

Sekresi Asam-asam Organik oleh *Aspergillus niger* YD 17 yang Ditumbuhkan dengan Batuan Fosfat

Secretion of Organic Acids by *Aspergillus niger* YD 17 that Grown with Rock Phosphate

Yudi Sastro^{1*}, Donny Widiyanto², Dja'far Shiddieq²

¹Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Jakarta *Penulis untuk korespondensi

²Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. E-mail: yudis_bkl2001@yahoo.com

Abstract

Information on ability of *Aspergillus niger* to secrete organic acid is important in using *A. niger* as phosphate rock-solubilizing microorganism. This research was aimed to examine the ability of *A. niger* YD 17 secreting organic acid when it was grown with phosphate rock. An *A. niger* YD 17 was obtained from Laboratory of Microbiology, Faculty of Agriculture, GMU. The phosphate rock used was Christmas Island phosphate rock. Organic materials consisted of tapioca waste industry, rice bran, and starch. The study was conducted in Pikovskaya liquid medium and soils that were taken from Jasinga, Banten, West Java (ultisol) and Karang Jati, Ungaran, Central Java (inceptisol). The type and level of organic acid production were determined using *high performance liquid chromatography* (HPLC). The results indicated that *A. niger* YD 17 was able to secrete organic acid when it was grown with phosphate rock. The level of organic acid in the Pikovskaya liquid medium reached 255.7 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, whereas in the soil reached 2992.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Malate dominated organic acid in the Pikovskaya liquid medium, while in the soils dominated by oxalate. The type and level of organic acid secreted by *A. niger* YD 17 were influenced by carbon and phosphorus sources, concentration of inoculums, and characteristic of the soils.

Key words: organic acid, *Aspergillus niger*, phosphate rock

Diterima: 11 Januari 2006, disetujui: 13 Juni 2006

Pendahuluan

Pada kondisi optimal *A. niger* mampu mengkonversi glukosa menjadi asam sitrat dan telah dilaporkan memiliki kemampuan mensekresikan asam-asam organik, khususnya asam sitrat (Legisa dan Gradisnik-Grapulin, 1995; Ul-Haq *et al.*, 2002; Ali *et al.*, 2002; El-Holi dan Al-Delaimy, 2003). Kemampuan *A. niger* untuk mensekresikan asam organik tersebut, khususnya asam sitrat, telah mendasari para peneliti untuk mengembangkannya sebagai agensia pelarut batuan fosfat, guna memasok fosfat (P) untuk tanaman (Salih *et al.*, 1989; Goenadi dan Saraswati, 1993; Goenadi, 1996; Goenadi *et al.*, 1999, 2000; Widiastuti *et al.*, 2000; Atmodjo, 2000).

Namun demikian, efektivitas *A. niger* melarutkan fosfat memiliki variasi sangat lebar. Elfiati *et al.*, (1999); Zapata dan Roy (2004) melaporkan pada skala laboratorium, *A. niger* mampu melarutkan trikalsium fosfat berkisar dari 37,5 hingga 87,6 ppm. Thomas *et al.*, (1985) melaporkan tingkat pelarutan trikalsium fosfat oleh *A. niger* berkisar 42, hingga 72 ppm. Asmarlaili *et al.*, (1995) melaporkan tingkat pelarutan trikalsium fosfat oleh *A. niger* berkisar 107,4 hingga 265,7 ppm sedangkan Ernita (1998) melaporkan tingkat pelarutan trikalsium fosfat mencapai 829 ppm. *Aspergillus niger* juga terbukti mampu melarutkan aluminium fosfat berkisar 2 hingga 265 kali dibandingkan kontrol tanpa inokulasi *A. niger* (Goenadi dan Saraswati, 1993).

Lebarnya variasi kemampuan pelarutan fosfat tersebut disebabkan oleh berbagai faktor yang mempengaruhi biosintesis dan sekresi asam organik oleh *A. niger*. Sanjay dan Sharma (1994) serta El-Holi dan Al-Delaimy (2003) melaporkan bahwa jenis dan jumlah asam organik yang disekresikan oleh *A. niger* nyata dipengaruhi oleh sumber karbon, logam-logam, dan pH medium.

Dalam rangka mengoptimalkan pemanfaatan *A. niger* sebagai agensia pelarut batuan fosfat, informasi mengenai sekresi asam organik oleh *A. niger* pada saat digabungkan dengan batuan fosfat masih sangat diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dan faktor-faktor yang mempengaruhi sekresi asam organik oleh *A. niger*, apabila jasad tersebut digabungkan dengan batuan fosfat.

Metode Penelitian

Batuan fosfat

Batuan fosfat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batuan fosfat *Christmas Island* lolos saringan 100 mesh. Batuan fosfat diperoleh dari PT. Petrokimia Gresik, Jawa Timur. Karakteristik batuan fosfat disajikan pada Tabel 1.

Bahan organik

Bahan organik yang digunakan adalah onggok (limbah pabrik tapioka), sekam, dan pati. Onggok diperoleh dari industri tapioka di desa Karang Kulon II, sedangkan sekam diperoleh dari perusahaan penggilingan padi "Sari Bumi" yang berada di desa Sidomulyo, masing-masing berada di kecamatan Salaman, Magelang, Jawa Tengah. Sekam dan onggok dihaluskan dan disaring menggunakan saringan 100 mesh. Pati yang digunakan adalah pati murni (*pure analysis*) dari Merck. Karakteristik bahan organik disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Karakteristik batuan fosfat Christmas Island

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

Ket : tt = tidak terdeteksi

Tabel 2. Karakteristik kimia bahan organik

Sifat dan Kandungan	Onggok	Sekam	Pati
C-total (%)	43,20	45,10	45,93
N-total (%)	0,77	0,70	td
C/N	56,10	64,43	td
P ₂ O ₅ -total (%)	0,93	0,69	td
K ₂ O-total (%)	0,85	0,28	td
CaO (%)	0,02	0,01	td
MgO (%)	0,58	0,03	td

Ket: *= satuan dalam ppm

td= tidak dianalisis karena menggunakan bahan pati murni (*pure analysis*)

Tanah

Dua jenis tanah yang digunakan dalam penelitian ini. Pertama adalah *ultisol* yang diambil dari daerah Jasinga, Banten, Jawa Barat. Kedua adalah *inceptisol* yang diambil dari daerah Karang Jati, Ungaran, Jawa Tengah. Karakteristik tanah disajikan pada Tabel 3.

Aspergillus niger

Isolat *A. niger* strain YD 17 diperoleh dari koleksi laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.

Pengujian dalam medium cair

Pengujian dilakukan dalam Erlenmeyer berukuran 250 ml yang berisi 100 ml medium Pikovskaya (Atlas *et al.*, 1984) cair steril yang mengandung 10 g.l⁻¹ Ca₃PO₄, 0,5 g.l⁻¹ (NH₄)₂SO₄, dan 1 mg.l⁻¹ MnSO₄ dari Merck; 0,1 g.l⁻¹ MgSO₄.7H₂O, 1 mg.l⁻¹ FeSO₄, dan 0,2 g.l⁻¹ KCl dari BDH Ltd; 0,5 g.l⁻¹ *yeast extract* dari Oxoid; dan 0,1 g.l⁻¹ kloramfenikol dari Sigma.

Pengujian sekresi asam organik dalam medium Pikovskaya cair dilakukan sebanyak empat pengujian. Pengujian pertama dengan memvariasikan tingkat kerapatan inokulum spora *A. niger* YD 17 yang diinokulasikan,

yaitu 10⁵, 10⁷, dan 10⁹ cfu.ml⁻¹ medium. Pengujian kedua serupa dengan pengujian pertama, namun sumber P (Ca₃PO₄) diganti dengan FePO₄ (Merck) sebanyak 10 g.l⁻¹ medium. Pengujian ketiga serupa dengan pengujian pertama, namun sumber P (Ca₃PO₄) diganti dengan batuan fosfat. Pengujian keempat serupa dengan pengujian ketiga namun sumber karbon (glukosa) diganti dengan bahan organik campuran ongkok, sekam dan pati (BOC) dengan perbandingan 69,5:30:0,5, masing-masing sebanyak 10 g.l⁻¹ medium. Sastro (2001) melaporkan bahwa bahan organik campuran ongkok, sekam dan pati (69,5:30:0,5) paling mendukung pertumbuhan *A. niger* YD 17 yang ditumbuhkan dalam medium padat. Tingkat kerapatan inokulum *A. niger* YD 17 pada pengujian kedua dan ketiga disesuaikan dengan hasil pengujian tahap pertama.

Masing-masing Erlenmeyer yang telah terisi medium Pikovskaya dan diinokulasi *A. niger* YD 17 dan diinkubasi di penggojor Kotterman pada kecepatan 100 *rotary per minute* (rpm) pada suhu kamar selama 9 hari untuk pengujian pertama dan kedua, dan diinkubasi selama 14, 28 dan 42 hari untuk pengujian ketiga.

Tabel 3. Karakteristik ultisol dan inceptisol yang digunakan dalam penelitian

Penetapan	Ultisol	Inceptisol
pH H ₂ O (1:2,5)	4,45	5,06
C Organik (%)	1,10	1,07
N-Total (%)	0,12	0,10
C/N	9,20	10,70
P-Bray I (P ₂ O ₅ , µg.g ⁻¹)	3,60	-
P-Olsen (P ₂ O ₅ , µg.g ⁻¹)	-	4,10
P-HCl 25% (P ₂ O ₅ , mg/100g)	7,40	44,70
K-HCl 25% (K ₂ O, mg/100g)	13,50	43,00
Ca-dd (cmol.kg ⁻¹)	0,48	3,26
Mg-dd (cmol.kg ⁻¹)	1,49	2,23
K-dd (cmol.kg ⁻¹)	0,17	0,26
Na-dd (cmol.kg ⁻¹)	0,03	0,08
Al-dd (cmol.kg ⁻¹)	17,98	0,26
H-dd (mol.kg ⁻¹)	9,52	0,09
Tekstur Tanah	Lempungan	Lempungan

Pengujian dalam tanah

Pengujian sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 dalam tanah dilakukan dalam Erlenmeyer 250 ml yang telah terisi 100 gram contoh tanah kering angin lolos saringan berukuran lubang 2 mm. Setiap Erlenmeyer diberi batuan fosfat dan BOC, masing-masing sebanyak 10 g. Tanah, batuan fosfat, dan bahan organik diaduk hingga merata, ditambah air bebas ion hingga 60% *water holding capacity* (WHC), dan selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf SMIL model WS2-84-64 pada suhu 121°C selama 15 menit tiga kali berturut-turut dengan interval waktu 24 jam.

Sebagian dari Erlenmeyer yang berisi campuran tanah, batuan fosfat, dan bahan organik tersebut diinokulasi spora *A. niger* YD 17 hingga kerapatannya mencapai 10^7 cfu.g⁻¹ tanah dan sebagian yang lain tidak diinokulasi sebagai kontrol. Erlenmeyer yang berisi campuran tanah, batuan fosfat, dan bahan organik diinkubasi pada suhu kamar selama 14, 28, dan 42 hari. Selama inkubasi kadar air tanah dipertahankan 60% WHC dengan cara memberikan sejumlah air bebas ion steril menggunakan metode penimbangan.

Persiapan cuplikan analisis

Persiapan cuplikan analisis asam organik dalam medium cair dilakukan dengan mensentrifugasi medium untuk pertumbuhan menggunakan sentrifus IEC Centra-4B centrifuge 8000 rpm selama 10 menit, dan disaring menggunakan kertas saring nitroselulosa 0,2 µm.

Persiapan cuplikan analisis asam organik dalam tanah dilakukan dengan cara mengekstraksi 1 gram tanah lembab menggunakan 2,5 ml 0,1 M HCl (Merck), digojog di penggojog Kotterman 100 rpm selama 10 menit dan disentrifugasi 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan disaring menggunakan kertas saring nitroselulosa 0,2 µm (Bolan *et al.*, 1994 and 1997).

Pengukuran asam organik

Jenis dan jumlah asam organik ditentukan menggunakan *high performance liquid chromatography* (HPLC) Hitachi 4200 UV/VIS dengan menggunakan kolom C-18

(octadecyl silica 224; 220 x 4,6 mm). Sebanyak 20 µl filtrat dimasukkan ke dalam kolom kromatografi dan dielusi menggunakan 0,013 N H₂SO₄ (Merck) dengan kecepatan alir (*flow rate*) 0,4 ml per menit, selama 20 menit pada suhu 20°C (Bolan *et al.*, 1994 and 1997). Jenis asam organik ditentukan dengan membandingkan waktu retensinya dengan waktu retensi standar, meliputi asam sitrat (BDH Ltd.), malat, format, oksalat, dan suksinat (Wakopure).

Hasil dan Pembahasan

Sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 dalam medium Pikovskaya

Hasil pengujian menunjukkan bahwa tingkat kerapatan inokulum *A. niger* YD 17 yang diinokulasikan dalam medium Pikovskaya cair berpengaruh terhadap jumlah asam organik yang disekresikannya. Semakin tinggi jumlah inokulum, maka jumlah asam organik yang disekresikan cenderung semakin kecil (Gambar 1). Jumlah asam organik yang disekresikan *A. niger* YD 17 pada perlakuan kerapatan inokulum 10^5 , 10^7 , dan 10^9 cfu.ml⁻¹ medium, berturut-turut adalah 55,6, 45,2, dan 42,0 µg.ml⁻¹ medium.

Kecenderungan penurunan jumlah asam organik yang disekresikan tersebut disebabkan adanya peningkatan kebutuhan karbon akibat adanya peningkatan jumlah *A. niger*. Asam-asam organik yang disekresikan oleh mikroorganisme merupakan produk antara (*intermediate*). Pada kondisi jumlah karbon yang terbatas, mikroorganisme memperoleh energi dan bahan sel dalam jumlah maksimum dengan mengoksidasi substrat dan mengasimilasinya secara sempurna. Hal demikian akan mengurangi jumlah pembentukan dan sekresi asam organik.

Pada pengujian ini juga terlihat bahwa asam malat mendominasi jenis asam organik yang disekresikan oleh *A. niger* YD 17 dalam medium Pikovskaya cair. Porsentase asam malat, sitrat, dan oksalat terhadap jumlah total asam organik yang disekresikan pada perlakuan tingkat kerapatan inokulum spora *A. niger* YD 17 10^5 , 10^7 , dan 10^9 cfu.ml⁻¹ medium,

masing-masing adalah 21, 8, dan 71%; 11, 7, dan 82%; 15, 7, dan 78%.

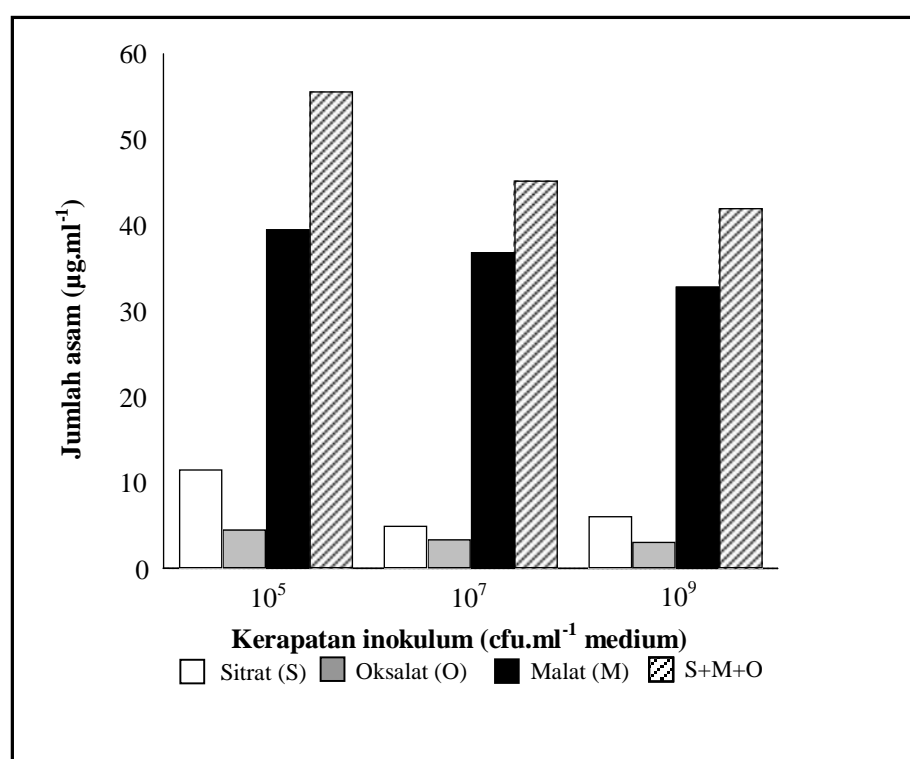
Berdasarkan hasil pengujian ini dapat disimpulkan bahwa tingkat inokulum dengan kerapatan 10^5 cfu.ml⁻¹ medium, paling mendukung sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 di medium Pikovskaya cair. Namun demikian, untuk pengujian selanjutnya digunakan kerapatan inokulum sebesar 10^7 cfu.ml⁻¹ medium. Hal tersebut didasarkan pada asumsi bahwa tingkat kerapatan inokulum 10^7 cfu akan lebih mendukung ketahanan dan kemampuan hidupnya apabila digabungkan dengan batuan fosfat dan diaplikasikan dalam tanah.

Sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 dalam medium Pikovskaya yang mengandung Fe-PO₄

Selain dalam bentuk ikatan kalsium fosfat (Ca-P), sebagian fosfor dalam batuan fosfat juga berikatan dengan unsur besi (Fe) membentuk ikatan besi-fosfat (Fe-P) (Zapata dan Roy, 2004). Untuk menduga kemampuan mikroorganisme pelarut fosfat dalam melarutkan Fe-P maka perlu juga diuji

kemampuan sekresi asam-asam organik oleh *A. niger* YD 17 pada saat digabungkan dengan Fe-PO₄.

Pada pengujian inkubasi *A. niger* YD 17 dalam medium Pikovskaya yang mengandung FePO₄ sebagai sumber fosfat (Pikovskaya FePO₄), asam organik yang disekresikan meliputi asam malat (29,7%), sitrat (35,2%), oksalat (32,3%), dan suksinat (2,8%) (Gambar 2). Jenis asam organik yang disekresikan dalam medium Pikovskaya-FePO₄ tersebut serupa dengan asam organik yang disekresikan dalam medium Pikovskaya-Ca₃PO₄, namun persentase masing-masing asam tersebut terhadap jumlah asam total dan jumlah asam total yang disekresikan berbeda. Pada medium Pikovskaya-Ca₃PO₄, persentase asam organik yang disekresikan, meliputi asam malat 80,1%, sitrat 11,1%, dan oksalat 8,8% (Gambar 1) pada tingkat kerapatan inokulum 10^7 cfu.ml⁻¹ medium). Total asam organik yang disekresikan oleh *A. niger* YD 17 dalam medium Pikovskaya-FePO₄ sebesar 74, μ g.ml⁻¹ (Gambar 2), sedangkan dalam medium Pikovskaya-Ca₃PO₄, sebesar 45,2 μ g.ml⁻¹ (Gambar 1).



Gambar 1. Sekresi asam-asam organik oleh *A. niger* YD 17 yang ditumbuhkan dalam medium Pikovskaya cair dengan beberapa tingkat pemberian inokulum

Sekresi Asam-asam Organik oleh *Aspergillus niger* YD 17

Perbedaan sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 dalam kedua medium Pikovskaya yang mengandung sumber P yang berbeda tersebut disebabkan oleh perbedaan pH medium dan jumlah logam dalam medium. Pada medium Pikovskaya- Ca_3PO_4 , pH medium pada awal inkubasi mencapai 6,9, sedangkan pada medium Pikovskaya- FePO_4 , pH medium mencapai 5,7. Selain itu, pada medium Pikovskaya- FePO_4 mengandung logam Fe sebanyak $3,701 \text{ g.l}^{-1}$, sedangkan pada medium Pikovskaya Ca_3PO_4 hanya mengandung Fe sebanyak $0,001 \text{ g.l}^{-1}$.

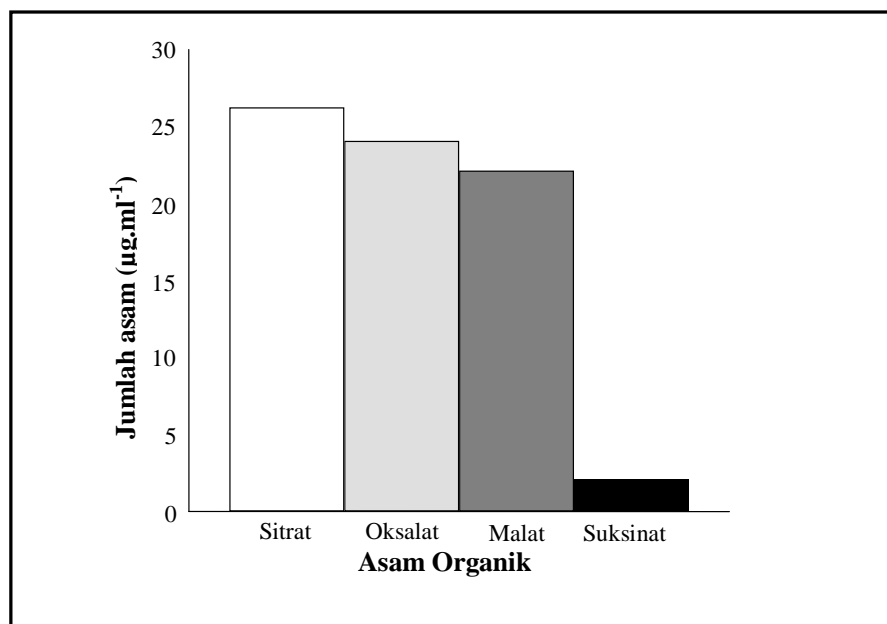
Guebel dan Darias (2001) melaporkan bahwa perbedaan kondisi medium, di antaranya pH dan kandungan logam, akan menyebabkan perubahan akumulasi dan sekresi asam organik oleh *A. niger*. Pada pH medium mendekati netral (pH 7), *A. niger* cenderung akan mensekresikan asam oksalat, sedangkan pada pH 2,2 hingga 5, *A. niger* cenderung akan mensekresikan asam sitrat. Ul-Haq, *et al.*, (2002) melaporkan bahwa pada kondisi pH medium 6,0, sekresi asam sitrat oleh *A. niger* dalam medium tetes tebu mencapai $98,9 \text{ g.l}^{-1}$, penurunan pH medium dibawah 6,0 menurunkan jumlah asam sitrat hingga $52,0 \text{ g.l}^{-1}$ medium.

Sementara itu, Scragg (1988) melaporkan bahwa pada medium yang

mengandung Fe lebih dari $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$ medium, sekresi asam sitrat akan berkurang dan mendorong terbentuknya asam-asam organik lain. Ali, *et al.*, (2002) melaporkan bahwa konsentrasi optimum Mn^{2+} dalam medium tetes tebu yang paling mendukung sekresi asam sitrat adalah 2 ppm, sedangkan dalam medium yang mengandung glukosa adalah 0,1 ppm.

Sekresi asam organik dalam medium Pikovskaya yang mengandung batuan fosfat

Jenis asam organik yang disekresikan oleh *A. niger* YD 17 dalam medium Pikovskaya yang mengandung batuan fosfat dan BOC (Pikovskaya-batuan fosfat-BOC), memiliki kesamaan dengan asam organik yang disekresikan dalam medium Pikovskaya yang mengandung batuan fosfat dan glukosa (Pikovskaya-batuan fosfat-glukosa), yaitu asam sitrat, oksalat, dan malat (Gambar 3). Asam malat merupakan jenis asam yang paling banyak disekresikan, diikuti asam sitrat dan oksalat, namun persentase asam malat yang disekresikan dalam medium Pikovskaya-batuan fosfat-BOC lebih tinggi dibandingkan dalam medium Pikovskaya-batuan fosfat-glukosa.



Gambar 2. Sekresi asam-asam organik oleh *A. niger* YD 17 yang ditumbuhkan dalam medium Pikovskaya cair yang mengandung FePO_4 sebagai sumber fosfat. Jumlah FePO_4 (Fe-P) 10 g.l^{-1} medium, sumber karbon glukosa 15 g.l^{-1} medium, kerapatan inokulum spora *A. niger* YD 17 10^7 cfu.l^{-1} medium, inkubasi dilakukan pada penggojok berkecepatan 100 rpm selama 9 hari.

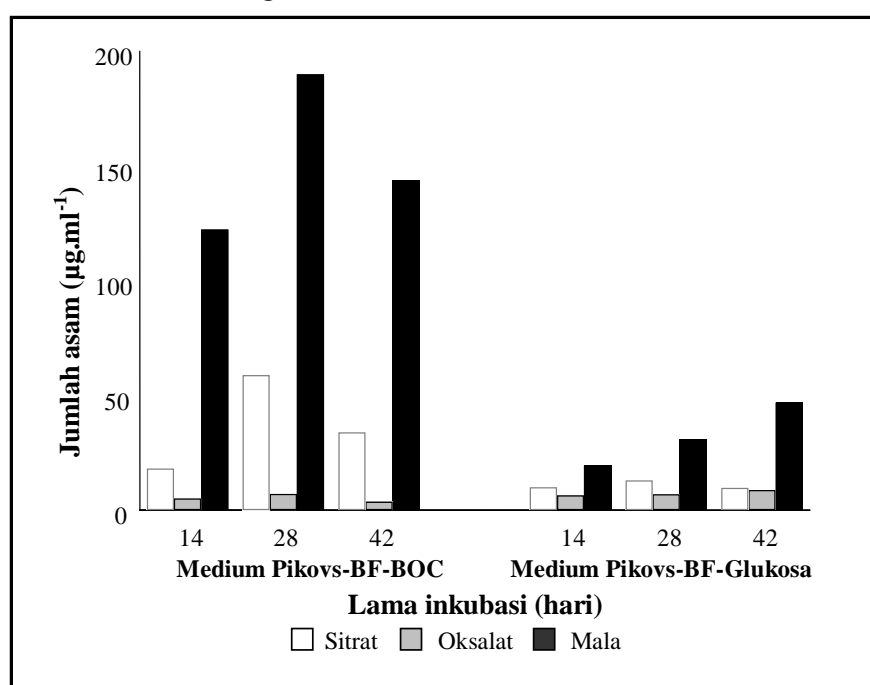
Jumlah total asam organik dalam medium Pikovskaya-batuan fosfat-glukosa pada 14, 28 dan 42 hari setelah inkubasi, berturut-turut adalah 35,6, 50,5, dan 65,2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, sedangkan dalam medium Pikovskaya-batuan fosfat-BO lebih tinggi, yakni sebesar 145,5, 255,7, dan 181,1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Kesamaan jenis sekresi asam organik pada kedua jenis medium Pikovskaya tersebut di atas, disebabkan oleh kemampuan *A. niger* YD 17 untuk menggunakan bahan organik campuran onggok, sekam, dan pati sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan dan aktivitas bio-sintesis asam organik. Kemampuan tersebut disebabkan oleh kemampuan *A. niger* YD 17 mensekresikan enzim amilase dan selulase yang mampu merombak struktur bahan organik menjadi glukosa yang selanjutnya digunakan dalam bio-sintesis asam-asam organik (Sastro, 2001). Menurut Atmodjo (2000) perbedaan kuantitas asam yang disekresikan pada kedua jenis medium tersebut disebabkan oleh perbedaan jumlah karbon dan nutrisi yang terkandung dalam masing-masing medium per satuan berat pemberian sumber karbon yang sama. Pada medium Pikovskaya-batuan fosfat-glukosa

mengandung 630 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ karbon, sedangkan pada medium Pikovskaya-batuan fosfat-BO mengandung 657 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ karbon. Pada medium Pikovskaya-batuan fosfat-bahan organik juga mendapat tambahan beberapa unsur yang berasal dari bahan organik, meliputi N, P, K, Ca, dan Mg (Gambar 3). Unsur-unsur tersebut diperlukan dalam mendukung sekresi asam organik oleh *A. niger* (Guebel dan Darias 2001).

Sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 yang digabungkan dengan batuan fosfat dalam tanah

Jenis asam organik yang disekresikan *A. niger* YD 17 dalam ultisol dan inceptisol yang diberi batuan fosfat dan bahan organik campuran onggok, sekam, dan pati memiliki kesamaan, meliputi asam sitrat dan oksalat, sedangkan asam malat, format dan suksinat tidak terdeteksi (Gambar 4). Tingkat sekresi asam oksalat oleh *A. niger* YD 17 dalam kedua jenis tanah tersebut lebih tinggi dibandingkan asam sitrat, namun pada ultisol persentase asam sitrat terhadap total jumlah asam yang disekresikan lebih tinggi dibanding inceptisol.



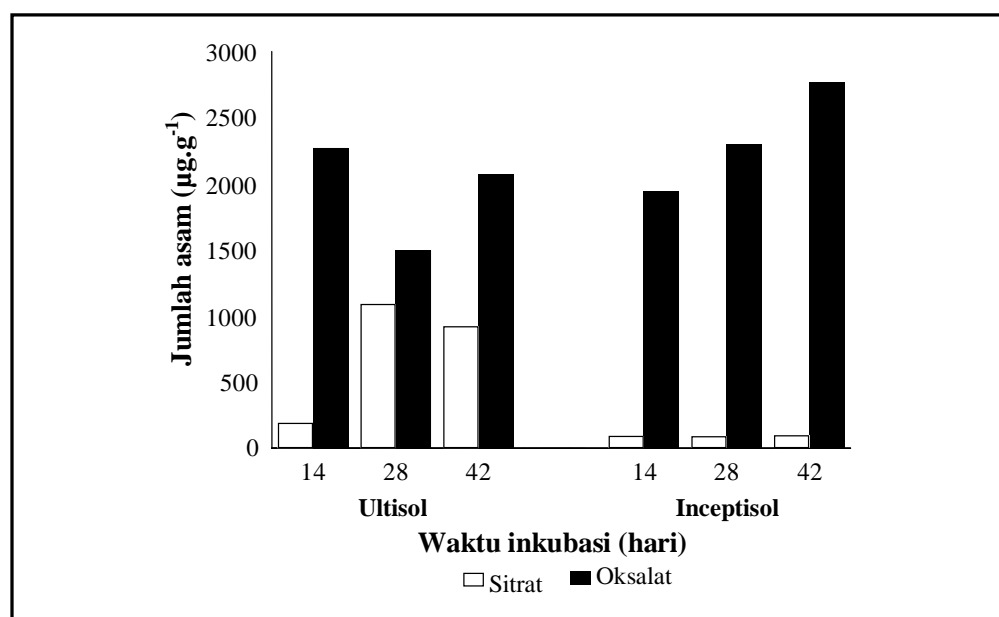
Gambar 3. Sekresi asam-asam organik oleh *A. niger* YD 17 yang ditumbuhkan dalam medium Pikovskaya-batuan fosfat-BOC dan Pikovskaya-batuan fosfat-glukosa. Jumlah batuan fosfat (BF) dan bahan organik campuran (BOC), masing-masing 10 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ medium, glukosa 15 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ medium, dan kerapatan inokulum spora *A. niger* YD 17 10^7 cfu. l^{-1} medium; inkubasi dilakukan pada penggojog berkecepatan 100 rpm selama 14, 28, dan 42 hari.

Persentase asam oksalat terhadap total asam organik yang disekresikan dalam ultisol pada 14, 28, dan 42 hari setelah inkubasi, berturut-turut sebesar 92, 58, dan 69%, sedangkan pada *inceptisol* berturut-turut sebesar 95, 96, dan 97%.

Total asam organik yang teridentifikasi dalam *ultisol* pada setiap masa inkubasi sedikit lebih tinggi dibandingkan dalam *inceptisol*. Total asam organik dalam *ultisol* pada 14, 28 dan 42 hari setelah inkubasi, berturut-turut sebesar 2460,5, 2587,3 dan 2992,53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ tanah, sedangkan pada *inceptisol* berturut-turut sebesar 2031,1, 2389,7, dan 2865,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ tanah. Menurut Sudiana (2004) perbedaan sekresi asam organik pada kedua jenis tanah tersebut disebabkan oleh perbedaan karakteristik tanah, terutama kandungan logam dan pH tanah (Gambar 4).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian yang telah diuraikan di atas, disimpulkan bahwa *Aspergillus niger* YD 17 memiliki kemampuan mensekresikan asam-asam organik pada saat digabungkan dengan batuan fosfat. Jenis asam organik yang disekresikan dalam medium Pikovskaya cair didominasi oleh asam malat, diikuti asam sitrat dan oksalat. Jenis asam organik yang disekresikan dalam tanah didominasi oleh asam oksalat dan diikuti oleh asam sitrat. Sekresi asam organik oleh *A. niger* YD 17 yang digabungkan dengan batuan fosfat dipengaruhi oleh sumber karbon, sumber fosfat, kerapatan inokulum dan karakteristik tanah dan batuan fosfat yang diaplikasikan.



Gambar 4. Sekresi asam-asam organik oleh *A. niger* dalam ultisol dan inceptisol. Pengujian dilakukan dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi tanah 100 g, batuan fosfat 10 g dan bahan organik campuran onggok, sekam, dan pati, masing-masing 69,5, 30, dan 0,5% (b/b) sebanyak 10 g. Kelembaban tanah 60% WHC, diinokulasi spora *A. niger* $10^7\cdot\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ tanah, dan diinkubasikan selama 14, 28, dan 42 hari.

Daftar Pustaka

Ali, S., Ul-Haq, I. and Iqbal, J. 2002. The role of Mn^{++} ions for high and consistent yield of citric acid in recycling fed-batch bioreactor system and its novelty on kinetic basis. www.ejbbiotechnology.info/content/vol5/PDF 13 Februari 2005.

Atmodjo, K. 2000. Penggunaan Tulang dan Kulit Nanas sebagai Pupuk Organik untuk menumbuhkan Sawi (*Brassica juncea* L.) *Biota* V (2) : 63-70

Asmarlaili, Hanafiah, S. dan Oeliem, T.M.H. 1995. Keefektifan mikroorganisme pelarut fosfat yang diisolasi dari berbagai tanah masam di Sumatera Utara. *Jurnal Penelitian Pertanian* 14(1):11-19.

- Atlas, R.M., Brown, A.E., Dobra, K.W. and Miller, L. 1984. *Experimental Microbiology, Fundamental and Applications*. Macmillan Publ. Co, New York.
- Bolan, N.S., Naidu, R., Mahimairaja, S. and Baskaran, S. 1994. Influence of low-molecular-weight organics acids on the solubilization of phosphates. *Biology Fertile Soils* 18:311-319.
- Bolan, N.S., Elliot, J., Gregg, P.E.H. and Well, S. 1997. Enhanced dissolution of phosphate rocks in the rhizosphere. *Biology Fertile Soils* 24: 169-174.
- El-Holi, M.A. and Al-Delaimy, K.S. 2003. Citric acid production from whey with sugars and additives by *Aspergillus niger*. *African Journal of Biotechnology* 2(10):356-359.
- Ernita. 1998. Uji potensi mikroorganisme pelarut fosfat pada medium pikovskaya. *Jurnal Penelitian Pertanian* 17:54-58.
- Goenadi, D.H. dan Saraswati, R. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat fungi pelarut fosfat. *Menara Perkebunan* 61(3):61-66.
- Goenadi, D.H. 1996. Pemanfaatan mikroba pelarut fosfat dalam pembuatan pupuk bio-P. *Warta Puslit Biotek. Perkebunan II* (1): 43-48.
- Goenadi, D.H., Pasaribu, R.A., Isroi, Hartono, H. and Misman, R. 1999. Phosphate solubilizing fungi isolated from tropical forest soil. *Menara Perkebunan* 67 (1): 40-51.
- Goenadi, D.H., Siswanto and Sugiarto, Y. 2000. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. *Soil Science Society of American Journal* 64:927-932.
- Guebel, D.V. and Darias, N.V.T. 2001. Optimization of the citric acid production by *Aspergillus niger* through a metabolic flux balance model. www.ejbbiotechnology.info/content/vol4/PDF 27 September 2004.
- Legisa, M. and Gradisnik-Grapulin, M. 1995. Sudden substrate dilution induce a higher rate of citric acid production by *Apergillus niger*. *J. Applied and Environmental microbiology* 61(7):2732-2736.
- Salih, H.M., Yahya, A.I., Abdul-Rahem, A.M. and Munam, B.H. 1989. Availability of phosphorus in a calcareous soil treated with rock phosphate or super phosphate as affected by phosphate-dissolving fungi. *Plant and Soil* 120: 181-185.
- Sanjay, K. and Sharma, P. 1994. A highly performance fermentation process for production of citric acid from sugar-cane molasses. *Journal of Microbiology* 23:211-217.
- Sastro, Y. 2001. Ketahanan Hidup *Aspergillus niger* pada Batuan Fosfat yang Dipeletkan serta Kemampuan Pelarutannya. *Tesis*. Program Pascasarjana Ilmu Tanah UGM, Yogyakarta.
- Scragg, A. 1988. Catabolic pathways in biotechnology for engineers in *Biological System in Technological Proseses*. Eds. A.L. Scragg Ellis Norwood Limited. Enggland.
- Sudiana, I.M. 2004. Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat. *Biotek* IX (2): 105-113
- Thomas, G.V., Shantaram, M.V. and Sharaswathy, N. 1985. Occurrence and activity of phosphate solubilizing fungi from coconut plantation soils. *Plant and Soil* 87: 357-364.
- Ul-Haq, I., Ali, S., Qadeer, M.A. and Iqbal, J. 2002. Citric acid fermentation by mutant strain of *Aspergillus niger* GCMC-7 using molasses based medium. www.ejbbiotechnology.info/content/vol5/PDF 2 Juli 2002.
- Widiastuti, H., Goenadi, D.H., Panji, T., Santi, L.P., Faturachim, P., Mardiana, N., Harianto, I. and Isroi. 2000. Bioactivation of phosphate rocks by indigenous phosphate-solubilizing fungus. *Menara Perkebunan* 68 (1): 39-52.
- Zapata, F. and Roy, R.N. 2004. *The Use of Phosphate Rocks for Sustainable Agriculture*. FAO, Rome.