Total score</u>	<u>Query coverage</u>	<u>Max ident</u>
<u>HQ014696.1</u>	Aspergillus niger strain WM10.74 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	<u>1064</u>	1064	97%	100%
<u>HQ014690.1</u>	Aspergillus niger strain WM10.68 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	<u>1064</u>	1064	97%	100%
<u>JN565296.1</u>	Aspergillus niger strain 91718 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	<u>1062</u>	1062	97%	100%
<u>HM801881.1</u>	Aspergillus sp. 06 SMR-2010 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	<u>1062</u>	1062	97%	100%

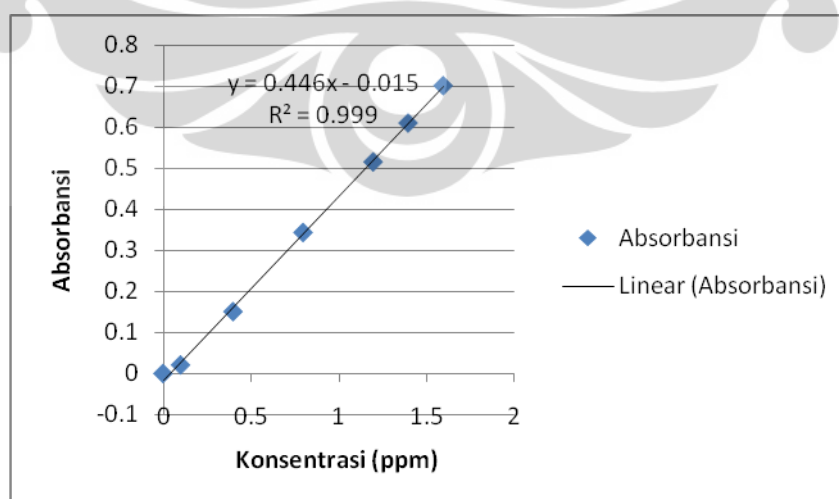
Lanjutan

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	Max ident
<u>GU082483.1</u>	Aspergillus niger 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	<u>1062</u>	1062	97%	100%

Lampiran I.10 Standar IAA

Konsentrasi IAA (ppm)	Absorbansi
0	0
0,1	0,021
0,4	0,151
0,8	0,344
1,2	0,516
1,4	0,611
1,6	0,702

Lampiran I.11 Kurva standar IAA



Makalah II
KAJIAN AKTIVITAS KAPANG HALOTOLERAN TERHADAP
PERTUMBUHAN TANAMAN PADI VARIETAS CIHERANG

Arwan Sugiharto
Program Pascasarjana, Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
E-mail: lok_ireng@yahoo.co.id

ABSTRACT

Application of *Aspergillus niger* as an agent biofertilizer for Ciherang *Oryza sativa* field have been conducted in greenhouse. The aims of research was to evaluate the effect of inoculant *Aspergillus niger* PBB31 on the growth of *Oryza sativa* in saline conditions. Five concentration of salinities evaluated were 0; 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5%. *Aspergillus niger* PBB.3.1 affected the growth of paddy (*Oryza sativa*) var. Ciherang as indicated by an increase in panicle production, plant height, and weight of seeds. Population of *Aspergillus niger* PBB 3.1 was higher in inoculated treatment then non-augmented. The FDA (fluorescein) as a total soil enzymes activity was also higher in inoculated treatment (31.42%). Inoculant clearly affected the weight of seed, which can be seen on the 0% (52%) and 1.0% (144%) treatment. This condition proves that the isolates of *Aspergillus niger* PBB 3.1 has the potential to be developed as an inoculant biofertiliser in rice Ciherang varieties grown under conditions up to 1.0%. The mechanism by which microbial inoculan (*Aspergillus niger* PBB 3.1) affect the growth and yield of *Oryza sativa* var. Ciherang need further verification.

Key words: *Aspergillus niger*, biofertilizer, *Oryza sativa*, Ciherang, salinity

PENDAHULUAN

Perubahan komunitas mikroba daerah pesisir yang disebabkan intrusi air laut berpengaruh terhadap aktivitas mikroba yang pada akhirnya berpengaruh terhadap produktivitas tanah. Mikroba fungsional tanah yang mampu bertahan dan aktif melakukan proses mineralisasi pada daerah pesisir adalah mikroba yang tahan terhadap salinitas dan perubahan status nutrisi tanah (Sardinha *et al.* 2003; Borresen dan Rike 2006; Wichern *et al.* 2006; Kohler *et al.* 2010). Aktivitas mineralisasi yang akan dipengaruhi oleh salinitas adalah proses pelarutan fosfat. Tingkat mineralisasi yang dimediasi oleh mikroba sangat menentukan ketersediaan fosfat bebas di dalam ekosistem tanah (Michael *et al.* 1994). Hal tersebut disebabkan dalam tanah 90-95% fosfat tidak dapat digunakan langsung oleh tanaman (Srividya *et al.* 2009).

Salinitas berpengaruh terhadap sistem perakaran tanaman dan mikroba yang tumbuh pada daerah *rhizosphere* (Schimel *et al.* 2007; Chowdhury *et al.* 2011). Salah satu fungsi mikroba *rhizosphere* adalah melarutkan fosfat dan menghasilkan hormon tumbuh yang berfungsi memacu pertumbuhan akar (Mittal *et al.* 2008; Cemeran *et al.* 2009; Kohler *et al.* 2010; Khan & Anwar 2011). Peran mikroba *rhizosphere* yang tahan terhadap kondisi salin serta mampu melarutkan fosfat dan menghasilkan hormon tumbuh menjadi salah satu kunci dalam upaya meningkatkan hasil pertanian. Salah satu mikroba *rhizosphere* tersebut adalah kapang.

Kapang merupakan salah satu mikroba fungsional penting dalam ekosistem salin (Hasan 1998; Hasan 2002; Srividya *et al.* 2009). Kapang halotoleran dapat diisolasi dari lingkungan dengan salinitas di atas 1,7 M. Secara in-vitro, kapang halotoleran dapat tumbuh pada konsentrasi salinitas 3 M (Gunde-Cimeran *et al.* 2009). Kapang *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* merupakan kelompok kapang halotoleran yang ditemukan pada ekosistem salin (Hasan 2002; Kogej *et al.* 2005; Gunde-Cimeran *et al.* 2009; Srividya *et al.* 2009; Yunasfi 2009).

Pelarutan fosfat oleh kapang *Aspergillus* memiliki variasi yang sangat luas, berkisar antara 37,5 ppm – 265,7 ppm (Thomas *et al.* 1985, Asmarlaili *et al.* 1995). Ernita (1998) melaporkan bahwa *Aspergillus* dapat melarutkan trikalsium

fosfat sebesar 829 ppm. Kapang *Aspergillus niger* yang diisolasi dari lingkungan pertanian dapat tumbuh dan berfungsi melarutkan fosfat sebesar 70,5 ppm dalam kondisi 2% NaCl (Srividya *et al.* 2009). Keberadaan kapang halotoleran sangat penting dalam menjaga ketersediaan hara untuk tanaman.

Tersedianya hara dapat berlangsung melalui peningkatan akses tanaman terhadap hara pelarutan dan perombakan oleh mikroba. Penyediaan hara berlangsung melalui hubungan simbiosis atau nonsimbiosis. Secara simbiosis berlangsung dengan kelompok tanaman tertentu atau dengan kebanyakan tanaman. Secara nonsimbiosis berlangsung melalui penyerapan hara hasil pelarutan oleh kelompok mikroba pelarut dan hasil perombakan bahan organik oleh kelompok mikroba perombak (Pikovskaya 1984; Koide 1991; Michael *et al.* 1994; Mamilov & Dilly 2002; Wakelin *et al.* 2004). Penggunaan mikroba sebagai inokulan pupuk hayati maupun pupuk organik akan dapat meningkatkan aktivitas mikroba tanah (Simanungkalit 2006).

Aktivitas mikroba tanah dapat diukur dari aktivitas enzim yang ada dalam tanah (Adam & Duncan 2001), sehingga perbaikan dan pemulihan ekosistem dapat diketahui (Garbaye 1994; Gupta & Malik 1996; Joner *et al.* 2000). Diversitas jenis dan fungsi mikroba tanah dapat diketahui dengan melakukan analisis enzim tanah, respirasi serta keragaman genetika mikroba yang ada dalam tanah (Kahle 1993; Kukkola *et al.* 2000). Fluorescein diacetate atau 3',6'-diacetylfluorescein (FDA) merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan untuk menentukan jumlah mikroba aktif dalam tanah dengan mengukur aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Semakin banyak jumlah FDA yang terhidrolisis, maka semakin banyak jumlah sel mikroba yang terkandung dalam kultur (Breeuwer & Abee 2000; Adam & Duncan 2001).

Mikroba tanah seperti kapang mempunyai kemampuan memproduksi enzim ekstraselular yang memacu degradasi bahan organik dari tanaman dan hewan sehingga mempercepat siklus karbon (Denarie & Cullimore 1993; Alam *et al.* 2002). Berdasarkan pada kemampuan mikroba tersebut, maka mikroba dari golongan kapang sangat berpotensi untuk dapat diampifikasi sebagai inokulan.

Inokulan yang berasal dari kapang memiliki keunggulan yang lebih baik jika dibandingkan dengan inokulan yang berasal dari bakteri. Beberapa

keunggulan tersebut di antaranya adalah, kapang memiliki miselium, sehingga memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menembus substrat. Disamping itu adanya miselium menyebabkan kapang memiliki ketahanan terhadap lisis. Kapang juga memiliki peran meningkatkan produksi tanaman serta mengendalikan penyakit tanaman yang disebabkan oleh mikroba patogen (Wakelin *et al.* 2004; Pradhan & Sukla 2005; Lian *et al.* 2008; Khan & Anwar 2011). Beberapa jenis kapang seperti *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Geotrichum*, dan *Aspergillus* juga dilaporkan memiliki kemampuan dalam pelarutan fosfat inorganik menjadi bentuk yang tersedia dan mudah diserap oleh tanaman serta menstimulasi pertumbuhan tanaman. (Wakelin *et al.* 2004; Pradhan & Sukla 2005; Barroso *et al.* 2006; Akintokun *et al.* 2007; Lian *et al.* 2008). Diketahui pula bahwa kapang merupakan salah satu kelompok mikroba tanah yang tahan terhadap salinitas. Saat ini pemanfaatan kapang sebagai inokulan dalam pupuk organik maupun pupuk hayati belum banyak dilakukan.

Di Indonesia aplikasi mikroba sebagai inokulan pupuk hayati pertama kali diperkenalkan dengan nama legin. Legin pupuk hayati berisi inokulan mikroba jenis *Rhizobium*. Legin digunakan untuk meningkatkan produk pertanian terutama tanaman pangan suku *Leguminoceae* seperti tanaman kedelai. Produk legin digunakan mulai tahun 1981 sampai 1995 (Simanungkalit 2006).

Produk inokulan yang saat ini beredar lebih banyak menggunakan inokulan mikroba dari kelompok bakteri dan khamir. Aplikasi inokulan masih terbatas pada kondisi lingkungan normal dan tanaman hortikultur. Penggunaan inokulan pada tanaman lain seperti padi serta dalam kondisi salin belum banyak dilakukan, padahal padi merupakan sumber makanan pokok bagi masyarakat Indonesia.

Padi merupakan tanaman pangan penting utama di Indonesia. Peningkatan produktivitas padi telah diupayakan sejak tahun 1970. Berbagai varietas padi telah digunakan untuk mendukung program swasembada beras seperti varietas Memberamo, Cisadane, Cirata, Ciherang, dan berbagai varietas IR. Padi varietas Ciherang termasuk varietas padi unggul. Asal varietas tersebut merupakan hasil persilangan IR18349-53-1-3-1-3/³*IR19661-131-3-1-3/⁴*IR64. Di Indonesia penggunaan varietas Ciherang mencapai 47% dari total varietas yang

ditanam. Berbagai percobaan diketahui varietas tersebut termasuk tahan terhadap kondisi lingkungan salin sampai 1,5%. Varietas yang mulai dilepas tahun 2000 ini banyak disukai masyarakat dengan hasil berkisar 6 ton/ha dengan tinggi tanaman 111 cm, jumlah anakan produktif berkisar 14 -17 batang dan berat 1000 butir berkisar 29,10 g (Hermanto *et al.* 2009; Jonharnas 2009).

Menurut Supadi dan Susilowati (2004) luas lahan pertanian padi di Indonesia sekitar 13 juta ha, dimana 30% berada pada daerah pesisir. Daerah pesisir utara pantai Jawa, Bali, dan sebagian Sumatera pada umumnya mengalami infiltrasi air laut ke lahan pertanian. Kondisi tersebut akan menyebabkan berubahnya ekosistem dan sifat kimiawi tanah daerah pesisir. Meningkatnya salinitas tanah akibat penetrasi air laut akan mengubah dinamika nutrisi serta komposisi mikroba tanah yang hidup pada lahan pantai. Masalah tersebut akan sangat signifikan jika dampak dari pemanasan global tidak diantisipasi dengan baik. Antisipasi dapat dilakukan dengan mitigasi melalui eksplorasi potensi mikroba halotoleran. Salah satu kelompok mikroba yang penting dan bersifat halotoleran adalah dari kapang. Kelompok mikroba tersebut memiliki peluang yang besar dalam aplikasi biofertiliser pada daerah salin.

Penelitian ini mengkaji aktivitas inokulan kapang halotoleran terhadap pertumbuhan tanaman padi khususnya varietas Ciherang. Penelitian dilakukan sebagai langkah adaptasi terhadap perubahan iklim pada lahan pesisir, melalui introduksi kapang halotoleran. Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh inokulan kapang halotoleran *Aspergillus niger* PBB 3.1 terhadap pertumbuhan padi (*Oryza sativa*) varietas Ciherang yang ditanam pada kondisi salin, serta mendapatkan informasi tentang viabilitas dan aktivitas enzim hidrolisisnya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan sebagai satu produk inokulan biofertiliser yang dapat digunakan untuk pengembangan tanaman padi pada kondisi salin.

BAHAN DAN CARA KERJA

BAHAN

Bahan

Bahan penelitian berupa isolat *Aspergillus niger* PBB 3.1, diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya. Benih padi varietas Ciherang didapat dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi.

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah alkohol 90%, glukosa, air laut, bufer fosfat, akudes steril, akuades dengan TDS = 0 (Hodest), NaCl (Merck), larutan FDA, klorofom-metanol, *Chloramphenicol*, *lactophenol*, bahan kimia untuk sekuensing menggunakan ABI 3010.

Media

Media yang digunakan meliputi PDA (Himedia), taube ekstrak, dan granula.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *bio clean bench* (sanyo), tabung reaksi, lampu bunsen, rak tabung reaksi, *magnetic stirrer*, botol semprot, *autoclave* (TOMY sx-500), *ose*, shaker inkubator (Bio shaker BR-23FP dan BR-3LF), gelas ukur, spektrofotometer (MAPADA), mikroskop (Olympus CX31 dan BX51), *test tube mixer* (SIBATA), ependorf, Erlenmeyer, bak plastik, *polybag* hitam, jerigen, gelas ukur, penggaris, *eleetroconductivity/pH/mV/TDS/Temp.* meter (AZ 86505), timbangan digital (Sartorius), alat tulis.

CARA KERJA

Pengujian skala rumah kaca

Pembuatan inokulan

Isolat kapang terpilih dari hasil analisis laboratorium (*Aspergillus niger* PBB 3.1) kemudian dijadikan inokulan untuk keperluan percobaan skala rumah

kaca. Pembuatan inokulan dilakukan dengan cara menanam biakan pada tabung miring yang berisi media PDA yang ditambah dengan glukosa 2%. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama 4 hari. Setelah 4 hari isolat dalam tabung reaksi ditambah akuades steril sebanyak 5 ml. Kapang yang tumbuh di permukaan agar kemudian dikerik dengan menggunakan ose. Seluruh cairan yang berisi spora kapang ($3,2 \times 10^5$ spora/ml) kemudian dipindahkan dalam labu Erlenmeyer yang berisi 250 ml media tumbuh. Komposisi media tumbuh adalah tauge ekstrak (TE) yang ditambah glukosa 2%. Media yang berisi isolat tersebut kemudian di inkubasi pada suhu 28° C sambil dishaker dengan kecepatan 100 rpm. Setelah 6 hari isolat dipanen sebagai inokulan.

Inokulan yang tumbuh kemudian disuspensikan dengan bahan pembawa berupa granula yang telah disterilisasi kering. Sterilisasi dilakukan pada suhu 120° C selama 24 jam. Komposisi granul adalah kompos (60%), arang sekam (20%), kapur (10%), dan zeolit (10%). Perbandingan antara inokulan dengan granula adalah 100 ml inokulan dicampur dengan 1 kg granula. Campuran ini dibiarkan selama tiga hari sebelum digunakan.

Pengujian rumah kaca.

Inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 yang telah dibuat selanjutnya diuji pada tataran rumah kaca. Media pengujian menggunakan *polybag* volume 10 kg, berisi tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Sebagai tanaman uji digunakan padi varietas Ciherang. Setiap pot diisi sebanyak 10 kg media. Dosis inokulan yang diberikan adalah 200 g granul/pot. Pemberian inokulan dilakukan seminggu sebelum tanam. Kontrol diperlakukan sama hanya tidak diberi inokulan.

Benih padi yang akan digunakan terlebih dahulu direndam dalam air selama semalam. Kemudian benih disemai pada bak plastik berisi kompos halus, lalu dibiarkan selama 2 minggu. Setelah 2 minggu benih padi yang tumbuh dipilih untuk ditanam dalam pot percobaan. Setiap pot ditanami tiga bibit padi.

Pengujian dirancang mengikuti pola rancangan faktorial dengan 5 perlakuan salinitas, yang meliputi :

1. T0 : 0%
2. T1 : 1,0%

3. T2 : 1,5%
4. T3 : 2,0%
5. T4 : 2,5%
6. KT0 : Kontrol T0.
7. KT1 : Kontrol T1.
8. KT2 : Kontrol T2.
9. KT3 : Kontrol T3.
10. KT4 : Kontrol T4.

Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Penyiraman selanjutnya dilakukan dengan memperhatikan kebutuhan air serta menjaga kestabilan salinitas.

Analisis

Aktivitas enzim *fluorescein diacetate* (FDA)

Analisis *fluorescein diacetat* (FDA) dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim dan populasi mikroba di dalam pot percobaan. Teknik ini mendeteksi total aktivitas enzim khusus lipase, protease, dan esterase. Analisis dilakukan pada 10, 30, 60, dan 90 hari setelah tanam. Sebanyak 1 g sampel dilarutkan ke dalam akuades steril 9 ml kemudian divorteks. Selanjutnya diambil 200 µl dan dimasukkan ke dalam 2 ml tabung ependorf, ditambah dengan 1500 µl bufer fosfat dan divorteks. Blanko menggunakan tanah steril yang langsung disuspensikan dalam 200 µl akuades steril. Semua sampel tersebut kemudian ditambah dengan 60 µl larutan FDA, diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 24 jam pada suhu 40° C dengan kecepatan 150 rpm. Setelah diinkubasi, masing-masing sampel ditambah 500 µl klorofom-metanol (2:1), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil dan diukur dengan spektrofotometer pada 490 nm. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya fluoresen kuning kehijauan (Adam & Duncan 2001; Green *et al.* 2006; Sanchez-Monedero *et al.* 2008).

Uji sensitifitas dilakukan dengan menambahkan isolat kapang pada tanah steril dengan berbagai variasi kepadatan, yaitu 10⁻¹ sampai 10⁻⁷. Setelah

diperlakukan sama seperti sampel, kemudian diukur dengan spektrofotometer pada 490 nm.

Standar FDA dibuat dengan melarutkan 0,1 g 3'6'-*diacetyl-fluorescein* dalam 80 ml aseton. pH larutan diatur 7,6 dengan menambahkan *potassium phosphate buffer* 60 mM. Larutan kemudian ditambah aseton sampai volume 100 ml. Pengenceran dilakukan sesuai keperluan kemudian dibaca dengan spektrofotometer pada 490 nm (Adam & Duncan 2001).

Populasi kapang

Populasi kapang setiap perlakuan dihitung pada hari ke 10, 30, 60, dan 90. Perhitungan populasi kapang dilakukan dengan metode TPC dengan 3 ulangan. Media yang digunakan adalah PDA yang diberi antibiotik *Chloramphenicol* (2 µg/ml). Sebanyak 1 g sampel dilarutkan dalam 10 ml akuades steril, kemudian dilakukan pengenceran sampai 10^6 . Penanaman dilakukan pada pengenceran 10^4 sampai 10^6 dengan 3 ulangan. Kapang yang tumbuh kemudian dihitung populasinya.

Analisis pertumbuhan tanaman

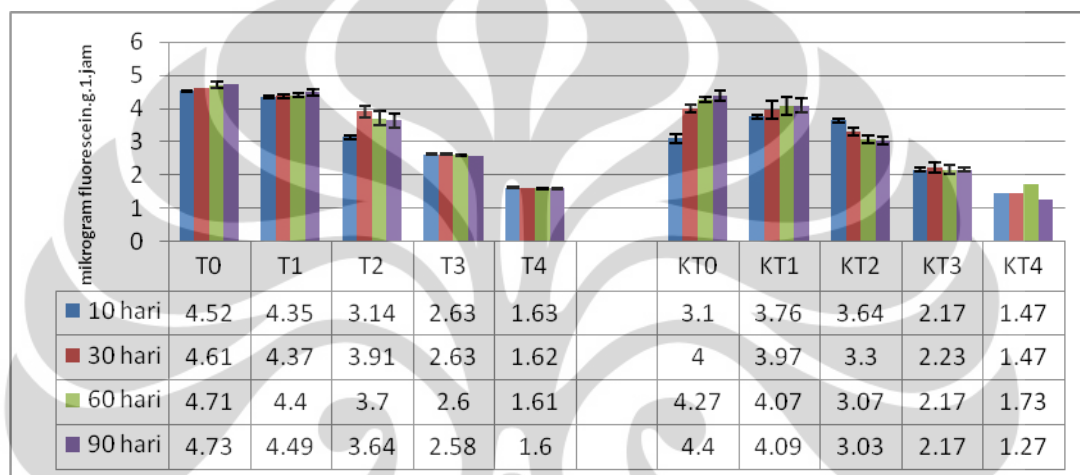
Analisis pertumbuhan tanaman dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian inokulan kapang halotoleran *Aspergillus niger* PBB.3.1 terhadap pertumbuhan dan produksi padi yang ditanam pada kondisi salin. Setiap pot percobaan diamati pertumbuhan dan produksinya. Parameter pertumbuhan yang diamati meliputi tinggi tanaman dan jumlah anakan. Tinggi tanaman merupakan panjang total tanaman bagian atas yang diukur dari pangkal tanaman yang berada di atas tanah sampai ujung daun tertinggi. Jumlah anakan adalah jumlah anakan yang tumbuh selama waktu pengamatan. Parameter produksi menggunakan bobot 1000 butir. Pengamatan pertumbuhan dilakukan pada hari ke 10, 30, 60, dan 90 setelah tanam.

Tanaman padi dipanen pada umur 100 hari setelah tanam untuk diamati produksinya. Bulir yang ada kemudian dijemur sampai kering. Setiap perlakuan diambil 1000 butir secara acak kemudian ditimbang beratnya (Wijebandara *et al.* 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fluorescein diacetate (FDA)

Aktivitas enzim hidrolisis protease, esterase dan lipase (FDA) media tanam yang diinokulasi *Aspergillus niger* PBB.3.1 pada salinitas 0 (T0) dan 1% (T1) meningkat, sedangkan pada salinitas 2,0 (T3) dan 2,5% (T4) cenderung stabil pada 10 sampai 90 hari waktu pengamatan. Perlakuan salinitas 1,5% (T2) terjadi kenaikan FDA yang sangat signifikan pada hari ke 30, kemudian turun meski tidak signifikan sampai hari ke 90 (Gambar II.1).



Keterangan : T0, T1, T2, T3, T4 adalah perlakuan salinitas dengan konsentrasi 0; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%, sedangkan KT0, KT1, KT2, KT3, dan KT4 adalah kontrol untuk masing-masing perlakuan.

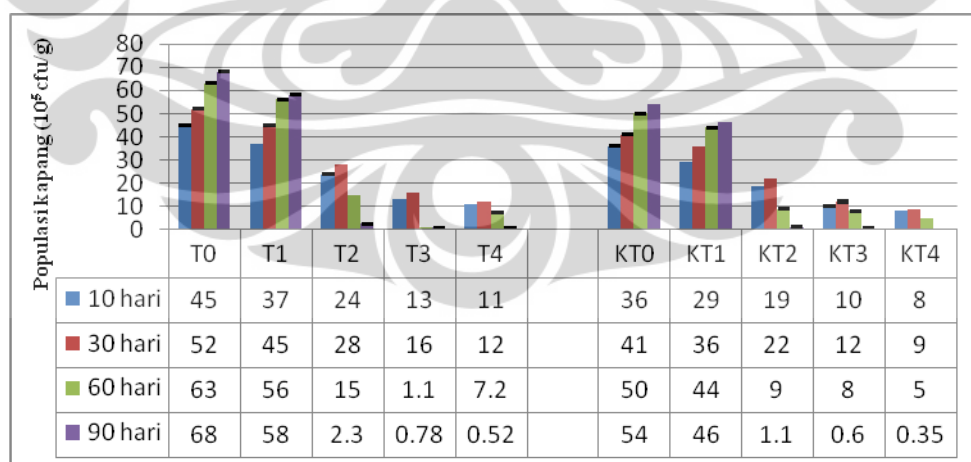
Gambar II.1 Profil aktivitas FDA pada media tanam dengan dan tanpa pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1

Analisis secara umum menunjukkan, pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 meningkatkan nilai FDA perlakuan T0 dan T1 jika dibandingkan dengan KT0 dan KT1. Nilai peningkatan FDA pada perlakuan tersebut tidak signifikan, namun dapat dijadikan indikasi bahwa inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 berperan dalam peningkatan nilai FDA. Peningkatan nilai FDA diduga terkait dengan meningkatnya populasi kapang (Gambar II.2). Kondisi tersebut mengakibatkan aktivitas enzim hidrolisis meningkat (Green *et al.* 2006). Tingginya nilai FDA pada perlakuan kontrol terutama pada perlakuan KTO dan KT1 membuktikan media tanam yang digunakan mengandung mikroba yang dapat menghasilkan enzim hidrolisis.

Populasi kapang dan aktivitas enzim hidrolisis mulai menurun pada perlakuan T2, T3, dan T4 serta KT2, KT3, dan KT4. Menurunnya nilai FDA pada perlakuan salinitas tersebut diduga berkaitan erat dengan menurunnya populasi kapang (Gambar II.1 dan II.2 serta Lampiran II.1 dan II.3). Penurunan nilai FDA pada perlakuan T2 juga dapat dijadikan indikasi bahwa inokulan kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 tidak tahan terhadap kondisi salin 1,5%. Kapang tersebut hanya mampu bertahan pada kondisi salinitas tersebut sampai hari ke 30. Aktivitas FDA cukup tinggi pada salinitas 1,0% menunjukkan kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 mampu melakukan aktivitas hidrolisis pada salinitas tersebut. Kapang halotoleran merupakan kapang yang mampu tumbuh dan aktif pada kisaran salinitas 1,0 – 1,7% (Hasan 2002).

Populasi kapang

Populasi kapang dalam media tanam pada perlakuan T0 dan T1 serta KT0 dan KT1 meningkat dengan bertambahnya hari. Peningkatan jumlah populasi kapang tersebut sangat signifikan. Pada konsentrasi salinitas yang lebih tinggi, yaitu perlakuan T2, T3, dan T4 serta KT2, KT3, dan KT4 populasi kapang cenderung menurun, kecuali pada 30 hari pengamatan. Kondisi tersebut membuktikan bahwa pada salinitas 1,5% (T2 dan KT2) sampai salinitas 2,5% (T4 dan KT4) kapang hanya mampu tumbuh sampai hari ke 30 (Gambar II.2).



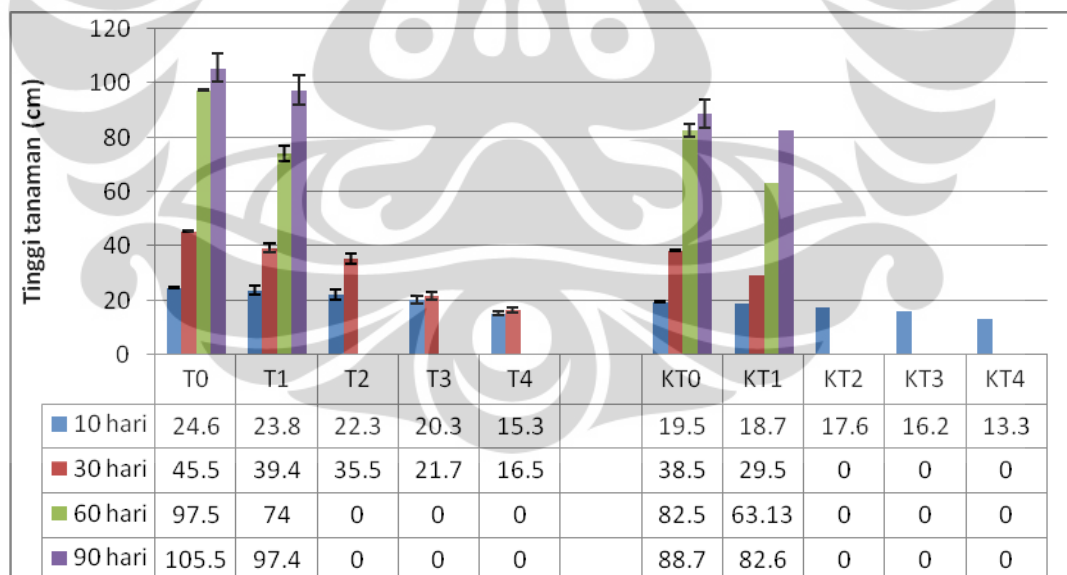
Keterangan : T0, T1, T2, T3, T4 adalah perlakuan salinitas dengan konsentrasi 0; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%, sedangkan KT0, KT1, KT2, KT3, dan KT4 adalah kontrol untuk masing-masing perlakuan.

Gambar II.2 Profil populasi kapang media tanam dengan dan tanpa pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1.

Peningkatan populasi kapang yang signifikan pada perlakuan T0 (0%) dan T1 (1,0%) jika dibandingkan dengan KT0 dan KT1 membuktikan bahwa kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 mampu aktif pada salinitas tersebut dan dapat berkompetisi dengan mikroba yang terdapat dalam media tanam. Pola pertumbuhan populasi pada media tanam ternyata sama dengan pola pertumbuhan isolat tersebut pada media PDA, namun berbeda dengan media cair. Kondisi tersebut tentunya berkaitan dengan difusi nutrisi serta kondisi aerasi yang berbeda pada media padat dan cair.

Tinggi tanaman

Pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1 memberi dampak positif terhadap pertumbuhan tanaman padi sekitar 16% sampai umur 90 hari pada salinitas 0 dan 1,0%. Tanaman padi yang diberi inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1 dapat tumbuh pada semua perlakuan sampai umur 30 hari, sedangkan tanaman kontrol pada konsentrasi salinitas lebih tinggi 1,5% mengalami kematian (Gambar II.3.). Kondisi tersebut membuktikan bahwa inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 berperan dalam mendukung pertumbuhan tanaman.



Keterangan : T0, T1, T2, T3, T4 adalah perlakuan salinitas dengan konsentrasi 0; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%, sedangkan KT0, KT1, KT2, KT3, dan KT4 adalah kontrol untuk masing-masing perlakuan.

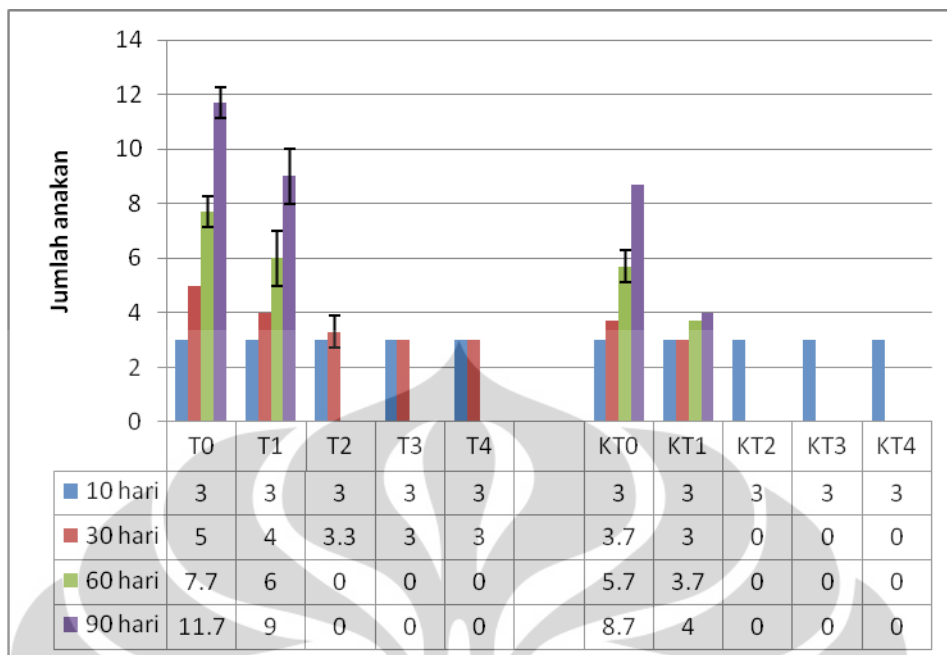
Gambar II.3 Profil tinggi tanaman padi dengan dan tanpa pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1

Terhentinya pertumbuhan padi mungkin tidak disebabkan oleh terhentinya aktivitas enzim hidrolisis, akan tetapi akibat perubahan transpor ion Na pada jaringan padi akibat konsentrasi ion Na yang terlalu tinggi pada media tanam. Tanaman padi yang mengalami stres salinitas umumnya tidak menunjukkan respon dalam bentuk kerusakan langsung, akan tetapi pertumbuhannya tertekan dan terjadi perubahan secara perlahan. Salinitas yang tinggi, menyebabkan tanaman akan mengalami pertumbuhan tidak normal, seperti daun mengering di bagian ujung (Poljakoff-Mayber & Gale 1975; Utama *et al.* 2009).

Uji ketahanan padi terhadap salinitas pada skala laboratorium dilakukan pada salinitas tertinggi 0,4%, sedangkan pada kondisi lapang dapat mencapai 1,5% (Suwarno & Solahudin 1983; Utama *et al.* 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* PBB 3.1 memiliki ketahanan toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman. Hal ini diindikasikan oleh aktivitas FDA yang masih aktif pada salinitas 1,5% (Gambar II.1) dan kelarutan fosfat masih terjadi pada salinitas 10% (Gambar I.4). Kondisi tersebut memungkinkan ketersediaan hara yang cukup bagi tanaman.

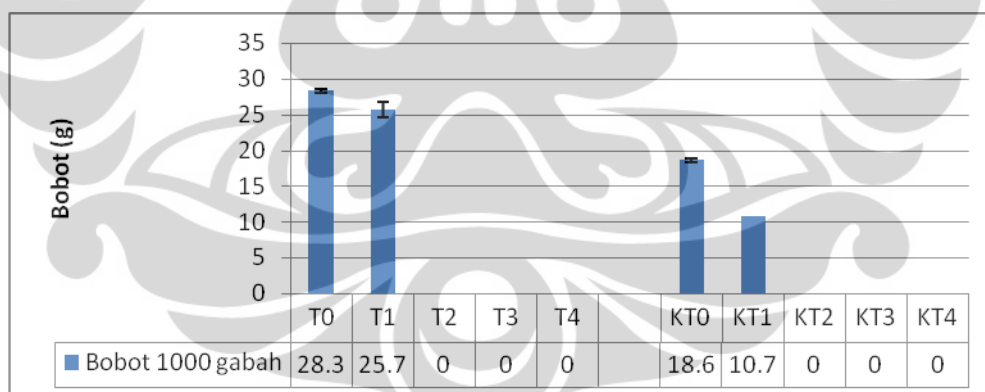
Jumlah anakan dan bobot 1000 butir

Hasil perhitungan jumlah anakan padi dan bobot 1000 butir menunjukkan perlakuan pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1 meningkatkan jumlah anakan padi dan bobot 1000 butir pada perlakuan T0 dan T1. Pemberian inokulan memberikan dampak peningkatan jumlah anakan 26% pada perlakuan T0 dan 56% pada perlakuan T1 (Gambar II.4). Bobot 1000 butir meningkat sebesar 52,3% pada perlakuan T0 dan 144% pada perlakuan T1 (Gambar II.5).



Keterangan : T0, T1, T2, T3, T4 adalah perlakuan salinitas dengan konsentrasi 0; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%, sedangkan KT0, KT1, KT2, KT3, dan KT4 adalah kontrol untuk masing-masing perlakuan.

Gambar II.4 Profil jumlah anakan padi pada perlakuan dengan dan tanpa inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1



Keterangan : T0, T1, T2, T3, T4 adalah perlakuan salinitas dengan konsentrasi 0; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%, sedangkan KT0, KT1, KT2, KT3, dan KT4 adalah kontrol untuk masing-masing perlakuan.

Gambar II.5 Profil bobot 1000 butir pada perlakuan dengan dan tanpa inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1

Kapang halotoleran *Aspergillus niger* PBB 3.1 aktif memproduksi hormon tumbuh pada salinitas 1,0% (Gambar I.6). Hormon auxin (IAA) berfungsi untuk menstimulasi pembelahan sel pada ujung akar, sehingga menyebabkan sistem

perakaran menjadi lebih baik (Hasan 2002). Sistem perakaran yang lebih baik akan memungkinkan tanaman mendapatkan hara lebih optimal. Kondisi tersebut menyebabkan tanaman lebih tahan terhadap salinitas (Koide 1991; Hasan 2002; Khan *et al.* 2012). Hormon auxin tidak sempurna meningkatkan ketahanan sel, tetapi hormon ini akan sangat membantu meningkatkan ketahanan tanaman. Produksi hormon auxin dipengaruhi oleh salinitas telah diamati oleh peneliti sebelumnya, seperti Hasan (2002) yang melaporkan bahwa salinitas 0 – 10% akan dapat meningkatkan produksi IAA sekitar 0,5%.

Interaksi semua faktor di atas berpengaruh terhadap pembentukan anakan padi dan berat 1000 butir (Gambar II.4 dan II.5). Salinitas yang tinggi menurunkan produktivitas padi dengan sangat nyata. Kondisi salin dapat menghambat penyerapan beberapa nutrient dan mineral seperti Ca^{2+} , K^+ , N dan P oleh tanaman (Hasan 2002; Tejada *et al.* 2006; Yadav *et al.* 2011).

KESIMPULAN

1. Inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 dapat meningkatkan pertumbuhan padi sekitar 16% pada media non salin dan salinitas 1,0% serta meningkatkan berat 1000 bulir sekitar 52,3% pada media non salin dan 144% pada media salin 1,0%.
2. Inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 mempunyai viabilitas sampai salinitas 1,0%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian mengenai bentuk inokulan yang lebih bervariasi.

DAFTAR ACUAN

- Adam, G. & H. Duncan, 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil. Biol. and Biochem.* **33**: 943-951.
- Akintokun, A.K., G.A. Akande, P.O. Akintokun, T.O.S. Popoola & A.O. Babalola. 2007. Solubilization on insoluble phosphate by organic acid-

- producing fungi isolated from Nigerian soil. *Inter. J. of Soil Sci.* **2**: 301-307.
- Alam, S., S. Khalil, N. Ayub & M. Rashid. 2002. *In vitro* solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganism (PSM) for maize rhizosphere. *Int. J. of Agr. and Bio.* **4**(4): 454-458.
- Asmarlaili, S. Hanafiah & T.M.H. Oeliem. 1995. Keefektifan mikroorganisme pelarut fosfat yang diisolasi dari berbagai tanah masam di Sumatera Utara. *J. Pen. Pert.* **14**: 11-19.
- Barroso, C.B., G.T. Pereira & E. Nahas. 2006. Solubilization of CaHPO_4 and AlPO_4 by *Aspergillus niger* in culture media with different carbon and nitrogen sources. *Brazilian J. of Microbiol.* **37**: 434-438.
- Borresen, M.H & A.G. Rike. 2006. Effects of nutrient content, moisture content and salinity on mineralization of hexadecane in an arctic soil. *Cold Reg. Sci. and Tech.* **48**: 129-138.
- Breeuwer, P & T. Abee. 2000. Assesmentof viability of microorganism employing flourescene techniques. *Inter. J. of Food Microbiol.* **55**: 193-200.
- Cemerman, N.G., J.Ramos & A. Plemenitas. 2009. Halotolerant and halophylic fungi. *Myco. Research.* **113**: 1231-1241.
- Chowdhury, N., P. Marschner & R.G. Burns. 2011. Soil microbial activity and community composition: impact of changes in matric and osmotic potential. *Siol Biol. and Biochem.* **43**(6): 1229-1236.
- Dénarié, J. & J. Cullimore. 1993. Lipo-oligosaccharide nodulation factors: A mini-review new class of signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Cell.* **74**: 951-954.
- Ernita. 1998. Uji potensial mikroorganisme pelarut fosfat pada medium pikovskaya. *J. Pen. Pert.*, **17**: 54-58
- Garbaye, J. 1994. Helper bacteria: A new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* **128**: 197-210.
- Green, V.S., D.E. Stott & M. Diack. 2006. Assay for flourescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples. *Soil Bio. And Biochem.* **38**: 693-701.

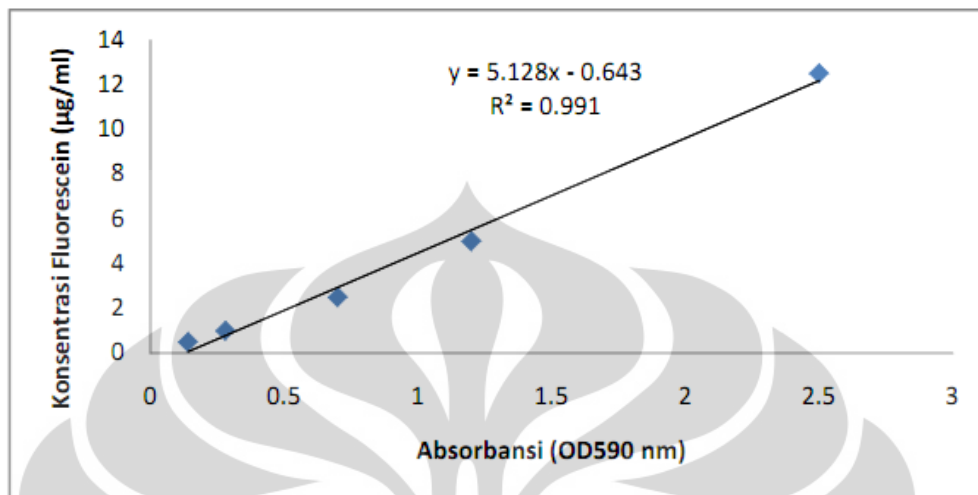
- Gupta, S.R. & V. Malik. 1996. Soil ecology and sustainability. *J. Tropical Ecology* **37**(1): 43-55.
- Gunde-Cimerman, N., J. Ramos & A. Plemenitas. 2009. Halotolerant and halophilic fungi. *Mycol. Research* **113**: 1231-1241.
- Hasan, H.A.H. 1998. Studies on taxogenic fungi in roasted foodstuff (salted seed) and halotolerant activity of emodin producing *Aspergillus wentii*. *Folia Microbiol.* **43**: 383-391.
- Hasan, H.A.H. 2002. Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. *Rostlinna vyroba* **48**(3): 101-106.
- Hermanto, D. Sadikin & E. Hikmat. 2009. *Deskripsi varietas unggul padi 1943-2009*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor: x + 220.
- Joner E.J., M. Arle & I.M. Vosatka. 2000. Phosphate activity of extraradical arbuscular mycorrhizal hyphae. *J. Biol. Biochem.* **226**: 199-207.
- Jonharnas. 2009. Seleksi beberapa varietas unggul padi sawah terhadap pertumbuhan dan hasil. *J. Ilmiah Tambua.* **VIII** (3): 400-403.
- Kahle, H. 1993. Response of roots of trees to heavy metals. *Environ. Exp. Bot.* **33**: 99-119.
- Khan, A.L., M. Hamayun, S.M. Kang, Y.H. Kim, H.Y. Jung & J.H. Lee. 2012. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL 10. *BMC Microbiol.* **2**(3): 1-14.
- Khan, M.R. & M.A. Anwar. 2011. Fungi bioinoculants for plant disease management. *Microbes and Microbial Tech.* 447-488.
- Kogej T., J. Ramos, A. Plemenitas & N. Gunde-Cimerman. 2005. The halophilic fungus *Hortaea werneckii* and the halotolerant fungus *Aureobasidium pullulans* maintain low intracellular cation concentrations in hypersaline environments. *App. and Envir. Micr.* **71**:6600-6605.
- Kohler, J., F. Caravaca & A. Roldan. 2010. An AM fungus and PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Lactuca sativa* *Soil Biol. & Biochem.* **42**: 429-434.

- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist* **117**: 365-386.
- Kukkola, E., P. Rautio & S. Huttunen. 2000. Stress indication in copper and nickel-exposed Scots pine seedlings. *Environmental and Experimental Botany* **43**: 197-210.
- Lian, B., B. Wang, M. Pan, C. Liu & H.H. Teng. 2008. Microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **72**: 87-98.
- Mamilov, A.Sh. & O.M. Dilly. 2002. Soil microbial eco-physiology as affected by short-term variations in environmental conditions. *Soil Biol. & Biochem.* **34**: 1283-1290.
- Michael, L., A. Bishop, C. Chang & R.W.K. Lee. 1994. Enzymatic mineralization of organic phosphorus in a volcanic soil in Chile. *Soil Sci.* **157** (4): 238-241.
- Mittal V., O. Singh, H. Nayyar, J. Kaur & R. Tewari. 2008. Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.cv.GPF2). *Soil Biol. And Biochem.* **40**: 718-727.
- Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* **17**: 362-370.
- Poljakoff-Mayber, A. & J. Gale. 1975. Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. *Dalam* : Poljakoff-Mayber A & Gale J. (eds.). 1975. Plants in saline environments. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 97-117 .
- Pradhan, N. & L.B. Sukla. 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *African J. of Biotech.* **5**: 850-854.
- Sanchez-Monedero, M.A., C. Mondini, M.L. Cayuela, A. Roig, M. Contin & M. de Nobili. 2008. Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils. *Biol. Fertil. Soils* **44**: 885-890.

- Sardinha, M., T. Muller, H. Schmeisky & R.G. Joergensen. 2003. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *App. Soil Ecol.* **23**: 237-244.
- Schimel, J.P., T.C. Balser & M. Wallenstein. 2007. Microbial stress response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology* **88**(6): 1386-1393.
- Simanungkalit, R.D.M. 2006. Prospek pupuk organik dan hayati. *Dalam*: Simanungkalit, R.D.M., D.A. Suriadikarta, R. Saraswati, D. Setyorini & W. Hartatik (eds.). 2006. Pupuk organik dan pupuk hayati: organic fertilizer and biofertilizer. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian: iii + 283 hlm.
- Srividya, S., S. Soumya & K. Pooja 2009. Influence of environmental factors and salinity on phosphate solubilization by a newly isolated *Aspergillus niger* F7 from agricultural soil. *Afr. J. of Biotech.* **8**(9): 1864-1870.
- Supadi & S.H. Susilowati. 2004. *Dinamika penguasaan lahan pertanian di Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian: ii + 176.
- Suwarno & S. Solahudin. 1983. Toleransi varietas padi terhadap salinitas pada fase perkecambahan. *Bul. Agro.* **XIV**(3): 1-6.
- Tejada, M., C. Garcia, J.L. Gonzales & M.T. Hernandez. 2006. Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biol. Biochem.* **38**: 1413-1421.
- Thomas, G.V., M.V. Shantaram & N. Sharaswatthy. 1985. Occurrence and activity of phosphate solubilizing fungi from coconut plantation soils. *Plant and Soil.* **87**: 357-364.
- Utama, M.Z.H., W. Haryoko, R. Munir & Sunadi 2009. Penapisan varietas padi toleran salinitas pada lahan rawa di Kabupaten Pesisir Selatan. *J. Agron. Ind.* **37**(2): 101-106.

- Wakelin, S.A., P.R. Werren & H.M. Ryder. 2004. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat root. *Biol. and Fert. Soils* **40**: 36-43.
- Wichern, J., F. Wichern & R.G. Joergensen. 2006. Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soil. *Geoderma*. **137**: 100-108.
- Wijebandara, D.M.D.I., G.S. Dasog, P.L. Patil & M. Hebbar 2009. Response of rice to nutrients and biofertilizer under conventional and system of rice intensification methods of cultivation in Tungabhadra command of Karnataka. *J. Agric. Sci.* **22**(4): 741-750.
- Yadav, J., J.P. Verma & K.N. Tiwari. 2011. Plant growth promoting activities of fungi and their effect on chickpea plant growth. *Asian J. Biol. Sci.* **4**(3): 291-299.
- Yunasfi. 2009. Pengaruh tingkat salinitas terhadap keberadaan jenis-jenis fungi selama proses dekomposisi serasah daun *Avicennia marina*. *Warta Univ. UMA*. (23): 41-47.

Lampiran II.1 Kurva standar fluorescein diasetat (FDA)



Lampiran II.2 Tabel analisis FDA pada media tanam dengan perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	T0	T1	T2	T3	T4
10	4,52±0,03	4,35±0,05	3,14±0,05	2,63±0,02	1,63±0,03
30	4,61±0,01	4,37±0,05	3,91±0,16	2,63±0,01	1,62±0,01
60	4,71±0,09	4,40±0,07	3,70±0,21	2,60±0,01	1,61±0,02
90	4,73±0,01	4,49±0,09	3,64±0,21	2,58±0,01	1,60±0,02

Lampiran II.3 Tabel analisis FDA pada media tanam tanpa perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	KT0	KT1	KT2	KT3	KT4
10	3,10±0,01	3,76±0,14	3,64±0,05	2,17±0,06	1,47±0,06
30	4,00±0,17	3,97±0,13	3,30±0,26	2,23±0,12	1,47±0,15
60	4,27±0,12	4,07±0,09	3,07±0,15	2,17±0,11	1,73±0,21
90	4,40±0,17	4,09±0,15	3,03±0,21	2,17±0,11	1,27±0,06

Lampiran II.4 Tabel populasi kapang media tanam padi dengan perlakuan inokulan (cfu/g)

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	T0	T1	T2	T3	T4
10	$4,5 \pm 0,23 \times 10^6$	$3,7 \pm 0,11 \times 10^6$	$2,4 \pm 0,09 \times 10^6$	$1,3 \pm 0,07 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,06 \times 10^6$
30	$5,2 \pm 0,16 \times 10^6$	$4,5 \pm 0,18 \times 10^6$	$2,8 \pm 0,14 \times 10^6$	$1,6 \pm 0,06 \times 10^6$	$1,2 \pm 0,06 \times 10^6$
60	$6,3 \pm 0,31 \times 10^6$	$5,6 \pm 0,11 \times 10^6$	$1,5 \pm 0,05 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,04 \times 10^5$	$7,2 \pm 0,22 \times 10^5$
90	$6,8 \pm 0,21 \times 10^6$	$5,8 \pm 0,23 \times 10^6$	$2,3 \pm 0,12 \times 10^5$	$7,8 \pm 0,23 \times 10^4$	$5,2 \pm 0,21 \times 10^4$

Lampiran II.5 Tabel populasi kapang media tanam padi tanpa perlakuan inokulan (cfu/g)

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	KT0	KT1	KT2	KT3	KT4
10	$3,6 \pm 0,11 \times 10^6$	$2,9 \pm 0,12 \times 10^6$	$1,9 \pm 0,06 \times 10^6$	$1,0 \pm 0,03 \times 10^6$	$8,0 \pm 0,32 \times 10^5$
30	$4,1 \pm 0,21 \times 10^6$	$3,6 \pm 0,18 \times 10^6$	$2,2 \pm 0,09 \times 10^6$	$1,2 \pm 0,04 \times 10^6$	$9,0 \pm 0,36 \times 10^5$
60	$5,0 \pm 0,20 \times 10^6$	$4,4 \pm 0,18 \times 10^6$	$9,0 \pm 0,36 \times 10^5$	$8,0 \pm 0,32 \times 10^5$	$5,0 \pm 0,15 \times 10^5$
90	$5,4 \pm 0,22 \times 10^6$	$4,6 \pm 0,18 \times 10^6$	$1,1 \pm 0,03 \times 10^5$	$6,0 \pm 0,24 \times 10^4$	$3,5 \pm 0,14 \times 10^4$

Lampiran II.6 Tabel laju pertumbuhan tinggi tanaman padi dengan perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	T0	T1	T2	T3	T4
10	24,6±0,17	23,8±0,46	22,3±1,60	20,3±0,05	15,3±0,70
30	45,5±0,30	39,4±1,65	35,5±1,90	21,7±1,39	16,5±0,80
60	97,5±0,06	74,0±2,90	0	0	0
90	105,5±5,2	97,4±5,47	0	0	0

Lampiran II.7 Tabel laju pertumbuhan tinggi tanaman padi tanpa perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	KT0	KT1	KT2	KT3	KT4
10	19,5±0,70	18,7±0,14	17,6±0,6	16,2±0,06	13,3±0,75
30	38,5±1,50	29,5±0,13	0	0	0
60	82,8±2,20	63,13±2,37	0	0	0
90	88,7±1,60	82,6±5,31	0	0	0

Lampiran II.8 Tabel jumlah anakan padi dengan perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	T0	T1	T2	T3	T4
10	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00
30	5,0±0,00	4,0±0,00	3,3±0,58	3,0±0,00	3±0,00
60	7,7±0,58	6,0±1,00	0	0	0
90	11,7±0,58	9,0±1,00	0	0	0

Lampiran II.9 Tabel jumlah anakan padi tanpa perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan				
	KT0	KT1	KT2	KT3	KT4
10	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00
30	3,7±0,58	3,0±0,00	0	0	0
60	5,7±0,58	3,7±0,58	0	0	0
90	8,7±0,58	4,0±0,00	0	0	0

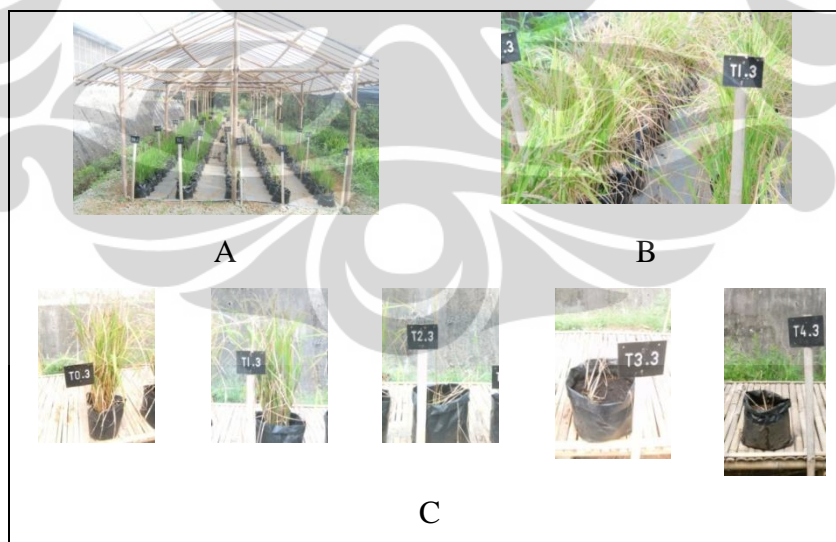
Lampiran II.10 Tabel bobot 1000 butir padi dengan dan tanpa perlakuan inokulan

Perlakuan	Bobot (g)				
	0	1	2	3	4
Inokulan (T)	28,30 ± 0,30 c	25,73 ± 1,07 d	0	0	0
Tanpa inokulan (KT)	18,60 ± 0,23 b	10,70 ± 0,21 a	0	0	0
Persentase peningkatan	52.3%	144%			

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata, pada taraf uji 5%

Lampiran II.11 Tabel perubahan pH media tanam padi dengan dan tanpa perlakuan inokulan

Waktu pengukuran (hari)	Perlakuan inokulan					Kontrol				
	T0	T1	T2	T3	T4	KT0	KT1	KT2	KT3	KT4
0	6,4	7,1	6,6	6,7	6,6	6,4	7,2	6,4	6,5	6,6
100	4,6	4,5	4,5	4,7	4,5	4,7	4,5	4,9	5,0	4,9



Lampiran II.12 Percobaan rumah kaca (A) umur 45 hari setelah tanam, (B dan C) 100 hari setelah tanam

DISKUSI PARIPURNA

Salinitas dan kondisi ekosistem sangat berpengaruh terhadap kelimpahan dan jenis kapang di Pulau Laki, Kepulauan Seribu maupun di Suwung, Bali. Hasil isolasi dan seleksi diperoleh 74 isolat kapang halotoleran, 36 isolat berasal dari Pulau Laki dan 38 isolat dari Suwung, Bali. Kelimpahan kapang di Pulau Laki berkisar dari $(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$ sampai $(8,2 \pm 0,4) \times 10^3$ cfu/g sampel dan didominasi oleh *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*. Kawasan Suwung, Bali, kelimpahan kapang berkisar dari $(2,3 \pm 0,1) \times 10^4$ sampai $(3,3 \pm 0,2) \times 10^5$ cfu/g sampel dan didominasi oleh *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, dan *Trichoderma* (Tabel I.1 dan I.2).

Keragaman jenis dan populasi kapang yang berbeda pada kedua lokasi diduga terjadi karena adanya perbedaan sumber karbon dan senyawa terlarut dalam ekosistem (Yunasfi 2009; Yadav *et al.* 2011). Ekosistem di Suwung, Bali lebih baik jika dibandingkan dengan ekosistem di Pulau Laki. Kondisi tersebut tercermin dari lingkungan yang subur dimana tanaman bakau sebagai sumber bahan organik terdapat melimpah di Suwung, Bali. Kondisi yang sebaliknya tidak ditemukan pada ekosistem Pulau Laki. Keragaman jenis dan populasi kapang menentukan kontribusi masing-masing jenis kapang pada ekosistem tersebut (Bashan & Holguin 2002; Srividya *et al.* 2009; Nayak *et al.* 2012).

Hasil pengujian pelarutan fosfat terhadap 28 isolat dominan yang berasal dari sub plot di dua lokasi sampling, diperoleh 7 isolat dari setiap plot yang memiliki indek kelarutan fosfat tertinggi di setiap plot sampling. Isolat-isolat tersebut adalah: *Penicillium* (PLA.2.2) 2,50; *Aspergillus* (PLB.2.1) 2,53; *Aspergillus* (PLC.3.2) 2,55; *Aspergillus* (PLD.2.1) 2,70; *Aspergillus* (PBA.1.1) 2,63; *Aspergillus* (PBB.3.1) 2,71 dan *Aspergillus* (PBC. 1.3) 2,56 (Tabel I.3). Hasil tersebut juga menunjukkan kapang *Aspergillus* dan *Penicillium* merupakan jenis kapang halotoleran yang memiliki indek pelarutan fosfat tertinggi untuk setiap plot sampling.

Aspergillus dan *Penicillium* merupakan dua genus kapang yang memiliki sebaran luas dan digolongkan sebagai kapang halotoleran (Moubasher *et al.* 1990; Cemerman *et al.* 2009). Perbedaan indek kelarutan fosfat yang ada menunjukkan

perbedaan kemampuan kapang-kapang tersebut dalam melarutkan fosfat anorganik. Setiap isolat kapang pelarut fosfat memiliki kemampuan yang berbeda dalam menggunakan senyawa fosfat anorganik yang terdapat dalam media *Pikovskaya* untuk pertumbuhannya (Kapoor *et al.* 1989; Barroso *et al.* 2006; Achal *et al.* 2007; Akintokun *et al.* 2007).

Hasil analisis lebih lanjut dari 7 isolat terpilih dengan uji *radial growth* pada media padat serta pertumbuhan biomassa pada media cair menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda. Perbedaan pola pertumbuhan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan difusi nutrisi dan ketersediaan oksigen yang berbeda antara media padat dan cair.

Uji pertumbuhan *radial growth* dan pembentukan biomassa menunjukkan isolat *Aspergillus* (PBB 3.1) memiliki pertumbuhan tertinggi (Tabel I.4 dan Tabel I.5). Hasil analisis jumlah spora isolat *Aspergillus* (PBB.3.1) menunjukkan jumlah spora terbanyak dicapai pada perlakuan konsentrasi 10% NaCl yaitu $(14,30 \pm 0,4) \times 10^6$ (Gambar I.3). Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi 10% NaCl dapat memacu pertumbuhan spora kapang isolat *Aspergillus* (PBB.3.1). Kondisi tersebut terjadi sebagai bentuk adaptasi isolat *Aspergillus* (PBB 3.1) terhadap lingkungan yang salin untuk dapat tetap hidup.

Kemampuan pelarutan fosfat dan pembentukan IAA isolat kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) dipengaruhi oleh salinitas dan waktu inkubasi (Gambar I.6 dan I.8). Konsentrasi 2% NaCl dan waktu inkubasi 72 jam merupakan konsentrasi yang baik untuk pelarutan fosfat kapang *Aspergillus* (PBB.3.1). Hal tersebut membuktikan bahwa konsentrasi NaCl yang rendah (2%) akan meningkatkan kemampuan kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) dalam pelarutan fosfat. Kemampuan pelarutan fosfat tersebut terus menurun dengan meningkatnya salinitas. Fenomena serupa pernah disampaikan oleh Ahmed dan Khan (1988) dimana meningkatnya salinitas di lingkungan mikroba akan menurunkan fosfat terlarut. Penurunan fosfat tersebut mungkin tidak disebabkan oleh menurunnya kemampuan kapang *Aspergillus* (PBB.3.1) dalam melarutkan fosfat tapi lebih disebabkan oleh penggunaan fosfat yang terlarut oleh kapang itu sendiri sebagai upaya untuk tetap hidup dalam kondisi salin.

Peran kapang *Aspergillus niger* PBB.3.1 membantu pelarutan fosfat melalui pembentukan asam organik. Asam organik tersebut terbentuk melalui biokonversi gula reduksi seperti glukosa menjadi asam organik (asam glukonat, asam laktat dan asam sitrat (Sudiana 2004.). Asam organik yang terbentuk menyebabkan penurunan pH. Kondisi ini dapat menyebabkan fosfat berada dalam bentuk ioniknya (HPO_4^{2-}) yang dapat digunakan oleh *Aspergillus niger* PBB.3.1 (Pradhan & Sukla 2005).

Hasil analisis molekular (Lampiran I.8 dan I.9) kapang *Aspergillus* (PBB 3.1) diidentifikasi sebagai *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).

Kapang *Aspergillus niger* (PBB.3.1) ternyata mampu menghasilkan IAA pada kondisi salin. Mekanisme pengaruh ion sodium terhadap pembentukan IAA sampai saat ini belum diketahui. Namun demikian hal tersebut diduga terkait dengan adaptasi kapang terhadap stres lingkungan. Hasil penelitian yang sama pernah dilaporkan oleh Hasan (2002) dimana konsentrasi 6% NaCl dapat memacu sintesis auxin sebesar 0,6%. Produksi IAA akan meningkat karena IAA digunakan sebagai bentuk pertahanan diri dari kondisi lingkungan salin (Hasan 2002; Shahab *et al.* 2009; Yadav *et al.* 2011; Khan *et al.* 2012).

Inokulan kapang *Aspergillus niger* PBB.3.1 berperan penting dalam meningkatkan aktivitas enzim hidrolisis esterase, protease dan lipase (Gambar II.1). Peningkatan aktivitas tersebut disebabkan oleh meningkatnya populasi kapang (Gambar II.2). Aktivitas enzim FDA menyebabkan mineralisasi material organik lebih cepat (Green *et al.* 2006). Kondisi tersebut ternyata mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman padi sekitar 16% pada kondisi salinitas 1,0%.

Pertumbuhan padi terhenti pada salinitas di atas 1,5% hari ke 30 untuk perlakuan kontrol. Kematian tanaman padi juga terjadi pada perlakuan yang diberi inokulan *Aspergillus niger* PBB.3.1 pada hari ke 60 (Gambar II.4). Kondisi tersebut membuktikan bahwa inokulan yang diberikan mampu memberikan hara yang cukup. Terhentinya pertumbuhan padi mungkin tidak disebabkan oleh terhentinya aktivitas enzim hidrolisis, akan tetapi akibat perubahan transport ion Na pada jaringan padi akibat konsentrasi ion Na yang terlalu tinggi pada media tanam. Tanaman padi yang mengalami stres salinitas umumnya tidak

menunjukkan respon dalam bentuk kerusakan langsung, akan tetapi pertumbuhannya tertekan dan terjadi perubahan secara berlahan. Salinitas yang tinggi, menyebabkan tanaman akan mengalami pertumbuhan tidak normal, seperti daun mengering di bagian ujung (Poljakoff-Mayber & Gale 1975; Utama *et al.* 2009). Kondisi salin dapat menghambat penyerapan beberapa nutrisi dan mineral seperti Ca^{2+} , K^+ , N, dan P oleh tanaman (Hasan 2002; Tejada *et al.* 2006; Yadav, *et al.* 2011). Uji ketahanan padi pada kondisi lapang dapat mencapai 1,5% (Suwarno & Solahudin 1983; Utama, *et al.* 2009).

Pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman padi sampai batas salinitas 1,0%. Kondisi tersebut terlihat dari data pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah anakan yang meningkat jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Terjadi peningkatan pertumbuhan tinggi tanaman sebesar 16% pada perlakuan T0 maupun T1, serta jumlah anakan sebesar 26% pada perlakuan T0 dan 56% pada perlakuan T1. Pemberian inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 juga berpengaruh terhadap produktivitas tanaman padi dilihat dari bobot 1000 butir. Peningkatan bobot 1000 butir terjadi sebesar 52% pada perlakuan T0 dan 144% pada perlakuan T1. Kondisi tersebut membuktikan bahwa inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 berperan dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman padi varietas Ciherang pada kondisi salin sampai 1,0%.

Aplikasi biofertilizer berbasis *Aspergillus niger* PBB 3.1 memerlukan beberapa pendekatan. Kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 mampu tumbuh dan aktif pada salinitas sekitar 1,5%, akan tetapi tanaman padi tidak mampu bertahan pada salinitas tersebut. Sifat fisiologi kapang *Aspergillus niger* PBB 3.1 yang tahan terhadap salinitas akan menguntungkan bagi mikroba dan tanaman setempat karena akan menstimulasi proses mineralisasi dan pertumbuhan tanaman.

RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Diperoleh 74 isolat kapang halotoleran, 36 isolat berasal dari ekosistem mangrove Pulau Laki, Kepulauan Seribu dan 38 isolat dari ekosistem mangrove Suwung, Bali.
2. Ekosistem mangrove Pulau Laki didominasi oleh *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*, sedangkan untuk ekosistem mangrove Suwung, Bali didominasi oleh *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, dan *Trichoderma*.
3. Isolat *Aspergillus* PBB.3.1 merupakan kapang halotoleran yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan membentuk hormon IAA. Berdasarkan analisis LSU, ITS1 dan ITS2 diidentifikasi sebagai *Aspergillus niger* (van Tieghem 1867).
4. Inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 dapat meningkatkan pertumbuhan padi sekitar 16% pada media non salin dan salinitas 1,0% serta meningkatkan berat 1000 bulir sekitar 52,3% pada media non salin dan 144% pada media salin 1,0%.
5. Inokulan *Aspergillus niger* PBB 3.1 mempunyai viabilitas sampai salinitas 1,0%.

SARAN

1. Perlu dilakukan analisis IAA dengan metode yang lebih sensitif.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai bentuk inokulan yang lebih bervariasi.

DAFTAR ACUAN

- Achal, V., V.V. Savant & R.M. Sudhakara. 2007. Phosphate Solubilization by Wide Type Strain and UV-induced Mutants of *Aspergillus tubingensis*. *Soil Bio. and Biochem.* **39**(2): 695-699.
- Anonim. 2011. *Data pokok kelautan dan perikanan periode s.d. Oktober 2011*. Pusat Data, Statistik dan Informasi, Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan, v+61.
- Akintokun, A.K., G.A. Akande, P.O. Akintokun, T.O.S. Popoola & A.O. Babalola. 2007. Solubilization on insoluble phosphate by organic acid-producing fungi isolated from Nigerian soil. *Inter. J. of Soil Sci.* **2**: 301-307.
- Barroso, C.B., G.T. Pereira & E. Nahas. 2006. Solubilization of CaHPO₄ and AlPO₄ by *Aspergillus niger* in culture media with different carbon and nitrogen sources. *Brazilian J. of Microbiol.* **37**: 434-438.
- Bashan, Y. & G. Holguin. 2002. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees.* **16**: 159-166.
- Cemerman, N.G., J. Ramos & A. Plemenitas. 2009. Halotolerant and halophylic fungi. *Myco. Research.* **113**: 1231-1241.
- Gerwick, B.C. 1990. Effect of global warming on arctic coastal and offshore engineering. *J. Cold Reg. Eng.* **4**(1): 381-384.
- Green, V.S., Stott, D.E. & M. Diack. 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples. *Soil Bio. And Biochem.* **38**: 693-701.
- Hasan, H.A.H. 2002. Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. *Rostlinna vyroba* **48**(3): 101-106.
- Kapoor, K. K., M.M. Mishra & K. Kukreja. 1989. Phosphate Solubilization by Soil Microorganisms. *Ind. J. of Microb.* **29**(2): 119-127.
- Kelavkar, U.P. & H.S. Chhatpar. 1993. Polyol concentrations in *Aspergillus repens* grown under salt stress. *World J. of Microbiol. And Biotech.* **9**: 579-582.

- Khan, A.L., M. Hamayu, S.M. Kang, Y.H. Kim, H.Y. Jung, J.H. Lee & I.J. Lee. 2012. Endophytic fungal association via gibberellins and indone acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL 10. *BMC Microbiol.* **12**: 1-14.
- Kohler, J., F. Caravaca & A. Roldan. 2010. An AM fungus and PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Luctuca sativa* *Soil Biol. & Biochem.* **42**: 429-434.
- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist* **117**: 365-386.
- Lian, B., B. Wang, M. Pan, C. Liu & H.H. Teng. 2008. Microbial release of potassium from K- bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **72**: 87-98.
- Miki, T. 2012. Microbe-mediated plant soil feedback and its roles in a changing world. *Ecol. Research* **27**(3): 509-520.
- Moubasher, A.H., S. Abdel-Hafez, M.M. Bagy & M.A. Abdel-Sater 1990. Halophilic and halotolerant fungi in cultivated desert and salt march soil from Egypt. *Acta Mycol.* **26**: 56-81.
- Nayak, S.S., V. Gonsalves & S.W. Nazareth. 2012. Isolation and salt tolerance of halophylic fungi from mangroves and solar salterns in Goa – India. *Indian J. Mar. Sci.* **41**(2): 164-172.
- Poljakoff-Mayber A. & J. Gale. 1975. Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. *Dalam* : Poljakoff-Mayber A & Gale J. (eds.). 1975. *Plants in saline environments*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 97-117 .
- Pradhan, N. & L.B. Sukla. 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *African J. of Biotech.* **5**: 850-854.
- Sardinha, M., T. Muller, H. Schmeisky & R.G. Joergensen. 2003. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *App. Soil Ecol.* **23**: 237-244.
- Setiawan, A.N. 1996. Teknologi budidaya pertanian lahan pantai dan permasalahannya. *Agr. UMY.* **4**(2): 42-45.

- Shahab, S., N. Ahmed & N.S. Khan. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PBSs. *Afr. J. Agric. Res.* **4**(11): 1312-1316.
- Srividya, S., S. Soumya & K. Pooja 2009. Influence of environmental factors and salinity on phosphate solubilization by a newly isolated *Aspergillus niger* F7 from agricultural soil. *Afr. J. of Biotech.* **8**(9): 1864-1870.
- Suwarno & S. Solahudin. 1983. Toleransi varietas padi terhadap salinitas pada fase perkecambahan. *Bul. Agro.* **XIV**(3): 1-6.
- Tejada, M., C. Garcia, J.L. Gonzales & M.T. Hernandez. 2006. Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biol. Biochem.* **38**: 1413-1421.
- Titus, J.G. 1990. Greenhouse effect, sea level rise, and land use. *Land Use Policy.* **7**(2): 138-153.
- Utama, M.Z.H., W. Haryoko, R. Munir & Sunadi. 2009. Penapisan varietas padi toleran salinitas pada lahan rawa di Kabupaten Pesisir Selatan. *J. Agron. Ind.* **37**(2): 101-106.
- Wakelin, S.A., P.R. Werren & H.M. Ryder. 2004. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat root. *Biol. and Fert. Soils* **40**: 36-43.
- Wichern, J., F. Wichern & R.G. Joergensen. 2006. Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soil. *Geoderma.* **137**: 100-108.
- Yadav, B.K. & J.C. Tarafdar. 2011. *Penicillium Purpurogenum*, Unique P Mobilizers in Arid Agro-Ecosystems. *Arid Land Research and Management.* **25**(1): 87-99.
- Yunasfi. 2009. Pengaruh tingkat salinitas terhadap keberadaan jenis-jenis fungi selama proses dekomposisi serasah daun *Avicennia marina*. *Warta Univ. UMA.* **(23)**: 41-47.
- Yuwono, N.W. 2009. Membangun kesuburan tanah di lahan marginal. *J. Il. Tanah dan Ling.* **9**(2): 137-141.