

Karakterisasi Khamir dari Pulau Poteran Madura

Isna Nur Ashliha dan Nur Hidayatul Alami

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: hidayatulalami@bio.its.ac.id

Abstrak— Peningkatan potensi pulau Poteran, Madura dapat dilakukan melalui perbaikan kualitas pada lahan pertanian yakni dengan memanfaatkan khamir sebagai agen *biofertilizer*. Penelitian ini bertujuan untuk menginventarisasi, mengidentifikasi khamir dari pulau Poteran, Madura yang berperan melarutkan fosfat dan mendegradasi bahan organik. Identifikasi khamir hingga tingkat genus berdasarkan karakteristik morfologi mikroskopik dan makroskopik, reproduksi seksual serta uji fisiologis. Hasil penelitian ini didapatkan 9 isolat khamir yang diduga berasal dari genus *Candida*, *Saccharomyces*, *Filobasidium*, *Trichosporon*, dan *Pichia*.

Kata Kunci—khamir, pulau Poteran, khamir pelarut fosfat, khamir degradasi bahan organik.

I. PENDAHULUAN

INDONESIA merupakan negara kepulauan yang sebagian wilayahnya merupakan perairan dengan jumlah pulau 17.508, dimana dari sekian pulau yang ada, sebagian masih belum dimanfaatkan secara optimal sesuai dengan potensinya. Salah satu pulau kecil di kabupaten Sumenep di antaranya yaitu pulau Poteran [1]. Pulau Poteran adalah salah satu pulau kecil dengan potensi Sumber Daya Alam (SDA) yang belum banyak diungkap. Pengembangan pulau Poteran dengan konsep *sustainable island* pada sektor pertanian dapat dilakukan melalui perbaikan produksi pada lahan pertanian.

Indonesia termasuk negara yang terletak di daerah tropis dengan kelimpahan keanekaragaman flora, fauna dan mikroorganisme. Keberadaan mikroorganisme di alam sangat melimpah meliputi daratan atau tanah, perairan dan udara [2]. Salah satu kelompok mikroorganisme adalah khamir, yang dikenal memiliki rentang ekologi cukup luas dan mampu hidup pada daerah ekstrim [3], dan biasanya ditemukan pada lingkungan organik tinggi [4]. Menurut Kurtzman dan Piskur (2006), isolasi dan identifikasi dari total perkiraan keanekaragaman khamir di dunia baru dilakukan sekitar 1%. Diantara 89 genera khamir yang pernah terdaftar dalam monograf khamir, sebanyak 37 genera atau 42% ditemukan di Indonesia [4]. Penelitian tentang *yeast* banyak dilakukan dalam bentuk eksplorasi dari berbagai ekosistem di Indonesia. Hal ini diyakini bahwa jumlah khamir di alam jauh lebih tinggi dibandingkan khamir yang telah diketahui selama ini [2]. Penelitian mengenai keragaman khamir tanah telah banyak dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya yang telah mengisolasi khamir dari berbagai variasi tipe ekosistem tanah, seperti pada daerah antartika, gurun dan hutan subtropika. Akan tetapi belum banyak peneliti yang melaporkan keragaman khamir yang hidup pada tanah di daerah tropis [5].

Hal ini yang mendasari penelitian mengenai keragaman khamir di daerah tropis, salah satunya di Pulau Poteran, Madura.

Penelitian mengenai keragaman khamir diharapkan dapat diaplikasikan dalam meningkatkan sektor pertanian di pulau Poteran. Upaya peningkatan pada sektor pertanian adalah dengan menggunakan mikroorganisme sebagai agen *biofertilizer*. Salah satu peran khamir sebagai agen *biofertilizer* diantaranya adalah sebagai pelarut fosfat dan pendegradasi bahan organik.

Penelitian ini bertujuan untuk menginventarisasi dan mengidentifikasi khamir dari pulau Poteran, Madura. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai peran ekologi khamir serta kegunaannya sebagai agen pembuatan pupuk *biofertilizer* sehingga dapat meningkatkan sektor pertanian di pulau Poteran, Madura.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2013 hingga Maret 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

B. Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel dilakukan secara acak pada lima titik, yakni pada titik P1, P4, P5, P7 dan P8. Lokasi pengambilan sampel tersebut didasarkan pada keterwakilan ekosistem di Pulau Poteran. Sampel khamir diambil dari tanah rhizosfer di pulau Poteran, Madura. Sampel tanah diambil dari *top soil* pada kedalaman 0-10 cm dengan menggunakan cetok. Sampel yang telah diambil dimasukkan ke dalam botol vial dan disimpan dalam *ice box* untuk dibawa ke laboratorium. Sampel kemudian diidentifikasi dan dianalisis kemampuannya dalam melarutkan fosfat serta mendegradasi bahan organik.

C. Isolasi dan Purifikasi Khamir

Sampel tanah yang didapat, ditimbang seberat 10 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml air fisiologis steril (NaCl). Selanjutnya, dihomogenkan dan diendapkan selama ± 5 menit. Sebanyak 10 ml supernatan dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 40 ml medium perbanyakan (*enrichment*) yaitu medium YMB. Kemudian diinkubasi di atas *rotary shaker* pada suhu ruang selama 3 hari. Pengenceran bertingkat dilakukan dengan cara diambil 1 ml suspensi dari erlenmeyer berisi isolat dari YMB, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml dan didapatkan seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Dari masing-masing seri pengenceran yang didapatkan,

diambil sebanyak 0,1 ml suspensi lalu ditanam pada medium YMEA melalui metode sebar. Kemudian diinkubasi pada suhu 25-30°C selama ±3 hari. Pengamatan karakter makroskopis koloni yang tumbuh pada media YMEA dan kemudian dilakukan *streak* 16. Selanjutnya dari hasil *streak* 16 diamati bentuk sel secara mikroskopis. Jika sudah didapatkan bentuk sel yang seragam sehingga didapatkan isolat murni.

D. Karakterisasi dan Identifikasi Khamir

Isolat khamir diidentifikasi sampai tingkat genus dengan mengacu pada buku panduan identifikasi “*The Yeasts a Taxonomic Study*” [4],[6]. Uji fisiologis khamir yang dilakukan meliputi :

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Pengamatan karakter makroskopis dilihat berdasarkan kenampakan koloni yang tumbuh pada media padat YMEA, meliputi: tekstur koloni, warna koloni, bentuk tepi/margin koloni, elevasi, dan permukaan koloni, serta pertumbuhan pada media cair YMB, meliputi: pembentukan endapan, cincin, dan pelikel.

Pengamatan karakter mikroskopis dari isolat khamir dari medium YMEA dilakukan dengan pewarnaan *lactofenol* untuk melihat karakteristik reproduksi generatif melalui pembentukan askospora, teliospora, dan basidiospora. Serta pengamatan reproduksi vegetatif, seperti pembentukan *budding* dengan tipe multipolar, bipolar, unipolar, dan fusi. Karakteristik vegetatif lainnya seperti, pembentukan spora aseksual meliputi arthrospora, blastospora, dan chlamydospora. Sedangkan karakter mikroskopis lainnya seperti, bentuk filamen, bentuk sel (bulat, oval, silinder, ovoid, sperikal, spheroid), ukuran sel dan memiliki pseudohifa atau hifa sejati (miselium). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara membuat preparat biakan di atas kaca objek kemudian dilihat karakternya pada mikroskop [4].

Uji Fermentasi Gula

Uji fermentasi gula dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 1 ose isolat yang telah berumur 48 - 78 jam dan diencerkan dalam *fermentation basal medium* yang berisi tabung Durham [6] sebanyak 10 ml. Hasil positif tampak jika terjadi perubahan warna pada medium dari hijau menjadi kuning.

Uji Urease

Uji urease menggunakan media *Agar Base Urea* (Christensen’s urea agar). Isolat khamir diinokulasi pada media agar miring Christensen secara aseptis dan diinkubasi pada suhu 25-30°C. Pertumbuhan khamir diamati setiap hari selama 7 hari. Jika khamir positif menghasilkan urease, media akan berubah warna dari kuning menjadi merah keunguan.

Uji Askospora

Uji ini dilakukan dengan metode modifikasi Schaeffer-Fulton’s. Suspensi isolat khamir dari media *Corn Meal Agar* dari *cover glass* dan gelas obyek dan diberi *malachite green* 0.5%. Kemudian dipanaskan dengan uap air (di atas air mendidih) selama 5 menit dengan sesekali ditetesi *malachite*

green. Setelah gelas obyek cukup dingin, gelas obyek dimiringkan dan dibilas dengan akuades selama 30 detik dengan hati-hati. Selanjutnya, smear khamir diberi warna tandingan safranin 0.5% selama 30 detik. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan minyak imersi. Askospora dewasa akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif akan tampak merah.

Uji Pertumbuhan pada Media Cair

Pertumbuhan khamir dalam media cair dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat khamir ke dalam 10 ml media YMB. Isolat khamir yang berumur 48-72 jam diinokulasikan sebanyak 1 ose dalam media YMB secara aseptis dan kemudian divortex. Isolat yang telah diinokulasikan kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Hasil positif jika terjadi perubahan warna pada media menjadi kekuningan. Selain itu, diamati juga pertumbuhannya pada media cair, seperti keberadaan cincin, pelikel pada permukaan media, serta endapan pada dasar media (sedimen).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakterisasi Isolat Khamir

Dari hasil isolasi dari pulau Poteran didapatkan sembilan isolat khamir yaitu dengan kode P1.6, P4.1, P5.1, P5.2, P5.3, P5.4, P5.6, P7.1 dan P7.1.1. Secara berturut-turut adalah diduga berasal dari genus; *Candida*, *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Filobasidium*, *Pichia*, *Trichosporon*, *Filobasidium* dan *Filobasidium*. Karakter hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis pada gambar 1 dan gambar 2 di bawah ini.

No	Kode Isolat	Bentuk	Warna	Tejatin	Elevasi	Tekstur Koloni
1.	P1.6	Bulat	Putih	bersilia	Cembung	Kental dan licin
2.	P4.1	Bulat	Putih	Smooth	Raised	Kental
3.	P5.1	Bulat	Putih	Smooth	Raised	Kental
4.	P5.2	Bulat	Putih	Smooth	Cembung	Kental
5.	P5.3	Bulat, berkerut	Krem	Bersilia	Cembung	Bermembran, gembur
6.	P5.4	Bulat	Putih	Bersilia	Cembung	Bermembran dan gembur
7.	P5.6	Bulat Berkerut, Berkeriput	Krem	Bersilia	Hilly	Bermembran, gembur
8.	P7.1	Bulat	Putih krem	Bersilia	Umbonate (Seperti Tombol)	Bermembran, gembur
9.	P7.1.1	Bulat	Putih susu	Bersilia	Umbonate (Seperti Tombol)	Bermembran, gembur

Gambar. 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Khamir

No	Kode Isolat	Bentuk sel	Budding	Ukuran (µm)	Pseudohifa atau Hifa
1.	P1.6	Bulat, oval panjang	Multilateral	(2-4)x(3-5)	Pseudohifa
2.	P4.1	Bulat	Multilateral	(1-4,5)x(1,6-2,8)	-
3.	P5.1	Bulat	Multilateral	(2,5-4)x(1,5-2,4)	-
4.	P5.2	Bulat, oval pendek	Multilateral	(3-4)x(3-3,4)	-
5.	P5.3	Bulat, persegi	Multilateral	(4,5-7)x(1-4)	Pseudohifa
6.	P5.4	Bulat	Multilateral	(2,4-7)x(2-6)	Hifa
7.	P5.6	Bulat, silinder	Multilateral	(2-5)-(1-3)	Pseudohifa
8.	P7.1	Bulat, silinder	Multilateral	(3-4,5)x(1,5-3)	Hifa
9.	P7.1.1	Silinder	Multilateral	(3,5-6)x(2-5,5)	Pseudohifa

Gambar. 2. Hasil Pengamatan Mikroskopis Isolat Khamir

1. Karakter Genus *Candida*

Genus *Candida* merupakan khamir tanah yang umum ditemukan pada tanah dengan kandungan bahan organik tinggi. Genus ini merupakan khamir yang memiliki diversitas fisiologi cukup tinggi dan mempunyai jenis cukup tinggi [7]. Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis, mikroskopis serta melalui beberapa uji fisiologis, didapatkan dua isolat yang diduga berasal dari genus *Candida*, yakni isolat dengan kode P1.6. Genus *Candida* tidak memiliki pigmen karatenoid sehingga berwarna putih dan krem. Genus ini seringkali membentuk pseudohifa dengan blastopora yang muncul di persimpangan sel pseudohifa yang saling berdekatan. Kebanyakan spesies dari genus *Candida* selalu membentuk pseudohifa maupun hifa [4],[6]. Karakter ini sesuai dengan karakter yang dimiliki isolat P1.6 yang memiliki koloni berwarna putih dan membentuk pseudohifa.

2. Karakter Genus *Saccharomyces*

Karakter ketiga isolat yaitu P4.1, P5.1 dan P5.2 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Saccharomyces* yang disebutkan oleh [4],[6],[8] juga menyebutkan bahwa genus *Saccharomyces* memiliki tipe reproduksi vegetatif dengan *multilateral budding*, sel-selnya berbentuk *globose*, *ellips*, atau silindris, bulat dan oval. Koloni genus ini sering kali memiliki tekstur kental dan tidak memiliki pigmen karotenoid. Koloni genus ini bundar dengan elevasi cembung [8]. Karakteristik fisiologis yang terkenal dari jenis khamir ini adalah kemampuannya melakukan fermentasi anaerob atau semianaerob pada satu atau lebih jenis gula untuk menghasilkan etanol dan CO₂ [9].

3. Karakter Genus *Trichosporon*

Isolat kode P5.6 diduga berasal dari Genus *Trichosporon*. Genus ini merupakan salah satu khamir yang memiliki peranan penting dalam rekultivasi dari polusi di tanah, bioremediasi logam berat, dan berguna sebagai sensor mikrobiologi. Sejauh

ini, lebih dari 30 spesies dari genus *Trichosporon* telah diidentifikasi. Genus ini tersebar luas di lingkungan, baik di tumbuhan, hewan, udara, air, limbah industri dan di tanah. Beberapa spesies dari genus *Trichosporon* dilaporkan mampu memanfaatkan benzena, fenol, dan senyawa aromatik lainnya yang bermolekul rendah, hidrokarbon aromatik polisiklik serta senyawa organik lainnya [10]. Genus ini melakukan reproduksi aseksual dengan *multilateral budding* disertai dengan bentukan pseudohifa yang melimpah serta adanya bentuk arthospora. Pada genus ini dimungkinkan adanya endospora yang terbentuk. Pada pengujian pertumbuhan pada media cair genus *Trichosporon* tumbuh di permukaan (pelikel tebal) dan ada endapan putih di dasar media. Sedangkan pada pengujian urease menunjukkan hasil positif [8].

4. Karakter Genus *Pichia*

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis, mikroskopis serta melalui beberapa uji fisiologis, didapatkan satu isolat yang diduga berasal dari genus *Pichia*, yakni isolat dengan kode P5.3. Genus *Pichia* memiliki bentuk sel bulat, elips, atau memanjang, sering membentuk *true* hifa. Reproduksi aseksual dengan *multilateral budding* dan secara seksual dengan membentuk askospora (1-4 askus) dan umumnya memiliki askus yang kuat, namun demikian kadang-kadang terdapat spora tanpa askus. Genus ini memiliki ciri askospora berbentuk *hat-shaped*, *hemispheroidal* atau *spheroidal*. Genus ini mungkin ada yang mampu melakukan fermentasi gula dan ada yang tidak mampu [4],[6]. Salah satu spesies dari genus ini dari serbuk sari yang dibawa oleh lebah madu. Karakteristik genus *Pichia* tersebut mirip dengan isolat kode P5.3, dimana isolat kode ini memiliki bentuk koloni bulat dengan bentuk sel bulat persegi. Melakukan reproduksi aseksual dengan *multilateral budding* dan membentuk askospora serta mampu melakukan fermentasi glukosa [4].

5. Karakter Genus *Filobasidium*

Isolat P5.4, P7.1 dan P7.1.1 diduga berasal dari genus *Filobasidium*. Genus *Filobasidium* melakukan reproduksi aseksual dengan *multilateral budding*, sel-selnya berbentuk bulat, oval, eliptikal dan lonjong. Koloni *Filobasidium* sering kali memiliki tekstur *mucooid* atau kental dan memiliki warna putih hingga krem. Pada genus ini pseudohifa dan hifa mungkin terbentuk serta tumbuh di media cair dengan membentuk pelikel di permukaan media dan endapan warna putih di dasar media [6]. Genus *Filobasidium* berbeda dari semua genus yang lain dari anggota basidiomycetes karena genus ini membentuk basidia dengan *sessile* basidiospora dan tidak membentuk basidiospora di dalam rantai serta berkecambah melalui *budding* [4],[6].

IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Isolat khamir yang ditemukan di rhizosfer tanaman dari pulau Poteran, Madura diduga berasal dari dari genus *Candida*, *Saccharomyces*, *Filobasidium*, *Trichosporon*, dan *Pichia*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis I.N.A mengucapkan terima kasih kepada Alloh SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia sehingga naskah tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Kepada dosen pembimbing Ibu Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si., para dosen penguji Bapak Aunurohim, S.Si., DEA dan Bapak Dr. Nurul Jadid., M.Sc., serta kepada keluarga, teman-teman dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian naskah tugas akhir ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Romadhon. "Kajian Indeks Kepekaan Lingkungan Dalam Penyusunan Arahana Pengembangan Pulau Kecil Di Kabupaten Sumenep (Studi Kasus Pulau Sapudi, Poteran, dan Girilayang)." *Embryo* Vol. 5 (1) (2008) 1-13.
- [2] Jumiayati., Bintari, H. S. dan Mubarak, I. "Isolasi dan identifikasi khamir secara morfologi di tanah kebun wisata pendidikan Universitas Negeri Semarang". *Biosantifika*. 4(1) (2012) 27-35.
- [3] Spencer, J.F.T. *Yeast in Natural and Artificial Habitats*. Berlin: Springer-Verlag (1997).
- [4] Kurtzman C.P. and J.W. Fell. *The Yeast A Taxonomy Study*. New York: Elviesier (1998).
- [5] Kanti, A. "Identifikasi jenis khamir yang diisolasi dari tanah gambut Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi". *BioSmart*. 6(1) (2003) 10-14.
- [6] Van Rij, N. J. W. Kregen. *The Yeast A Taxonomy Study*. Amsterdam: Elviesier Science Publisher (1987).
- [7] Prasad, G.S., S. Mayilraj., N. Sood., V. S. K. Biswas., dan B. Lal. "Candida digboiensis sp. nov., A Novel Anamorphic Yeast Species from an Acidic Tar Sludge-Contaminated Oilfield". *International Journal of Systematics and Evolution Microbiology*. 55 (2005) 967-972.
- [8] Nurihariyati, T., Ni'matuzahroh, dan Surtiningsih, T. "Keanekaragaman khamir pendegradasi minyak hasil isolasi dari pelabuhan Tanjung Perak Surabaya". *Berk. Penel. Hayati*. 9 (2004) 87-91.
- [9] Oda, Y., dan K. Ouchi. *Saccharomyces*. Japan: Academic Press (1999).
- [10] Kaszyki, P., K. Czeschowska., P. Petryszak., J. Miedzobrodzki., B. Pawlik dan H. Koloczek. "Methalotrophic Extremophilic Yeast *Trichosporon* Sp; a Soil-Derived Isolate with Potential Applications in Environmental Biotechnology". *Acta Biochimica Polonica*. 53(3) (2006) 463-473.